

THIAGO PEREIRA CHAVES

**Estudo químico-farmacológico do extrato seco de *Poincianella pyramidalis*
(Tul.) L.P. Queiroz**

RECIFE - PE
2016

THIAGO PEREIRA CHAVES

**Estudo químico-farmacológico do extrato seco de *Poincianella pyramidalis*
(Tul.) L.P. Queiroz**

Tese apresentado ao Programa de Pós-graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Etnobiologia e Conservação da Natureza.

Orientadora:

Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros

RECIFE - PE

2016

Ficha catalográfica

C512e Chaves, Thiago Pereira
Estudo químico-farmacológico do extrato seco de
Poincianella pyramidalis (Tul.) L.P. Queiroz / Thiago Pereira
Chaves. – Recife, 2016.
172 f. : il.

Orientadora: Ana Cláudia Dantas de Medeiros.
Tese (Doutorado em Etnobiologia e Conservação da Natureza)
– Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de
Biologia, Recife, 2016.

Inclui anexo(s) e referências.

1. Caatinga 2. Etnofarmacologia 3. Bactérias multirresistentes
4. Bioprospecção 5. *Caesalpinia pyramidalis*. I. Medeiros, Ana
Cláudia Dantas de, orientadora II. Título

CDD 574

THIAGO PEREIRA CHAVES

**Estudo químico-farmacológico do extrato seco de *Poincianella
pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz**

Tese defendida e aprovada pela banca examinadora em 25/02/2016

EXAMINADORES:



Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Orientadora (Membro Interno)



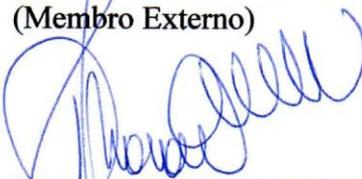
Prof. Dr. Rômulo Romeu da Nóbrega Alves, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Examinador (Membro Interno)



Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Examinador (Membro Externo)



Profa. Dra. Lidiane Pinto Correia, Faculdade Maurício de Nassau, Examinadora (Membro Externo)



Profa. Dra. Dilma Maria de Brito Melo Trovão, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Examinadora (Membro Externo)

Dedico esta tese ao egrégio professor Ivan Coelho Dantas (*In Memoriam*), mestre, amigo e profundo conhecedor das Plantas Mediciniais, pelo constante incentivo ao longo de toda a minha trajetória acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Indubitavelmente esta é a parte mais difícil de escrever, visto que, em virtude da contribuição direta indireta de diversas pessoas para a realização deste trabalho, corro o risco de omitir algumas delas.

Começo agradecendo a Deus, que me deu saúde e paz para que eu pudesse realizar este trabalho, pelo amparo nos momentos difíceis, além de todas as maravilhas que Ele tem reservado para a minha vida.

À minha esposa Elaine Laíse Cavalcanti Clementino pelo amor, companheirismo, amizade, paciência, apoio, alegria e compreensão pelas ausências durante às disciplinas e execução de alguns experimentos.

Aos meus pais Ana Maria Pereira Chaves e José da Silva Chaves Filho pelos valiosos ensinamentos e incentivo para continuar seguindo em frente na incessante busca pelo conhecimento.

Agradeço de maneira especial a minha orientadora, Ana Cláudia Dantas de Medeiros, por sua imensurável paciência, dedicação, incentivo, respeito e amizade ao longo do desenvolvimento deste trabalho, e, acima de tudo, os ensinamentos que levarei para o resto da vida.

Aos professores do LABDEM e LQAQ Germano Vêras, Francinalva Medeiros, Sara Regina, Paulo Diniz e Delcio Felismino, pela amizade e pela assessoria nas incontáveis dúvidas que surgiram durante a realização deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza Rômulo Romeu, Henrique Douglas, Ulysses Albuquerque, Angelo Giuseppe, Elcida Araújo, Wallace Telino, Rachel Lyra-Neves, Nicola Schiel, Waltecio Almeida, Joabe Melo e Marcelo Ramos pela valiosa contribuição na minha formação.

À Universidade Federal do Piauí (UFPI) pelo auxílio na minha capacitação profissional.

Ao CERTBIO pelo auxílio nas análises com Cromatografia líquida de alta eficiência.

A todos os colegas do LABDEM e LQAQ Felipe Hugo, Cleildo Santana, Karla Monik, Deysiane Oliveira, Fernando Ramos, Laianne Alencar, Ravelly Lucena, Eveline Cordão, Jocimar Santos, Alinne Barbosa, René Monteiro, Fernanda Nóbrega, Natália Lira, Angélica Pereira, Jôffily Vandemberg, Karoline Gouveia, Pedro Sette, Valber Elias, Clediano Asevedo, Marcelo Fontes e David Douglas, pela amizade e companheirismo.

Aos colegas de trabalho na UFPI pela amizade e apoio.

Ao meu sogro José Leonardo, pelo auxílio na coleta da planta estudada.

Aos colegas do PPGÉtno Wbaneide Andrade, Vanessa Bitú, Maria Flaviana Braga, Márcia Pinto, Luciano Pires, José Bento, José Ribamar, Horasa Andrade, Gilney Charll, Douglas Nascimento, Daniele Cristina, Carlos Alberto, Arnaldo Junior, que compartilharam comigo aprendizados e dificuldades ao longo da pós-graduação.

Aos amigos Walker Gomes, Sheila Lima, Eric Beserra, Ivana Kerle, Joanda Paolla, Luiz Carlos, Polyanna Cavalcanti, Maria Clara, Francieldo Luz, pela força, amizade e paciência.

Aos meus familiares que respeitaram minha ausência e suportaram meu cansaço.

Ao Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande ao qual o projeto desse trabalho foi submetido.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo apoio financeiro através da bolsa de doutorado.

Por fim agradeço aos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

Chaves, Thiago Pereira. Dr. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 25/02/2016. Estudo químico-farmacológico do extrato seco de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz. Ana Cláudia Dantas de Medeiros.

RESUMO

A Caatinga, bioma predominante da região Nordeste do Brasil, apresenta uma rica fitodiversidade que é uma importante fonte de recurso terapêutico para grande parte de sua população, mas pouco explorada do ponto de vista bioprospectivo. *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz é uma espécie arbórea endêmica dessa região que configura entre as espécies mais utilizadas para fins medicinais, com destaque para o tratamento de processos inflamatórios e infecciosos. Este trabalho buscou obter um perfil fitoquímico e avaliar a atividade antibacteriana do extrato de *P. pyramidalis* sobre cepas bacterianas Gram positivas e Gram negativas multirresistentes, a interação do extrato com antimicrobianos por metodologias biológica e analítica, e a sua toxicidade. O extrato foi obtido por extração assistida por ultrassom a partir das cascas, utilizando mistura hidroalcoólica (50:50 v/v) como solvente. O extrato foi seco em *spray dryer*, utilizando dióxido de silício coloidal como adjuvante de secagem. Realizou-se estudos fitoquímicos utilizando espectrofotometria UV e HPLC-DAD a fim de se determinar o marcador químico do extrato. A concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato foi determinada pelo método de microdiluição. Também foi determinada a CIM de fármacos antimicrobianos na ausência e na presença do extrato e de seus marcadores químicos em concentração subinibitória para se avaliar a atividade modificadora da resistência bacteriana. A toxicidade aguda, a genotoxicidade e a citotoxicidade foram avaliadas em ensaios *in vivo* com roedores. Para as duas últimas atividades foram utilizados o teste de micronúcleo e proporção de eritrócitos policromáticos/normocromáticos, respectivamente. Os ensaios fitoquímicos revelaram a presença de ácido gálico e catequina, substâncias que podem ser utilizadas como marcadores químicos do extrato. Este, por sua vez, apresentou atividade antibacteriana significativa, considerando-se a $CIM \leq 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, apenas sobre as cepas Gram positivas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus oralis* e *S. mutans*, porém, ao ser associado com antimicrobianos, potencializou a atividade destes fármacos pertencentes a diferentes classes, especificamente de gentamicina, cefepima, ceftriaxona, ampicilina e cloranfenicol. Ensaios similares foram realizados com os marcadores químicos, os quais não apresentaram atividade antibacteriana significativa. Como modificadores da resistência, os marcadores apresentaram perfil semelhante ao do extrato, porém apresentaram efeito antagônico sobre alguns fármacos como nitrofurantoína, norfloxacino, cefalotina, ampicilina e clorexidina. Os perfis termoanalíticos do extrato, dos antimicrobianos e suas misturas binárias sugeriram indícios de incompatibilidade entre o extrato e os antimicrobianos cuja CIM não foi reduzida significativamente após a associação com o extrato. O extrato não apresentou toxicidade aguda a 2000 mg kg^{-1} , porém, foram observados efeitos mutagênico a 100 mg kg^{-1} e citotóxico a 200 e 500 mg kg^{-1} . Este trabalho fornece informações sobre o potencial antimicrobiano, modificador da resistência bacteriana e tóxico do extrato nebulizado obtido da casca de *P. pyramidalis*, oferecendo subsídios para o a utilização de tal extrato para o desenvolvimento de produtos seja como insumo farmacêutico ativo vegetal ou como fármaco auxiliar do antimicrobiano.

Palavras Chave: Caatinga, Etnofarmacologia, Bactérias multirresistentes, Bioprospecção, *Caesalpinia pyramidalis*.

Chaves, Thiago Pereira. Dr. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 25/02/2016. Chemical and pharmacological study of the dry extract of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz. Ana Cláudia Dantas de Medeiros.

ABSTRACT

Caatinga, the predominant biome in northeastern Brazil, presents a rich plant phytodiversity that is an important source of therapeutic resource for much of its population, but little explored by the bioprospective point of view. *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz is an endemic tree species of the region that figures among the most commonly used species for medicinal purposes, particularly for the treatment of inflammatory and infectious processes. This study aimed to obtain a phytochemical profile and antimicrobial activity of *P. pyramidalis* extract on multiresistant Gram positive and Gram negative bacterial strains, the interaction of the extract with antimicrobial agents for biological and analytical methodologies, and its toxicity. The extract was obtained by ultrasound-assisted extraction from the bark using a ethanol-water mixture (50:50 v/v) as solvent. The extract was dried in spray dryer using colloidal silicon dioxide as drying adjuvant. Phytochemical studies were carried out using UV spectrophotometry and HPLC-DAD. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the extract was determined by the microdilution method. It was also determined the MIC of antimicrobial agents in the presence of a sub-inhibitory extract concentration, in order to evaluate the modifying bacterial resistance activity. Acute toxicity, genotoxicity and cytotoxicity was evaluated in *in vivo* studies with rodents, being used for the last two activities, the micronucleus test and the proportion of polychromatic/normochromatic erythrocytes, respectively. Phytochemical tests revealed the presence of gallic acid and catechin, that can be used as chemical markers of the extract. This, in turn, showed significant antibacterial activity, considering the MIC $\leq 1000 \text{ mg L}^{-1}$, only about Gram positive the strains *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus oralis* and *S. mutans*, however, when combined with antimicrobials, the activity of these drugs from different classes specifically gentamicin, cefepime, ceftriaxone, ampicillin and chloramphenicol was enhanced on various strains. Similar tests were carried out with chemical markers, which showed no significant antibacterial activity. As resistance modifiers, markers showed similar profile to extract, but showed antagonistic effect of some drugs such as nitrofurantoin, norfloxacin, cephalothin, ampicillin and chlorhexidine. The thermoanalytical profiles of extract, antimicrobial and their binary mixtures suggested indication of incompatibility between the extract and the antimicrobials that MIC was not reduced significantly after the association with the extract. The extract showed no acute toxicity at 2000 mg kg^{-1} , however, showed mutagenic potential at a 100 mg kg^{-1} and cytotoxicity at 200 e 500 mg kg^{-1} . This study provides information on the antimicrobial, modifier of bacterial resistance and toxic potential of nebulized extract obtained from *P. pyramidalis* bark, offering subsidies for the use of such to the development of products either as an active pharmaceutical ingredient or as auxiliary antimicrobial drug.

Keywords: Caatinga, Ethnopharmacology, Multiresistant bacteria, Bioprospecting, *Caesalpinia pyramidalis*.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1: Revisão de Literatura

Figura 1. *Poincianella pyramidalis*42

Capítulo 2: Traditional use, phytochemistry and biological activities of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz

Figura 1. Isolated molecules from *P. pyramidalis*.....79

Capítulo 3: Determinação da interação entre o extrato de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz e antimicrobianos por modelos biológicos e analíticos

Figura 1. Cromatograma do extrato nebulizado de *P. pyramidalis* mostrando seu marcador químico131

Figura 2. Atividade moduladora do extrato nebulizado de *P. pyramidalis* sobre a resistência de bactérias Gram negativas a diferentes antimicrobianos.....132

Figura 3. Curvas DTA do extrato nebulizado de *P. pyramidalis*, antimicrobianos e suas misturas binárias133

Figura 4. Curvas TG do extrato nebulizado de *P. pyramidalis*, antimicrobianos e suas misturas binárias134

Capítulo 4: Determinação do marcador químico e avaliação da mutagenicidade, citotoxicidade e das atividades antimicrobiana e moduladora do extrato de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz sobre patógenos orais

Figura 1. Atividade moduladora do extrato nebulizado de *P. pyramidalis* sobre a resistência de bactérias do Gram positivas a diferentes antimicrobianos.....144

LISTA DE QUADROS

Capítulo 1: Revisão de Literatura

Quadro 1. Resumo dos principais antibacterianos e seus respectivos mecanismos de ação ..	19
Quadro 2. Mecanismos de resistência de algumas drogas antimicrobianas de acordo com a classe.....	22
Quadro 3. Estudos em diferentes países que avaliaram atividade antimicrobiana de espécies vegetais baseados em informações etnofarmacológicas e seus respectivos percentuais de resultados positivos	25
Quadro 4. Espécies da medicina tradicional brasileira que foram testadas em associação com drogas antimicrobianas sobre cepas microbianas multirresistentes	30
Quadro 5. Plantas mais utilizadas na medicina tradicional da região semiárida brasileira para o tratamento de doenças infecciosas.....	36
Quadro 6. Atividades biológicas testadas de <i>P. pyramidalis</i>	43

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2: Traditional use, phytochemistry and biological activities of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz

Tabela 1. <i>Poincianella pyramidalis</i> uses in traditional medicine.....	77
Tabela 2. Chemical constituents of <i>Poincianella pyramidalis</i>	78

Capítulo 3: Determinação da interação entre o extrato de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz e antimicrobianos por modelos biológicos e analíticos

Tabela 1. Cepas bacterianas utilizadas e seu perfil fenotípico de resistência antimicrobiana	94
Tabela 2. Teor de metabólitos secundários presentes no extrato de <i>P. pyramidalis</i> obtidos por espectrofotometria na região do visível	98
Tabela 3. Atividade antioxidante do extrato de <i>P. pyramidalis</i> e dos padrões frente ao DPPH.....	100
Tabela 4. Dados DTA do extrato de <i>P. pyramidalis</i> , antibióticos e suas respectivas misturas binária.....	106
Tabela 5. Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato de <i>P. pyramidalis</i> , antibióticos e suas misturas binárias.....	112

Capítulo 4: Determinação do marcador químico e avaliação da mutagenicidade, citotoxicidade e das atividades antimicrobiana e moduladora do extrato de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz sobre bactérias Gram positivas

Tabela 1. Perfil fenotípico de resistência das cepas utilizadas	140
Tabela 2. Frequência de micronúcleos (MN) em eritrócitos policromáticos (EPC) do sangue periférico de camundongos e a relação EPC/ENC após, 24, 48 e 168 horas de tratamento com extrato de <i>P. pyramidalis</i> em diferentes concentrações.....	147
Tabela 3. Frequência de micronúcleo (MN) em eritrócitos policromáticos (EPC) da medula óssea de camundongos e a relação EPC/ENC após o TE de 168 horas de tratamento com extrato de <i>P. pyramidalis</i> em diferentes concentrações	148

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	14
Capítulo 1: Revisão de Literatura.....	17
1.1 Resistência microbiana	Erro! Indicador não definido.
Importância da Etnofarmacologia para a bioprospecção de substâncias com atividade antimicrobiana	23
Plantas como potencial fonte de substâncias para a antibioticoterapia	26
Plantas de uso medicinal popular no semiárido como fonte de compostos antimicrobianos.	34
<i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L. P. Queiroz.....	41
Secagem por <i>spray dryer</i>	44
Análise térmica.....	45
REFERÊNCIAS	48
Capítulo 2: Traditional use, phytochemistry and biological activities of <i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L.P. Queiroz	73
Capítulo 3: Determinação da interação entre o extrato de <i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L.P. Queiroz e antimicrobianos por modelos biológicos e analíticos	84
Capítulo 4: Determinação do marcador químico e avaliação da mutagenicidade, citotoxicidade e das atividades antimicrobiana e moduladora do extrato de <i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L.P. Queiroz sobre sobre bactérias Gram positivas...135	
CONSIDERAÇÕES FINAIS	156
ANEXOS	158

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O surgimento de micro-organismos resistentes a antimicrobianos se deu pouco depois da utilização destes fármacos para o tratamento de infecções e representa hoje grave problema para a saúde pública em todo o mundo (LAXMINARAYAN et al., 2013). A adaptação microbiana aos antibióticos tem impulsionado pesquisas que buscam novos agentes eficazes contra patógenos resistentes (VRANAKIS et al, 2004). Neste cenário, as plantas surgem como importante fonte de substâncias bioativas portadoras de atividade antimicrobiana ou capazes de modificar a resistência bacteriana a fármacos já existentes.

A etnofarmacologia surge como um importante instrumento para selecionar espécies candidatas à bioprospecção. De acordo com Elisabetsky e Souza (2004) o uso tradicional de espécies vegetais pode ser considerado uma pré-triagem para a seleção de espécies para pesquisa, constituindo-se em um valioso atalho para a descoberta de novas substâncias bioativas. Na literatura há diversos relatos sobre a associação de informações do uso tradicional de espécies medicinais e estudos químicos e farmacológicos, os quais apresentam alto percentual de sucesso quando comparados a estudos realizados com espécies selecionadas por outros métodos (ALBUQUERQUE e HANAZAKI, 2006).

O Brasil é um país reconhecido por sua enorme riqueza de recursos biológicos e pela sua complexa heterogeneidade cultural, construída pelas relações entre os grupos étnicos que formaram o país. A utilização da biodiversidade local por estes grupos proporcionou a geração de um valioso sistema de conhecimento sobre as propriedades medicinais das mais variadas espécies vegetais e animais (ALVES et al., 2008). Este conhecimento, aliado à fitodiversidade, tem chamado a atenção das instituições de pesquisa, onde se tem estudado a comprovação das atividades farmacológicas e da composição química da flora brasileira, visando o desenvolvimento de novos produtos.

Uma planta da flora brasileira largamente utilizada pela população que merece ser estudada de forma mais aprofundada é *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz (= *Caesalpinia pyramidalis*), a qual pertence à família Fabaceae e é conhecida popularmente como Catingueira ou catinga-de-porco (CORREA, 1931; BRAGA, 1960). Esta planta é endêmica da região Nordeste do Brasil e apresenta grande importância para a população local, sendo utilizada para os mais diversos fins, dentre os quais podemos destacar combustível, construção, forrageiro e medicinal (LUCENA et al., 2012).

Na medicina tradicional, várias partes de *P. pyramidalis* como casca, entrecasca, flores, folhas, frutos e resina são empregadas para o tratamento de diversas doenças tais

como: asma, bronquite, expectorante, gripe, infecção respiratória, tosse, azia, cólica, diarreia, disenteria, flatulência, gastrite, indigestão, dor no estômago, febre, cicatrização e ferimentos (AGRA et al, 2007, 2008; ALBUQUERQUE et al, 2007; CARTAXO et al, 2010). Esta espécie foi submetida a ensaios biológicos que revelaram suas propriedades antimicrobianas, (LIMA et al., 2006; SARAIVA et al., 2012) gastroprotetoras (RIBEIRO et al., 2013), anti-inflamatórias (SANTOS et al., 2011), antinociceptivas (SANTOS et al., 2013) e antihelmíntica (BORGES-DOS-SANTOS et al., 2012).

Nos últimos anos a utilização de extratos vegetais para fins terapêuticos tem atraído interesse crescente por parte de pesquisadores (OLIVEIRA e PETROVICK, 2010). Estes extratos caracterizam-se por serem fitocomplexos, onde a ação farmacológica específica da espécie vegetal é dada pelo conjunto de substâncias ativas (KLEIN et al., 2009), podendo atuar por diferentes mecanismos de ação isocronicamente (KIM et al., 2011).

De acordo com Oliveira e Petrovick (2010), entre os produtos vegetais utilizados como insumo farmacêutico ativo (IFA) predominam os extratos secos obtidos por aspersão, visto que tais produtos apresentam maior estabilidade química, físico-química e microbiológica, melhor padronização, maior concentração de ingredientes ativos e compostos, além de conveniência na transformação para diferentes formas farmacêuticas.

Para se avaliar a qualidade e autenticidade de um IFA e do medicamento fitoterápico, é necessária a determinação de um marcador, que pode ser definido com um composto ou uma classe de compostos químicos presentes no IFA, podendo ser classificado como ativo, quando possui relação com a atividade biológica, ou analítico, quando tal relação ainda não tiver sido estabelecida (BRASIL, 2014). Os marcadores são utilizados como referência nos processos de desenvolvimento, padronização e controle da qualidade do IFA do medicamento fitoterápico (CALIXTO, 2000; LIANG et al., 2004).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como finalidades principais: a) obter um ingrediente farmacêutico ativo vegetal (IFA) a partir do extrato de *P. pyramidalis*, b) determinar o marcador químico do IFA, c) avaliar a atividade antibacteriana do IFA, d) determinar a interação do IFA com fármacos antimicrobianos por modelos biológicos e analíticos e e) avaliar a toxicidade do IFA em modelos *in vivo*.

A estrutura geral desta tese está composta por quatro capítulos, sendo o primeiro, composto pela revisão de literatura e os demais, apresentados na forma de artigos elaborados a partir dos dados gerados neste trabalho. O capítulo 2 apresenta um artigo de revisão sobre o uso tradicional, fitoquímica e atividades biológicas da planta estudada. O capítulo 3 apresentará dados sobre o possível marcador químico, a atividade antibacteriana e

modificadora da resistência bacteriana do IFA sobre cepas Gram negativas, possível incompatibilidade entre o IFA e antimicrobianos sintéticos e toxicidade aguda do mesmo. Finalmente, o capítulo 4 expõe resultados sobre os ensaios microbiológicos citados no capítulo anterior, desta vez com cepas Gram positivas, testes de genotoxicidade e citotoxicidade do IFA, além de sugerir outro possível marcador químico do IFA.

Em anexo, ao final dos capítulos, seguem o artigo publicado e as normas das revistas para os quais os demais artigos elaborados a partir dos dados gerados neste trabalho foram submetidos.

CAPÍTULO 1:

Revisão de Literatura

1.1 Resistência microbiana

A descoberta dos fármacos antimicrobianos na primeira metade do século XX provocou um grande impacto positivo na medicina, reduzindo significativamente o número de óbito de pacientes infectados por bactérias (DAVIES, 2006). Desde então esses fármacos tem figurado entre os mais consumidos, estimando-se que desde a década de 1940, aproximadamente 1 milhão de toneladas tenha sido consumida (ANDERSSON e HUGHES, 2010). O fácil acesso a antimicrobianos tem levado a seu uso indiscriminado.

Inicialmente desenvolvidos para tratar doenças infecciosas em pacientes humanos novas propriedades dos agentes antimicrobianos foram descobertas em outras áreas, tais como: medicina veterinária, tratando infecções em animais; na criação de animais de abate, suínos, aves, bovinos, promovendo maior crescimento e resistência; e na aquicultura, inibindo o crescimento de micro-organismos indesejáveis e combatendo a mortalidade excessiva de peixes (BARBOSA e LEVY, 2000; READ e FERNANDES, 2003).

O uso rotineiro de antimicrobianos nas atividades citadas e por pacientes humanos pode levar a uma pressão seletiva que, aliada à vertiginosa evolução do genoma bacteriano, gera mutantes resistentes. Esses mutantes normalmente tem a capacidade de sobreviver e se multiplicar em um ambiente no qual vários antimicrobianos estão presentes em concentrações letais para os micro-organismos normais (KOLÁŘ et al., 2001).

Os agentes antimicrobianos são frequentemente classificados de acordo com o seu principal mecanismo de ação, dentre os quais podemos destacar inibição da síntese da parede celular, inibição da síntese de proteínas, alteração do metabolismo dos ácidos nucléicos e atividades antimetabólicas (CHAMBERS, 2006). Um resumo sobre as classes de antimicrobianos mais usuais e seus respectivos mecanismos de ação é mostrado no Quadro 1.

Os primeiros casos de resistência bacteriana foram relatados ainda na década de 1940 pouco tempo depois do início do uso de antimicrobianos (COURVALIN, 2008; AYRAPETYAN et al., 2015).

Em geral, existem três mecanismos principais que permitem que as bactérias alcancem a resistência a agentes antimicrobianos: O primeiro se dá através da síntese de enzimas que modificam a molécula do antimicrobiano, suprimindo sua atividade. Um caso clássico é a desativação do anel β -lactâmico nas penicilinas e cefalosporinas a partir de enzimas hidrolíticas, β -lactamases, produzidas por bactérias resistentes. Em virtude de semelhanças estruturais com os sítios de ligação de substratos bacterianos, os β -lactâmicos apresentam a capacidade de se fixar e inativar as transpeptidases envolvidas na síntese da

parede celular bacteriana (VRANAKIS et al., 2014). As β -lactamases promovem a hidrólise do anel beta-lactâmico do núcleo estrutural das penicilinas, o que resulta na formação do ácido penicilóico ou de seus derivados desprovido de atividade antimicrobiana (TANG et al., 2014).

Quadro 1. Resumo dos principais antibacterianos e seus respectivos mecanismos de ação

Família/ Classe	Exemplos	Mecanismo de ação
Sulfonamidas ¹	Sufladiazina, Sulfametoxazol + trimetoprima	Inibição do metabolismo do ácido fólico
β -lactâmicos		
Penicilinas ^{2,3}	Benzilpenicilina, fenoximetilpenicilina	Inibição da síntese de peptidoglicanos da parede celular
Resistente a penicilinases ²	Flucloxacilina, temocilina	
Penicilinas de amplo espectro ^{2,3}	Amoxicilina, ampicilina	
Penicilinas antiseudomonas ³	Pipeacilina, ticarcilina	
Mecilinams ³	Pivmecilinam	
Cefalosporinas ^{2,3}	Cefalcor, cefadroxila, cefalexina, cefixima, cefotaxima, cefpodoxima, cefradina, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima	
Carbapenêms e monobactâmicos ^{2,3}	Ertapenem, imipenem, meropenem, Aztreonam	
Glicopeptídeos ²	Vancomicina, teicoplanina	
Polimixinas ³	Colistina, polimixina B	Desestabilização da membrana celular externa bacteriana
Tetraciclina ^{2,3}	Tetraciclina, demeclociclina, doxiciclina, lincamiclina, minociclina, oxitetraciclina	Interferem em diversas fases da síntese proteica
Aminoglicosídeos ^{2,3}	Gentamicina, ampicacina, neomicina, Tobramicina	
Macrolídeos ^{2,3}	Eritromicina, azitromicina, claritromicina,	

Oxazolidinonas ²	Linezolida	bacteriana
Lincosaminas ²	Clindamicina	
Anfenicóis ^{2,3}	Cloranfenicol	
Estreptograminas ²	Quinupristina, dalfopristina	
Antimicobacterianos ⁴	Capreomicina, etambutol, rifampicina, clofazimina	Diferentes mecanismos de ação
Quinolonas ^{2,3}	Ciprofloxacino, levofloxacino, norfloxacino, moxifloxacino, ofloxacino, ácido nalidíxico	Interferem na síntese do DNA bacteriano
Outros	Ácido fusídico ²	Atua na síntese protéica bacteriana
	Nitrofurantoína ³	Promove danos ao DNA bacteriano
	Etenamina ³	Pró-fármaco do formaldeído

¹ utilizado contra infecções por *Toxoplasma gondii* e *Pneumocystis jirovecii*; ² utilizado contra infecções por bactérias Gram positivas; ³ utilizado contra bactérias infecções por Gram negativas; ⁴ utilizado contra infecções por micobactérias;

Adaptado de Rang et al. (2011)

O segundo mecanismo ocorre pela modificação do alvo para o fármaco. Os alvos dos antimicrobianos são estruturas imprescindíveis para o crescimento e sobrevivência da maioria das bactérias e apresenta uma estrutura e composição química diferente de qualquer macromolécula de mamífero. Em virtude disso, as enzimas envolvidas na síntese dessas estruturas proporcionam excelentes alvos para a inibição do desenvolvimento bacteriano sem causar danos às células humanas (LAMBERT, 2005). Um exemplo de modificação do sítio alvo de moléculas antimicrobianas é um dos mecanismos de resistência às quinolonas. Os alvos de ação destes antimicrobianos são as enzimas bacterianas DNA girase e DNA topoisomerase, as quais atuam nos processos de replicação, transcrição, recombinação e reparação do DNA (JACOBY, 2005). Mutações de resistência ocorrem primeiro na subunidade GyrA da DNA girase em bactérias gram-negativas e na subunidade ParC da DNA topoisomerase em bactérias gram-positivas. O mecanismo de resistência envolve substituições de aminoácidos numa região da subunidade GyrA ou ParC denominada “região de determinação de resistência à quinolona”, a qual ocorre na superfície de ligação da enzima ao DNA (CABRAL et al., 2007). Um mecanismo plausível para explicar de que

maneira essas substituições diminuem a susceptibilidade dos micro-organismos às quinolonas é a redução da afinidade das drogas (JACOBY, 2005).

O terceiro mecanismo de resistência envolve a prevenção da entrada de um antimicrobiano na célula bacteriana ou a eliminação ativa do mesmo por uma bomba de efluxo (NICOLOFF e ANDERSSON, 2015). Bombas de efluxo são proteínas de transporte envolvidas na expulsão de substratos tóxicos, incluindo praticamente todas as classes de antibióticos clinicamente relevantes, do interior das células para o ambiente externo (WEBBER e PIDDOCK, 2003). Como exemplo, pode-se citar a resistência de bactérias Gram positivas e Gram negativas às tetraciclinas. O mecanismo de ação desses fármacos está relacionado com a interferência na síntese de proteínas bacterianas. Sabe-se que todas as estruturas necessárias à síntese de proteínas estão localizadas no citoplasma, de modo que os referidos antimicrobianos devem passar através das membranas celulares e se acumularem até uma concentração suficientemente alta para bloquear a montagem de proteínas. Tanto nas bactérias Gram-positivas quanto nas Gram-negativas que se tornam resistentes às tetraciclinas, geralmente ocorre superprodução de proteínas da membrana celular que atuam como uma bomba de efluxo, transportando o fármaco para o meio extracelular (BLAIR et al., 2015). Um resumo das principais classes de drogas antimicrobianas e os mecanismos de resistência desenvolvidos pelas bactérias contra elas está no Quadro 2.

A resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos pode ser classificada em dois tipos: resistência mutacional e resistência transmissível. No primeiro caso, bactérias sensíveis adquirirão resistência aos agentes antimicrobianos por qualquer mutação genética, enquanto no segundo, elas adquirem genes de resistência a antimicrobianos adquirindo a partir de outras bactérias.

Os genes que conferem esta resistência estão normalmente localizados em fragmentos de DNA especializados conhecidos como os transpósons, que permitem que os genes de resistência movam-se facilmente a partir de um plasmídeo para outro (VAN ACKER et al., 2014). Alguns transpósons podem conter íntegrans, que são fragmentos de DNA mais complexos capazes de integrar diferentes genes de resistência a antibióticos e, portanto, capazes de conferir a uma bactéria resistência a múltiplos fármacos antimicrobianos (HOLMES et al., 2015).

Quadro 2. Mecanismos de resistência de algumas drogas antimicrobianas de acordo com a classe

Classe do antimicrobiano	Mecanismo de resistência
β -lactâmicos / Inibidor de β -lactâmase	Hiper produtores de β -lactamase, β -lactamase de espectro estendido, novas β -lactamase resistentes aos inibidores, redução da
Glicopeptídeos	Modificação de precursores da parede celular, com a diminuição afinidade para vancomicina
Quinolonas	Alterações na DNA topoisomerase, mecanismos de efluxo e redução da permeabilidade
Sulfonamidas	Redução da permeabilidade, enzimas resistentes em via de síntese do folato
Macrolídeos	Modificação do alvo, redução da permeabilidade, inativação enzimática, efluxo
Lincosaminas	A metilação do ribossomo bacteriano produzir resistência a clindamicina, inativação enzimática
Anfenicóis	Modificação do alvo, redução da permeabilidade, inativação enzimática, efluxo
Tetraciclínas	Efluxo, mutação do ribossomo (alvo)
Aminoglicosídeos	Modificação enzimática, redução da permeabilidade, efluxo, modificação do alvo

Adaptado de Gold e Moellering (1996) e Martinez e Silley (2010)

O material genético que confere resistência pode ser transferido entre as bactérias por vários meios, os mecanismos mais comuns são conjugação, transformação e transdução. O primeiro é o mais importante e o mais comum. É normalmente mediada por plasmídeos circulares que são transmitidos através da formação de uma estrutura tubular oca, chamada pilus, que conecta bactérias próximas, permitindo a passagem destes fragmentos de DNA. A transformação envolve a absorção de fragmentos de DNA a partir do líquido que envolve o micro-organismo. Tais fragmentos provém de bactérias que sofreram lise e, após penetrar no citoplasma da bactéria receptora, é incorporado em seu próprio DNA. A transdução é um terceiro mecanismo de transferência genética que ocorre através da utilização de um vetor, na maioria das vezes bacteriófagos (ou simplesmente fagos), onde um fago contendo o gene bacteriano que codifica a resistência aos antibióticos infecta a célula bacteriana e introduz este material genético. Na maioria das vezes, o bacteriófago também introduz nas bactérias o

seu próprio DNA viral, que assume então o sistema de replicação bacteriana forçando a célula a produzir mais cópias do vírus até que a célula bacteriana morre e liberta estes novos bacteriófagos, que, em seguida, irão infectar outras células (MACGOWAN e MACNAUGHTON, 2013).

Esses mecanismos de transmissão de genes de resistência, em particular as transferências entre bactérias pertencentes a diferentes gêneros, provavelmente está associada ao processo de conjugação. Os demais processos, provavelmente, contribuem principalmente para transferências intraespecíficas ou grupo de espécies intimamente relacionadas (SALYERS et al., 2008).

O aumento de casos de pacientes infectados por bactérias resistentes a vários agentes antimicrobianos acarreta consequências que elevam substancialmente os custos do tratamento. O período prolongado resultante da infecção aumenta o custo da assistência ao paciente, assim como a utilização de fármacos antimicrobianos mais potentes e, dependendo da gravidade da doença, um paciente pode ser internado em uma unidade de terapia intensiva (NATHWANI et al., 2014). Além disso, a redução da produtividade, com o aumento do número de dias de trabalho perdidos devido à recuperação demorada tem um grande impacto negativo sobre a sociedade. De acordo com Smith e Coast (2013) a resistência antimicrobiana, acarreta um custo de 55 bilhões de dólares por ano para os EUA, sendo 20 bilhões em custos de serviços de saúde e 35 bilhões em perda de produtividade.

A relativa ausência de novos antimicrobianos chegando ao mercado e com as novas ameaças decorrentes das bactérias multirresistentes, deixa o número de opções de medicamentos assustadoramente limitado, o que mostra a necessidade de intensificar os esforços para a busca de novas terapias (WHO, 2012).

Importância da Etnofarmacologia para a bioprospecção de substâncias com atividade antimicrobiana

A natureza tem servido como uma importante fonte de substâncias de uso terapêutico desde os tempos remotos. É provável que o uso de plantas com objetivo de cura date do paleolítico médio (aproximadamente 60.000 anos atrás), já que fósseis de plantas com potencial medicinal foram encontrados em uma sepultura neandertal no iraque (LIETAVA, 1991). Com o passar dos séculos, diferentes populações humanas foram desenvolvendo seus sistemas médicos tradicionais, incorporando plantas, registrando suas propriedades medicinais e repassando este conhecimento às futuras gerações.

Ainda hoje, o conhecimento sobre plantas medicinais é a única fonte para tratamento, cura e prevenção de doenças de muitas comunidades e grupos étnicos ao redor do mundo (BOLSON et al., 2015). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 80% da população do mundo têm incorporado as plantas medicinais em seu cuidado primário à saúde (YABESH et al., 2014).

O uso de plantas medicinais ao longo dos séculos levou à descoberta de grande parte dos produtos farmacêuticos modernos. O quinino, a teofilina, a morfina, o paclitaxel, digoxina e vincristina são exemplos de fármacos amplamente utilizados que foram isolados a partir de plantas medicinais (CLARK, 1996). Newman e Cragg (2012) ao analisarem as fontes de novas drogas aprovadas para o tratamento de doenças humanas observaram que desde a década de 1940 até 2010, das 175 moléculas para o tratamento do câncer, 74,8% foram classificadas como produtos naturais originais ou derivados destes. Com relação às moléculas antibacterianas esse percentual chega a 76,5% do total (NEWMAN e CRAGG, 2007).

Uma das etapas iniciais do processo de desenvolvimento de um fitomedicamento ou do isolamento de moléculas com uma atividade farmacológica ocorre com a seleção da espécie vegetal. Albuquerque e Hanazaki (2006) descrevem quatro tipos de abordagens que podem nortear o pesquisador na escolha da espécie a ser estudada: randômica ou aleatória, etológica, quimiotaxonômica e etnodirigida. A primeira envolve a escolha ao acaso, a segunda baseia-se na observação do comportamento animal, a terceira consiste na escolha de uma espécie que pertença ao mesmo táxon de outra cuja composição fitoquímica é conhecida, enquanto a última leva em consideração o conhecimento tradicional sobre as propriedades medicinais das plantas.

Este conhecimento é alvo de estudo da Etnofarmacologia, que é o ramo da Etnobiologia que estuda as práticas médicas de populações de diferentes etnias, sendo o conhecimento de usuários de plantas medicinais e especialistas tradicionais por exemplo, associado a estudos químicos e farmacológicos (ELISABETSKY, 2003; ELISABETSKY e SOUZA, 2004; ALBUQUERQUE e HANAZAKI, 2006). De acordo com Elisabetsky e Souza, (2004) o uso tradicional de espécies vegetais pode ser considerado como uma pré-triagem para a seleção de plantas para pesquisa, constituindo-se em um valioso atalho para a descoberta de novas substâncias bioativas.

Durante anos, diversas pesquisas etnofarmacológicas apresentaram problemas de cunho técnico e científico, que ocasionavam dúvidas quanto à reprodutibilidade científica. Dentre eles McClatchey (2006) cita a ausência de hipóteses, deficiência na descrição dos

métodos, uso incorreto de testes estatísticos, carência de habilidade para a redação do texto, ausência da correta identificação taxonômica das espécies. Entretanto, os principais periódicos da área vêm aumentando o rigor para o aceite de trabalhos, o que tem elevado a qualidade dos mesmos, tornando as informações mais claras e mais confiáveis.

Dessa forma, pesquisadores têm investido na abordagem etnodirigida para a seleção de espécies candidatas a novas drogas, supondo que tal abordagem traz maior sucesso na descoberta de novos produtos (ALBUQUERQUE e HANAZAKI, 2006). Muitos deles estão confirmando esta tendência. Khafagi e Dewedar (2000) avaliaram a atividade antimicrobiana de 60 plantas da Península do Sinai, sendo 36 selecionadas aleatoriamente e 24 por sua utilização na medicina popular dos beduínos locais. Das plantas selecionadas aleatoriamente 41,7% apresentaram atividade antimicrobiana, enquanto para as plantas escolhidas através da abordagem etnodirigida esse percentual foi de 83,3%, mostrando uma maior eficiência deste último tipo de abordagem sobre a aleatória.

O Quadro 3 lista alguns trabalhos que avaliaram a atividade antimicrobiana de espécies vegetais de plantas utilizadas na medicina tradicional em diferentes localidades do mundo. Pode-se perceber a alta porcentagem de resultados positivos, o que ressalta a importância de informações etnofarmacológicas para a estudos bioprospectivos e descoberta de novas substâncias bioativas.

Quadro 3. Estudos em diferentes países que avaliaram atividade antimicrobiana de espécies vegetais baseados em informações etnofarmacológicas e seus respectivos percentuais de resultados positivos

País	Plantas testadas (n°)	Plantas ativas*	Referência
Peru	8	6 (75%)	Neto et al., (2002)
Peru	24	16 (67%)	Rojas et al., (2003)
Brasil	6	6 (100%)	Moura-Costa et al., (2012)
Índia	50	36 (72%)	Srinivasan et al., (2001)
Índia	45	40 (89%)	Ahmad e Beg (2001)
África do Sul	47	43 (91%)	Mabona et al., (2013)
África do Sul	8	6 (75%)	More et al., (2008)
Camarões	5	5 (100%)	Tekwu et al., (2012)
Iêmen	25	17 (68%)	Mothana e Lindequist (2005)
Rússia	16	12 (75%)	Kokoska et al., (2002)
Etiópia	8	8 (100%)	Tadeg et al., (2005)
Uganda	16	16 (100%)	Ocheng et al., (2014)

* inibição em pelo menos um micro-organismo testado

Plantas como potencial fonte de substâncias para a antibioticoterapia

As plantas possuem a capacidade de sintetizar uma extensa e diversificada variedade de moléculas orgânicas, das quais, grande parte não parece fazer parte da via metabólica primária do crescimento celular e reprodução, mas estão envolvidas na adaptação de plantas para o seu meio ambiente (CROTEAU et al., 2000). Essas moléculas, chamadas metabólitos secundários, parecem ter um papel fundamental na proteção de plantas contra ataque de herbívoros e infecções microbianas, como atrativos para animais polinizadores e dispersores de sementes, como agentes alelopáticos (anti germinativo ou tóxicos para outras plantas) e absorvendo radiação UV (evitando fototoxicidade) (BOURGAUD et al., 2001).

Embora ignorados por muito tempo, o interesse nestes produtos naturais tem aumentado significativamente depois da década de 1850 onde suas propriedades começaram a ser investigadas. Com o desenvolvimento de técnicas de separação e elucidação estrutural, aproximadamente 50.000 moléculas já foram elucidadas, entretanto, provavelmente centenas de milhares de metabólitos secundários ainda são desconhecidos (PICHESKY e GANG, 2000). O estudo das propriedades biológicas de tais produtos tem aumentado o foco nesse campo, buscando novos produtos, destacando-se medicamentos, inseticidas e herbicidas (CROTEAU et al., 2000; CROZIER et al., 2006).

Nesse sentido, estudos que buscam avaliar a atividade antimicrobiana de metabólitos secundários vegetais sobre patógenos humanos estão constantemente aumentando. De acordo com Radulović et al. (2013), em pesquisa realizada na base de dados do CAS (Chemical Abstracts Service), até o ano 2000 havia 534 artigos publicados avaliando as propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais. Entre o referido ano e julho de 2012 o número de artigos superou 3.250. Se adicionarmos a este número a quantidade de estudos envolvendo extratos, frações e substâncias isoladas ele crescerá vertiginosamente.

Ríos e Recio (2005) em revisão sobre o potencial antimicrobiano de plantas medicinais, relatam que cerca de 65% de todos os artigos sobre a atividade antimicrobiana de plantas medicinais publicados e compilados pelo PubMed buscam o isolamento bio-guiado. Este consiste em realizar um fracionamento sucessivo de um extrato bruto com atividade antimicrobiana, sempre selecionando a fração com melhor atividade até isolar uma molécula.

Diversos estudos chegaram ao isolamento de uma molécula com atividade antimicrobiana, elucidando até seu mecanismo de ação. O Carvacrol, que ocorre naturalmente em diversas plantas, tem a capacidade de se inserir entre as cadeias de

fosfolipídios da membrana, interferindo na sua fluidez e permeabilidade, permitindo a saída de moléculas de ATP, diversos íons, modificando o gradiente de pH no interior da célula (ULTEE et al., 1999). Provou-se também que afeta a membrana externa, uma estrutura responsável por maior resistência das bactérias gram-negativas (LA STORIA et al., 2011). Plaper et al. (2003) determinaram que a quercetina, um das substâncias mais abundantes do grupo dos flavonoides, se liga a subunidade B de uma topoisomerase de *E. coli*, impedindo o do superenovelamento no DNA e provocando sua clivagem. O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* demonstrou inibição da respiração celular, em conjunto com um aumento da permeabilidade da membrana celular de *E. coli* com posterior perda de íons K^+ , fornecendo a evidência de um efeito letal resultante de dano à membrana (COX et al., 2003). No estudo desenvolvido por Gustafson et al. (2003), pode-se observar através de eletromicrografias que o mesmo óleo estimula a autólise, provoca a formação de coágulos no citoplasma da célula, causa a perda de material elétron-denso e a formação de bolhas extracelulares em *E. coli*. A perda de material elétron-denso e a formação de bolhas extracelulares indica o vazamento de constituintes celulares pela quebra da parede celular, enquanto os coágulos podem representar membranas e proteínas desnaturadas.

Por outro lado, muitos pesquisadores têm encontrado potencial em pesquisa com misturas de produtos de origem vegetal. Extratos em geral, representam complexos de substâncias, pertencentes a diferentes classes químicas que podem atuar em diferentes alvos simultaneamente ou interagir um com o outro, aumentando a solubilidade e, conseqüentemente a biodisponibilidade de uma ou várias substâncias. Devido a esta característica, em muitos casos, misturas de produtos de origem vegetal apresentam atividade melhor que um produto isolado (WAGNER e ULRICH-MERZENICH, 2009). Essa tendência foi constatada por Ncube et al., (2012) que avaliaram a atividade antimicrobiana de combinações de extratos de três plantas medicinais da África do Sul: *Tulbaghia violacea* Harv., *Hypoxis hemerocallidea* Fisch. & C.A. Mey e *Merwillia plumbea* (Lindl.). Diversas combinações de extratos apresentaram melhor atividade do que os extratos independentes.

Tais misturas surgem como alternativa na terapia antimicrobiana visto que há relatos na literatura do desenvolvimento de resistência bacteriana a produtos vegetais, além dos antimicrobianos convencionais (AHMED et al., 1993; RADULOVIĆ et al., 2013).

A maioria das infecções microbianas são geralmente tratadas por medicamentos com apenas um ingrediente ativo, que, em virtude de mecanismos de resistência adquiridos pelos patógenos, têm perdido sua eficácia (KEITH et al., 2005). Outro problema comum é o

surgimento de efeitos adversos e toxicidade, muitos dos quais podem levar os pacientes a óbito (LIN et al., 2014). Uma estratégia promissora para enfrentar tal problemática é a combinação de duas ou mais substâncias na terapia, que podem ser de origem natural ou sintética.

Dentre os motivos que justificam o uso de combinações de antimicrobianos, pode-se destacar a cobertura de um amplo espectro de micro-organismos para início de tratamento, minimização ou atraso do desenvolvimento de resistência aos fármacos, tratamento de infecções polimicrobianas e sinergismo (CHOU, 2006; TAMMA et al., 2012). O sinergismo ocorre quando a combinação de duas substâncias resulta em uma interação positiva, promovendo um efeito inibidor sobre os micro-organismos alvo maior do que a soma dos efeitos individuais (CHANDA; RAKHOLIYA, 2011). Neste caso, pode-se diminuir a dosagem do fármaco, mantendo-se ou aumentando a eficácia e diminuindo ou evitando a toxicidade.

Um exemplo clássico é a combinação de amoxicilina (um antibiótico de β -lactâmico) e ácido clavulânico, um inibidor de β -lactamase. O inibidor aumenta significativamente a estabilidade da amoxicilina quanto à degradação por tais enzimas e o produto é indicado para o tratamento de pacientes infectados por agentes patogênicos produtores de β -lactamase (HAESEKER et al., 2014).

Por outro lado, alguns autores indicam a monoterapia porque a terapia de combinação pode ter efeitos negativos, tais como aumento de custos, efeitos adversos e antagonismo (AMADEO et al., 2010). Neste último caso o efeito de duas drogas combinadas é menor que o efeito individual de cada droga.

Visando eliminar esses efeitos negativos, pesquisadores ao redor do mundo têm buscado combinações que incluem produtos de origem natural. Em muitos casos, metabólitos secundários vegetais, mesmo não apresentando atividade antimicrobiana por si só, podem atuar de maneira sinérgica com fármacos antimicrobianos, potencializando seu efeito quando combinados ou interferindo nos mecanismos de resistência dos micro-organismos (TAYLOR et al., 2013).

Na literatura encontra-se estudos onde foram realizados testes *in vitro* avaliando as propriedades antimicrobianas de combinações de drogas, que podem ser de diferentes produtos vegetais (GUTIERREZ et al., 2008; NCUBE et al., 2012) ou de produtos vegetais com antimicrobianos padrão (ADWAN et al., 2010; PURUSHOTHAM et al., 2010; TOROGLU, 2011), os quais apresentaram resultados promissores.

Estudos sobre interações entre drogas antimicrobianas usuais e produtos oriundos de espécies vegetal no Brasil é um novo conceito, principalmente de espécies da medicina tradicional da região semiárida. O resumo de alguns estudos é mostrado no Quadro 4.

Quadro 4. Espécies da medicina tradicional brasileira que foram testadas em associação com drogas antimicrobianas contra cepas microbianas multirresistentes

Espécie vegetal	Produto testado	Parte da planta	Antimicrobiano(s)	Micro-organismo(s)	Referência
<i>Amburana cearensis</i> A. C. Smith	EE	Fl	GEN, AMI, PEN, CFL, AMP, OXA	<i>S.a.</i> e <i>E.c.</i>	Figueredo et al., (2013)
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan	EE	Fl	GEN, AMI, PEN, CFL, AMP, OXA	<i>S.a.</i> e <i>E.c.</i>	Figueredo et al., (2013)
<i>Annona muricata</i> L.	EE	Fl	AMI, CAN, NEO, GEN	<i>S.a.</i> e <i>E.c.</i>	Bento et al., (2013)
<i>Annona squamosa</i> L.	EE, FHex, FAcet, FMet	Fl	AMI, NEO, GEN, CAN	<i>S.a.</i> e <i>E.c.</i> ,	Souza et al., (2013)
<i>Bauhinia pentandra</i> (Bong) Vog. ex. Steua	Riachin	Csr	GEN, AMI, CLI	<i>S.a.</i> , <i>E.c.</i> e <i>P.a.</i>	Farias et al., (2015)
<i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth	EE, FHex	Cs, Cr	AMI, CAN, NEO, GEN	<i>S.a.</i> , <i>E.c.</i>	Leite et al., (2014)
<i>Caryocar coriaceum</i> Wittm.	EE, FMet	Fl	GEN, NEO, CAN, AMI, MET, ANF, NIS, BEN	<i>S.a.</i> , <i>E.c.</i> , <i>P.a.</i> , <i>K.p.</i> , <i>C.a.</i> e <i>C.k.</i>	Araruna et al., (2013)
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume	OE	-	AMI, GEN, IMI, MER	<i>A.c.</i>	Guerra et al., (2011)
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. F.	OE	-	AMI, GEN, IMI, MER	<i>A.c.</i>	Guerra et al., (2011)
<i>Cordia verbenacea</i> DC	EE, EM, EH, FMet	Fl	NOR, AMI, GEN, NEO, CAN	<i>S.a.</i> , <i>E.c.</i> , <i>P.a.</i>	Matias et al., (2010, 2013 ^a , 2013b)

<i>Coriandrum sativum</i> L.	OE	Fl	VAN, CIP, GEN	<i>S.a.</i> e <i>E.c.</i> ,	Sousa et al., (2013)
<i>Costus cf. arabicus</i> L.	EE, EH, EM	Bls, Ca, Fl	GEN, NEO, AMI, ANF, CAN, MEB, NIS, BEN	<i>S.a.</i> , <i>E.c.</i> , <i>P.a.</i> , <i>C.a.</i> , <i>C.k.</i> e <i>C.t.</i> ,	Tinino et al., (2013), Souza et al., (2014), Cunha et al., (2011, 2012)
<i>Croton campestris</i> A.	EE, EH, EM, FMet, FAcet	Fl	AMI, NEO, GEN, CAN, NOR	<i>S.a.</i> , <i>E.c.</i> e <i>P.a.</i>	Brito Júnior et al., (2011); Coutinho et al., (2011b); Lavor et al., (2014), Matias et al., (2011)
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	OE	Fl	AMI, NEO, GEN	<i>S.a.</i> , <i>E.c.</i> e <i>P.a.</i>	Lucena et al., (2015)
<i>Duguetia furfuracea</i> A. St.-Hil.	EE	Fl	AMI, GEN	<i>S.a.</i> , <i>E.c.</i>	Fernandes et al., (2014)
<i>Egletes viscosa</i> L.	EM, EH	Bf	AMI, GEN	<i>E.c.</i> , <i>S.a.</i> , <i>P.a.</i> , <i>E.a.</i>	Aquino et al., (2015)
<i>Eugenia jambolanum</i> L.	EE	Fl	CAN, NEO, GEN, TOB, AMI	MRSA, <i>E.c.</i>	Coutinho et al., (2010b); Coutinho et al., (2012)
<i>Eugenia uniflora</i> L.	EE	Fl	ANF, MEB, NIS, MET, AMI, TOB, NEO, GEN, CAN	MRSA, <i>E.c.</i> , <i>C.a.</i> , <i>C.k.</i> , <i>C.t.</i>	Coutinho et al., (2010b, 2012); Santos et al., (2013b)L
<i>Hyptis martiusii</i> Benth	OE, EE	Fl	AMI, CAN, NEO, GEN	<i>S.a.</i> , <i>E.c.</i> , <i>B.c.</i> , <i>P.a.</i>	Coutinho et al., (2010d); Oliveira et al., (2014)
<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E. Brown	OE	Fl	ERI, GEN, NEO, EST	<i>S.a.</i>	Veras et al., (2011a,b)
<i>Lippia gracilis</i> Schauer	OE	Fl	AMI, GEN, CAN	<i>S.a.</i> , <i>E.c.</i>	Bitu et al., (2015)
<i>Lippia microphylla</i> Cham.	OE	Fl	GEN e NOR	<i>S.a.</i> , <i>P.a.</i>	Coutinho et al., (2011)

<i>Lippia origanoides</i> H.B.K.	EE, FHex, FDic, FAcet	Fl	NEO, AMI	MRSA	Barreto et al., (2014)
<i>Luehea paniculata</i> Mart. & Zucc.	EE	Ec, Fl	FLU	<i>C.a., C.k, C.t.</i>	Calixto Jr et al., (2015)
<i>Lygodium venustum</i> SW	EE, FHex, FDic, FAcet, FMet	Fl	CAN, GEN, NEO, AMI, NIS, BEN	<i>S.a., E.c., P.a., C.a., C.k. e C.t.</i>	Braga et al., (2012a,b, 2013a,b)
<i>Momordica charantia</i> L.	EE	Fl	AMI, TOB, NEO, GEN, CAN	MRSA	Coutinho et al., (2010c)
<i>Myracrodruon urundeuva</i> (Engl.) Fr. All.	EE e OE	Fl	GEN, AMI, CLI, PEN, AMP, OXA	<i>S.a. e E.c.</i>	Figueredo et al., (2014)
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	OE, EM, EH, FAcet, FMet	Fl	AMI, GEN, NEO, CAN, NOR	<i>S.a., E.c. e P.a.</i>	Aguiar et al., (2015), Matias et al., (2011, 2012), Coutinho et al., (2011b)
<i>Origanum vulgare</i> L.	OE	Fl	VAN, CIP, GEN	<i>S.a. e E.c.,</i>	Sousa et al., (2013)
<i>Piper arboreum</i> Aub.	EE, FHex, FDic, FAcet	Fl	ANF, MEB, NIS, BEN, AMI, CAN, NEO, GEN	<i>C.a., C.k., C.t., S.a. e E.c.</i>	Tintino et al., (2014)
<i>Pityrogramma calomelanos</i> (L.) Link	EE, FMet, FHex, FAcet	Fl	AMI, NEO, GEN, CAN, ANF, MEB, NIS, BEN	<i>S.a., P.a., E.c., C.a., C.k. e C.t.</i>	Souza et al., (2012a,b), Souza et al., (2013b)
<i>Plectranthus amboinicus</i> L.	OE	Fl	AMI, GEN	<i>S.a., E.c. e P.a.</i>	Aguiar et al., (2015)
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	OE	Fl	AMI, NEO, GEN	<i>S.a., E.c., C.a. e C.k.</i>	Barreto et al., (2014)
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	Diferentes frações	Fl	TET, OXA	MRSA	Saraiva et al., (2013)

<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	EE	Cs, Fl	ERI	<i>S.a.</i>	Silva et al., (2015)
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	EE	Cs	AMX, LEV, CFL, GEN, PEN, AMP, ERI	<i>S.a., E.c.</i>	Chaves et al., (2015)
<i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Humb. ex Roem. E Schult) T.D. Penn	EM, EH	Cs	AMI, NEO, GEN	<i>S.a., P.a. e E.c.,</i>	Leandro et al., (2013)
<i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart.	EE	Cs	AMI, NEO, GEN, CAN	<i>S.a. e E.c.</i>	Oliveira et al., (2011)
<i>Turnera ulmifolia</i> L.	EE	Fl	AMI, TOB, NEO, GEN, CAN	<i>E.c.</i>	Coutinho et al., (2010a)
<i>Vanillosmopsis arborea</i> Baker	OE, α -bisabolol	Fl, Hs	GEN, TET, TOB	<i>P.a., P.v.</i>	Santos et al., (2011, 2013a)
<i>Ximenia americana</i> L.	EE	Cs, Fl	ERI	<i>S.a.</i>	Silva et al., (2015)
<i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.	EE	Fl	VAN, GEN, AMI, AMX, CIP, PEN	<i>E.c., S.a., E.a.</i>	Brito et al., (2015)

EE: Extrato etanólico; EH: Extrato hidroalcoólico; EH: Extrato hexânico; EM: Extrato metanólico; FHex: Fração hexânica; FDic: Fração diclorometânica; FAcet: Fração acetato de etila; FMet: Fração metanólica; OE: Óleo essencial; Fl: Folhas; Cs: Casca; Csr: Casca da raiz; Cr: Cerne; Hs: Hastes; Ec: Entrecasca; Bf: Botões florais; Bl: Bulbo; Ca: Caule; Rz: Raiz; GEN: Gentamicina; AMI: Amicacina; PEN: Penicilina; AMP: Ampicilina; OXA: Oxacilina; VAN: Vancomicina; CLI: Clindamicina; LEV: Levofloxacino; CAN: Canamicina; TOB: Tobramicina; NEO: Neomicina; AMX: Amoxicilina; CIP: Ciprofloxacino; NOR: Norfloxacino; ERI: Eritromicina; EST: Estreptomicina; FLU: Fluconazol; NIS: Nistatina; BEN: Benzoilmetronidazol; MET: Metronidazol; ANF: Anfotericina b; MEB: Mebendazol; CFL: Cefalotina; IMI: Imipenem; MER: Meropenem; TET: Tetraciclina; MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à Meticilina; *S.a.*: *Staphylococcus aureus*; *E.c.*: *Escherichia coli*; *P.a.*: *Pseudomonas aeruginosa*; *K.p.*: *Klebsiella pneumoniae*; *C.a.*: *Candida albicans*; *C.t.*: *Candida tropicalis*; *C.k.*: *Candida krusei*; *A.c.*: *Acinetobacter spp.*; *E.a.*: *Enterobacter aerogenes*; *P.v.*: *Proteus vulgaris*; *B.c.*: *Bacillus cereus*.

Plantas de uso medicinal popular no semiárido brasileiro como fonte de compostos antimicrobianos

A região Nordeste, com 1,56 milhão de km² (18,2% do território nacional), contém a maior parte da região semiárida brasileira, que é a área com clima semiárido mais povoada do mundo (MOURA et al., 2007). Nesta região ocorre um complexo de biomas com várias fitofisionomias de Caatinga, as quais incluem os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, a maior parte da Paraíba e Pernambuco, sudeste do Piauí, oeste de Alagoas e Sergipe, região norte e central da Bahia e norte de Minas Gerais (DRUMMOND, 2000).

A Caatinga possui alta intensidade luminosa durante todo o ano com altas temperaturas, disponibilidade hídrica variável com chuvas irregularmente distribuídas e elevadas taxas de evapotranspiração que acarretam nos déficits hídricos, característicos dessa região. Os solos também apresentam uma grande variabilidade de profundidades e disponibilidade de água e nutrientes, enquanto o relevo é caracterizado por planaltos, depressões e planícies com a rede fluvial constituída por muitos rios temporários, que passam a maior parte do ano secos (SAMPAIO, 2010).

Nesta região, encontra-se a parcela mais pobre da população brasileira, a qual, devido às adversidades climáticas, associadas a fatores históricos, geográficos e políticos, que remontam centenas de anos, sofre com graves problemas sociais. Um dos principais problemas são os serviços básicos de saúde extremamente deficientes, com a ausência de médicos especializados, exames, medicamentos, além da grande distância a ser percorrida pelos moradores da zona rural para chegar aos postos de atendimento. (MOURA et al., 2007)

Para muitas dessas pessoas o único recurso terapêutico disponível é o conhecimento sobre plantas medicinais. Esse conhecimento faz parte integrante da cultura dessas pessoas e as informações sobre as indicações terapêuticas e modo de preparo dos remédios caseiros são passadas de geração em geração (AGRA et al., 2007a).

De acordo com Giulietti et al. (2006) a vegetação da Caatinga é extremamente diversificada com o número de espécies de fanerógamas ultrapassando 5.000, sendo 1.512 presentes nas caatingas no seu sentido mais restrito, com pelo menos 318 endêmicas. Essa biodiversidade, associado ao conhecimento faz deste bioma um dos mais privilegiados como fonte de recursos com potencial bioprospectivo.

Albuquerque et al. (2007a) realizaram levantamento de plantas utilizadas para fins medicinais na Caatinga a partir de diversos trabalhos etnobotânicos realizados nesta região e disponíveis na literatura, citaram 389 espécies, das quais 15,3% eram endêmicas. Agra et al. (2008) em trabalho similar e descreveram o uso de 650 espécies pertencentes a 407 gêneros.

Em diversos trabalhos, pesquisadores têm classificado as doenças citadas pelos informantes em categorias, que variam de acordo com o sistema corporal que acometem. Em trabalhos etnofarmacológicos na Caatinga, uma categoria que merece destaque é “Doenças do Aparelho Respiratório”, que aparece entre as principais categorias em diversos trabalhos (ALBUQUERQUE, 2002; ALMEIDA et al., 2006; ALBUQUERQUE et al., 2007a,b). Dentre as doenças desta categoria, boa parte está relacionada a processos infecciosos, reforçando a importância da flora da Caatinga como potencial de substâncias para a terapia antimicrobiana.

Em revisão dos trabalhos que citam o uso de plantas medicinais realizados na região da Caatinga entre 2002 e 2012 constatamos a citação de centenas de plantas para o tratamento de doenças infecciosas (ALBUQUERQUE e ANDRADE, 2002a,b; ALMEIDA et al., 2002; MOREIRA et al., 2002; ALBUQUERQUE et al., 2005; ALCÂNTARA JÚNIOR et al., 2005; GAZZANEO et al., 2005; PEREIRA et al., 2005; ALBUQUERQUE, 2006; ALMEIDA et al., 2006; ANDRADE et al., 2006; RODRIGUES e GUEDES, 2006; TEIXEIRA e MELO, 2006; AGRA et al., 2007a,b,c, 2008; ALBUQUERQUE e OLIVEIRA, 2007; ALBUQUERQUE et al., 2007a,b, 2008, 2011; DANTAS e GUIMARÃES, 2007; GUERRA et al., 2007, 2010; GOMES et al., 2008; BRITO et al., 2009; LINS NETO et al., 2010; CARTAXO et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2010a,b; SILVA e FREIRE, 2010; BARBOSA, 2011; CASTRO et al., 2011; SILVA et al., 2011; SOUZA et al., 2011; ANSELMO et al., 2012; CARVALHO et al., 2012; CUNHA LIMA et al., 2012; LEITE et al., 2012; LOPES et al., 2012; LUCENA et al., 2012 a,b, NASCIMENTO et al., 2012; PAULINO et al., 2012; PEDROSA et al., 2012) As 20 espécies mais citadas são mostradas no Quadro 5.

Quadro 5. Plantas mais utilizadas na medicina tradicional da região semiárida brasileira para o tratamento de doenças infecciosas

Espécie – Nome vernacular (Família)	Parte utilizada	Indicações terapêuticas	Forma de uso
<i>Acanthospermum hispidum</i> DC.- Espinho-de-judeu, espinho-de- cigano (Asteraceae)	Rz, Fl, F, Ft, Pi	Bronquite, pneumonia, tosse, disenteria, diarreia, febre, expectorante, dores intestinais, vermífugo, pedras na vesícula, hipertensão, cansaço, asma, hepatite, problemas de dentição em crianças, problemas intestinais, helmintíases, inflamações em geral, sinusite, dor de dente, uso mágico-religioso	Infusão, decocção, suco, xarope
<i>Allium sativum</i> L. – Alho (Liliaceae)	Bl	Bronquite, tosse, rouquidão, expectorante, gripe, constipação, diversos tipos de dor, problemas cardíacos e estomacais	Lambedor
<i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A.C.Sm. - Cumarú, umburana, imburana-de-cheiro (Fabaceae)	Cs, Ec, Fl, Ft, Se	Bronquite, cicatrizante, pneumonia, tosse, doenças respiratórias, infecção urinária, coqueluche, sinusite, hemorragias, dores em geral, gripe, descongestionante, expectorante, problemas na garganta, diversos tipos de inflamações, febre, indigestão, mau hálito, rouquidão, sinusite, tonturas, congestão nasal, trombose, hipertensão, tônico, úlceras externas, sinusite, anorexia, mordida de cobra, febre, gastrite, azia, emenagogo, antiespasmódico, cólicas, problemas intestinais, retenção da placenta, colesterol alto	Decocção, maceração, infusão, mastigar as Se, lambedor, pó da casca
<i>Anacardium occidentale</i> L. – Cajú, cajueiro, caju roxo (Anacardiaceae)	Cs, Ec, Fl, Ft, Pf, Re	Como antisséptico e cicatrizante e contra diarreia, disenteria, gripe, tosse, bronquite, tuberculose, diversos tipos de infecções, fraqueza, anemia, úlceras, queimaduras, ferimentos, diabetes, úlceras vaginais e externas, anti-inflamatório, azia, febre, sangramento na gengiva, gastrite, leucorreia, “catarro no peito”, dor de garganta, distúrbios uterinos, cistos ovarianos, dente inflamado, dor de dente, dor de ouvido, gengivite, câncer, hipoglicemiante e mágico-religioso	Decocção, consumo do fruto <i>in natura</i> , infusão, banho, emplastro, maceração, tintura, garrafada

<i>Anadenanthera colubrina</i> var. <i>cebil</i> (Griseb.) Altschul – Angico, angico branco, angico de espinho, angico preto (Fabaceae)	Cs, Ec, F, Fl, Ft, Re	Tosse, cicatrizante, bronquite, infecções em geral, coqueluche, difteria, tuberculose, antisséptico, anemia, inflamação, asma, gripe, mágico-religioso, expectorante, bronco-dilatador e antialérgico, anti-inflamatório, inflamação pulmonar, constipação, cancro, afinar o sangue, sopro, lesão, fissuras nos pés, gastrite, doenças uterinas e renais, analgésico, feridas, coceiras, vermífugo, congestão nasal, inflamação da garganta, dor de estômago, câncer, narcótico, veneno	Decocção, lambedor, garrafadas, maceração, cataplasma, infusão, maceração em vinho ou cachaça
<i>Boerhavia diffusa</i> L. – Pega pinto, batata de porco (Nyctaginaceae)	Rz, Fl, Ft	Diarreia, doenças venéreas, infecção urinária, tosse, infecção genital, antisséptico, inflamações em geral, afinar o sangue, coceira, inapetência, diurético, enurese infantil, corrimento vaginal, gastrite, problemas hepáticos, secreção genital, indigestão, problemas renais e estomacais, gripe	Infusão, decocção, xarope, maceração
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L. – Mastruço, mastruz, erva-de-santa-maria (Chenopodiaceae)	Fl, Ca, Pi	Cicatrizante, tuberculose, bronquite, tosse, antimicrobiano, vermífugo, expectorante, estomáquico, gripe, cicatrizante dos ossos, anti-inflamatório, diversos tipos de inflamações, gastrite, hemorroidas, fraturas, problemas hepáticos, amebíase, reumatismo, ferimentos, problemas pulmonares, dor de estômago, problemas renais, helmintíases, câncer, sopro, problemas digestivos, dores de cabeça, febre, expectorante, hematoma, estomáquico, úlcera, congestão, problemas de vesícula	Infusão, suco, sumo, suco com leite, xarope maceração, decocção, emplasto, cataplasma
<i>Combretum leprosum</i> Mart. – Mofumbo, mofumbo – branco (Combretaceae)	Cs, Fl	Tosse, diarreia, infecções em geral, bronquite, expectorante, hemorragias, afrodisíaco, cólicas estomacais, gripe, béquico, difteria, azia, dor de garganta, sudorese, calmante, hemostático	Infusão, decocção, maceração, xarope
<i>Commiphora leptophloeos</i> (Mart.) J.B. Gillett – Imburana de cambão, imburana de espinho, umburana,	Cs, Fl	Tosse, bronquite, cicatrizante, diarreia, gripe, resfriado, diversas inflamações, rouquidão, béquico, infecções renais, dor de estômago, doenças do trato urinário e hepáticas, úlceras vaginais, gastrite, anti-	Infusão, maceração, xarope, decocção,

imburana (Burseraceae)		inflamatório, anti-cancro, disfonia, odontalgia, cólica, antiemético, tônico	garrafada
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC) – Capim-de-cheiro, capim-santo, capim-limão, capim-cidreira (Poaceae)	Fl, Rz, Pi, Ol	Diarreia, disenteria, bronquite, tosse, calmante, gastrite, hipertensão, abortivo, problemas circulatórios, dor de cabeça, problemas nos nervos, cólicas uterinas, cólicas intestinais, má digestão, gripe, dor de estômago, febre, estimulante, dores de cabeça, regulador menstrual, “prá-tudo”, derrame, insônia, cardiotônico, tensão pré-menstrual, úlcera, indigestão, inapetência, dores em geral, insônia, diurético, problemas digestivos, dor de cabeça, febre, AVC, congestão, diabetes	Infusão, decocção, xarope
<i>Erythrina velutina</i> Willd. – Mulungu (Fabaceae)	Rz, Cs, Ec, F, Ft, Se	Bronquite, tosse, infecções em geral, insônia, vermífugo, dor de dente, calmante, controlador da pressão, hiperglicemia, nervos, sinusite, tranquilizante, insônia, amebíase, expectorante, béquico, distúrbios nervosos, inflamação dentária, odontalgia, dor de cabeça, febre, produção de leite materno, diabetes, hipertensão, tosse, hemorróidas, helmintíase, distúrbios renais, cólicas, incontinência urinária, inflamação da bexiga, constipação	Infusão, decocção, xarope, maceração, cigarro
<i>Mangifera indica</i> L. – Mangueira, manga (Anacardiaceae)	Cs, Fl	Como expectorante; contra diarreia, disenteria, bronquite, sífilis, inflamações do aparelho geniturinário, problemas estomacais, sarna, sinusite, gripe, dor nas costas, anti-inflamatório, febre e asma	Decocção, infusão, lambedor, banho
<i>Maytenus rigida</i> Mart – Bom-nome, cabelo-de-negro (Celastraceae)	Rz, Cs, Ec, Fl, F	Infecções de ovário, rins, pulmões e diversos outros tipos, bronquite, tosse, úlceras externas, resfriado, dores no corpo, anti-inflamatório, problemas renais, problemas hepáticos, dores em geral, reumatismo, impotência sexual, distúrbios menstruais, inflamação da garganta, asma, sopro, lesão, anemia, problemas de circulação, problemas cardíacos, úlceras vaginais, reumatismo, cálculos renais, prisão de ventre, gastrite, lesões, hematomas,	Infusão, decocção, maceração, xarope, tintura

		inflamação da uretra, e rins, câncer	
<i>Momordica charantia</i> L. – Melão-de-são-caetano (Cucurbitaceae)	Ha, Fl, F, Ft, Ft, Se, Pa, Pi	Erisipela, cicatrizante, diarreia, impigem, furúnculo, doenças sexualmente transmissíveis, coceira, vermífugo, reumatismo, pedras nos rins, hipertensão, dengue, doenças de pele, dor de dente, alergias, erupções cutâneas, antiespasmódica, diabetes, hemorróidas, helmintíases, caspa, piolho	Cozimento, pó, decocção, uso tópico, banho, infusão, suco, sabão, cataplasma, consumo <i>in natura</i> .
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Alemão – Aroeira, aroeira-do-sertão (Anacardiaceae)	Rz, Cs, Ec, Fl, Se	Como antisséptico, cicatrizante; contra infecções e inflamações em geral, diarreia, bactérias, micoses, tosse, bronquite, tuberculose, disenteria, cistite, problemas no sistema reprodutor feminino, colesterol, problemas renais, dores em geral, febre, “pra-tudo”, azia, dor de dente, gastrite, limpar o intestino, problemas de estômago, fígado e intestino, úlceras, depurativo, ferimentos, envenenamento, AVC, queimaduras, feridas, entorses, problemas de garganta, expectorante, faringite, gripe, rouquidão, acne, sarna, coceira, doenças de pele, abortivo, amigdalite, catarata, afinar o sangue, reumatismo, alergia, câncer de próstata, reumatismo, artrite, picadas de insetos, hemorragia, febre reumática, difteria, rachaduras nos pés, cólica abdominal, odontalgia, queimaduras, vermes mágico-religioso	Decocção, maceração, infusão, tintura, banho de assento, garrafada, banho, xarope
<i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng. – Hortelã-graúda, malva, hortelã-da-folha-grande (Lamiaceae)	Fl, Pa	Impigem, tosse, bronquite, pneumonia, antibacteriano, doenças respiratórias, coceira, otalgia, amigdalite, gripe, resfriado, expectorante, distúrbios menstruais, disfonia, estomáquico, helmintíases, perda de cabelo, mágico-religioso, problemas hepáticos, verminose, hemorroidas, béquico, inflamação da garganta, dor de ouvido, má digestão, laxante, dores em geral, analgésico, congestão, problemas pulmonares, inflamações uterinas, diluentes de sangue, inflamação de órgãos internos, problemas de	Sumo, suco, infusão, decocção lambedor, ingerir a folha fresca; sumo quente (ouvido)

		garganta, enxaqueca, calmante, amigdalite, constipação	
<i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) – Catingueira, catinga-de-porco, pau-de-rato (Fabaceae)	Rz, Cs, Fl, F	Diarreia, disenteria, bronquite, tosse, infecções respiratórias, cicatrizante, infecção urinária, afrodisíaco, dor de estômago, afecções do útero, ovário e próstata, inchaço na barriga, diabetes, inflamações em geral, gripe, béquico, antiasmático, gastrite, cólicas, febre, azia, lesões, expectorante, carminativo, má digestão, anti-inflamatório, próstata, analgésico, gripe, gastrite, reumatismo, congestão, fezes com sangue, hepatite, impotência sexual, hemostático, expectorante, problemas de estômago	Infusão, maceração
<i>Psidium guajava</i> L. – Goiaba, goiaba branca, goiaba vermelha (Myrtaceae)	Fl, Fl, Br, Ft, Csr, Rz	Diarreia, disenteria, vômito, problemas hepáticos, má digestão, cólicas intestinais, transtornos digestivos, gengivite, afecções da garganta, dor de barriga, dor de estômago, dores de cabeça, inflamações em geral, prisão de ventre, iniquitação, coceira na cabeça, congestão, cólicas, fezes com sangue	Infusão, decocção
<i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. – Juazeiro, juá, juá-de-espinho (Rhamnaceae)	Fl, Cs, Ec, Ft e Rz	Tosse, gripe, pneumonia, tuberculose, bronquite, cicatrizante, antisséptico, limpeza dos dentes, caspa, asma, gripe, expectorante, constipação, inflamação da garganta, indigestão, sarna, dermatite seborréica, coceira, problemas de pele, lesões na cabeça, expectorante, má digestão, dor de estômago, piolho, dor de dente, reações alérgicas, tratamento de problemas dentais e gengiva, ferimentos, mau hálito, cáries, queimadura, insônia, vermes, reumatismo, tônico capilar, azia, indigestão	Xarope, maceração, decocção, banho, uso tópico como dentifrício ou xampu, garrafada ou xarope, lambedor

Fl: Folhas; Cs: Casca; Csr: Casca da raiz; Hs: Hastes; Ec: Entrecasca; Bl: Bulbo; Ca: Caule; Rz: Raiz; Ft: Fruto; F: Flores; Pa: Partes aéreas; Se: sementes; Pi: Planta inteira; Br: Brotos; Ol: Óleo; Re: Resina

Além da fitodiversidade e do vasto conhecimento da população local sobre a mesma, uma característica marcante da Caatinga faz dela um local extraordinário para pesquisas bioprospectivas: suas condições ambientais. Sabe-se que tais condições influenciam diretamente o metabolismo secundário vegetal e, por conseguinte, a síntese de moléculas com propriedades medicinais (CHAVES et al., 2012).

Na Caatinga, as chuvas são irregulares e concentradas em poucos meses, fator este que, associado a elevados índices de temperatura e intensidade luminosa, acarreta um déficit hídrico na região (TROVÃO et al., 2007). Plantas que se desenvolvem nestas condições, podem apresentar concentrações muito mais elevadas de produtos naturais relevantes em comparação com indivíduos da mesma espécie cultivados em clima moderado com uma ampla disponibilidade de água (SELMAR, 2008). Há relatos na literatura sobre a influência positiva do estresse hídrico na concentração de diversos metabólitos secundários, dentre eles, glicosídeos cianogênicos, alcalóides, diversos terpenos, óleos essenciais, flavonóides, antocianinas, xantonas e catequinas (SELMAR e KLEINWÄCHTER, 2013).

***Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz**

Poincianella pyramidalis é uma espécie arbórea pertencente à família Fabaceae, endêmica da região nordeste do Brasil, conhecida popularmente como “catingueira”, “pau-de-rato” e “catinga-de-porco”. Pode atingir 4 m de altura e apresenta folhas bipinadas, com 5 a 11 folíolos sésseis, alternos, coriáceos, oblongos e obtusos; possui flores amarelas dispostas em cachos com comprimento semelhante ao das folhas; o fruto é uma vagem que sésil, coriácea, lisa, achatada, de cor escura e podendo chegar até a 11 cm de comprimento (Figura 1) (CORRÊA, 1926; BRAGA, 1960).

Esta espécie é adaptada a ambientes xéricos e degradados e pode ser encontrado em várias associações de plantas, habitando solo pedregoso e crescendo bem em terras baixas úmidas (LIMA, 1996; OLIVEIRA, 2010). É uma planta considerada anunciadora de períodos chuvosos, em virtude de seus gomos brotarem com o surgimento dos primeiros indícios de umidade (SILVA e MATOS, 1998).

Até pouco tempo, *P. pyramidalis* era conhecida como *Caesalpinia pyramidalis*, porém, em consequência de uma reformulação taxonômica, a espécie passou a integrar o gênero *Poincianella* (QUEIROZ, 2010).

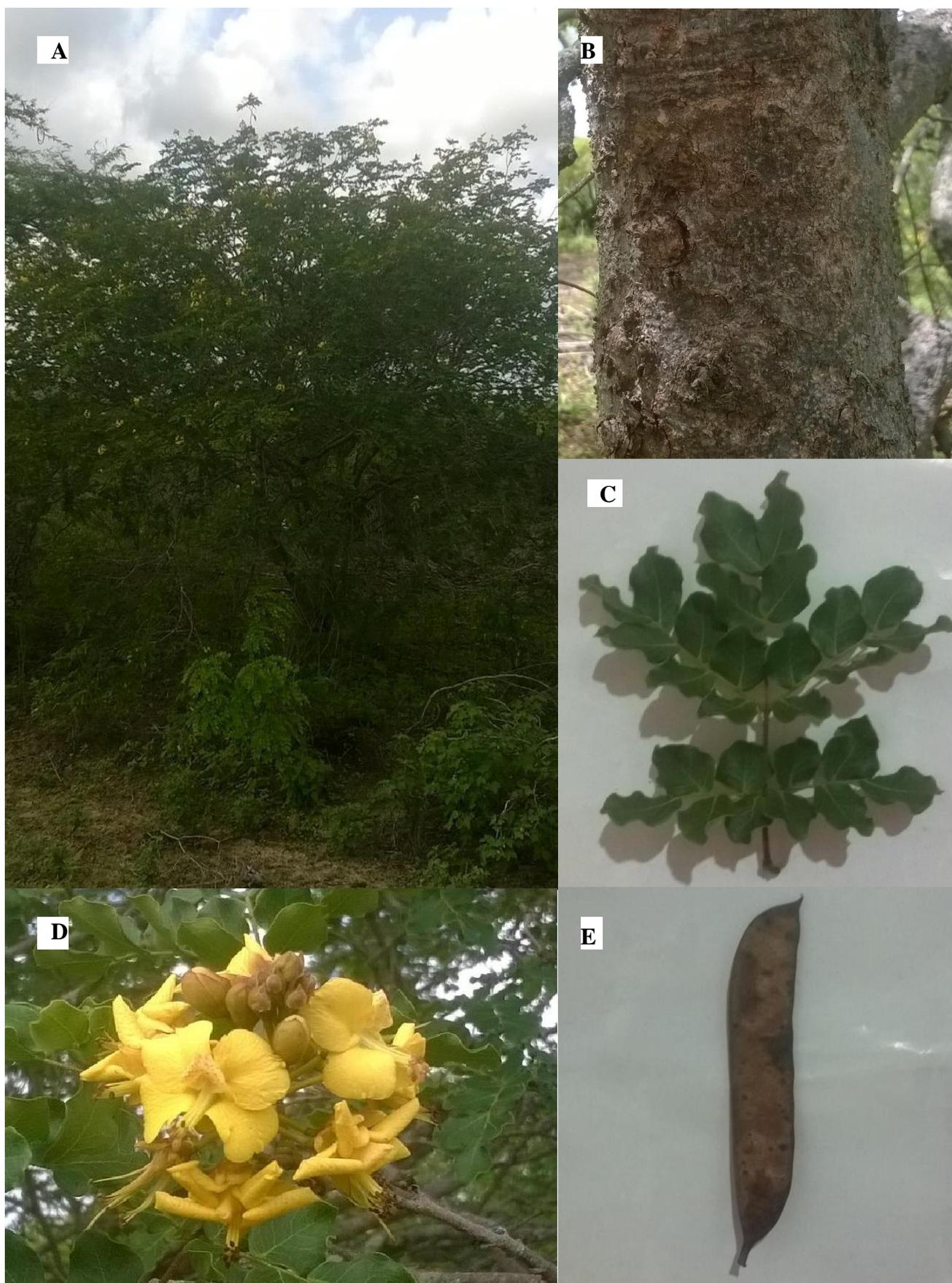


Figura 1. *Poincinella pyramidalis*. A – Visão geral; B – Detalhe da casca; C – Folha; D – Flores; E – Fruto.

P. pyramidalis apresenta uma grande importância para a população que habita a região semiárida brasileira, devido a multiplicidade de usos que possui, podendo-se destacar o uso como combustível, em construções, como forragem e o medicinal (LUCENA et al., 2012).

Este último uso é bem documentado na literatura, onde são listados usos infusos e decoctos obtidos a partir de suas raízes, cascas, folhas e flores para o tratamento de diversas enfermidades, com maior ênfase para as doenças infecciosas e como anti-inflamatório e analgésico (LIMA, 1996; ALBUQUERQUE e ANDRADE 2002a,b; SILVA e ALBUQUERQUE, 2005; ALBUQUERQUE 2006; ALMEIDA et al., 2006; AGRA et al, 2007a,b 2008; ALBUQUERQUE et al, 2007; CRUZ et al, 2007; BAHIA et al, 2010; CARTAXO et al, 2010; OLIVEIRA et al., 2010; SILVA e FREIRE, 2010; MARINHO et al., 2011; SILVA et al., 2011b; SOUZA et al., 2011; PEREIRA JÚNIOR et al., 2014; RIBEIRO et al., 2014; SILVA et al., 2015).

Diversos autores realizaram estudos fitoquímicos com *P. pyramidalis*, nos quais foram identificadas e isoladas variadas substâncias, principalmente compostos fenólicos (MENDES et al., 2000; BAHIA et al., 2005, 2010; OLIVEIRA, 2010; BORGES-DOS-SANTOS, 2012). Diferentes atividades biológicas da planta foram avaliadas e estão descritas no Quadro 6.

Quadro 6. Atividades biológicas testadas de *P. pyramidalis*

Partes da planta	Atividades biológicas avaliadas	Referências
Casca e folhas	Antibacteriana	Novais et al. (2003); Lima et al. (2006); Alviano et al. (2008); Saraiva et al. (2012a,b); Ribeiro et al. (2013)
Folhas	Antifúngica	Cruz et al. (2007); Barbosa Júnior et al. (2015)
Casca	Antioxidante	Alviano et al. (2008); Melo et al. (2010); Silva et al. (2011a)
Casca	Antiulcerogênica e Gastroprotetora	Ribeiro et al. (2013); Diniz et al. (2015)
Casca	Anti-inflamatória	Santos et al. (2011); Santana et al. (2012); Moraes et al. (2013).
Casca	Antinociceptiva	Santos et al. (2011); Santos et al., (2013a)
Casca e folhas	Radioprotetora	Santos et al. (2013b)
Folhas	Antihelmíntica	Borges-dos-Santos et al. (2012); Nunes (2012)

Secagem por *spray dryer*

O mercado de medicamentos fitoterápicos está em franca expansão e representa hoje uma expressiva parcela no mercado de medicamentos. Estima-se que o mercado mundial de fitoterápicos movimente cerca de US\$ 44 bilhões, enquanto no mercado brasileiro as estimativas variam entre US\$ 350 milhões e US\$ 550 milhões (BRASIL, 2012).

De acordo com Oliveira e Petrovick (2010) a matéria-prima para estes produtos é constituída, majoritariamente, por extratos secos. Estes podem ser obtidos a partir de diversos procedimentos de secagem, dentre os quais se pode destacar a técnica de secagem por aspersão (*spray dryer*). Este processo consiste na secagem de um material fluido obtendo-se partículas sólidas através do contato deste fluido em uma corrente de ar de secagem em temperatura elevada (SONAGLIO et al., 2004).

Embora esta técnica seja utilizada industrialmente desde a década de 1920 para a secagem de leite e sabão em pó, a primeira aplicação de secagem por aspersão para produtos farmacêuticos foi a obtenção de extratos secos de matérias-primas ativas de origem vegetal (CAL e SOLLOHUB, 2010).

Este tipo de secagem tem se tornado cada vez mais popular neste campo, devido à capacidade de secar os extratos fluidos sem que haja a degradação das substâncias que os compõem. Embora seja necessário ar em temperaturas bastante elevadas para a secagem do extrato, na técnica de secagem por *spray dryer*, contato deste ar com o produto é muito curto, o que preserva as substâncias termolábeis (SOLLOHUB e CAL, 2010).

Para se obter um produto seco com as características desejadas, deve-se ajustar adequadamente os parâmetros de funcionamento do equipamento como temperatura do ar de entrada e de saída, velocidade de alimentação e o fluxo de ar de atomização (GALLO et al., 2011). Além disso, as características do produto a ser seco também exerce influência nas características do produto final.

Os principais problemas relacionados à secagem de extratos vegetais são a aderência de partículas na câmara de secagem e a elevada higroscopicidade, a qual pode ocasionar características indesejáveis como cristalização, difícil manipulação e aglomeração durante o armazenamento (SOUZA e OLIVEIRA, 2006).

Uma alternativa bastante comum para minimizar reduzir esses efeitos desfavoráveis é o uso de adjuvantes de secagem, os quais proporcionam condições em que ocorra uma evaporação adequada do solvente, sem a adesão do produto e diminui a higroscopicidade

do produto seco, além de elevar os rendimentos do processo de secagem (OLIVEIRA e PETROVICK, 2010; COUTO et al., 2011).

Diversos aditivos de secagem são utilizados, sendo os mais utilizados o dióxido de silício coloidal, fosfato tricálcio e β -ciclodextrina (VASCONCELOS et al., 2005). Estes autores avaliaram a influência dos adjuvantes dióxido de silício coloidal (Aerosil[®] 200) e β -ciclodextrina (Kleptose[®]) na secagem de extratos de *Schinus terebinthifolius* Raddi quanto ao rendimento e o comportamento frente à umidade relativa de 60 e 90 %. Os extratos secos com Aerosil apresentaram características mais desejáveis como uma boa estabilidade física, o aspecto de pó fino e solto além de apresentar um maior rendimento ao processo; os extratos com Kleptose apresentaram tendência à formação de aglomerados; enquanto os extratos sem adjuvante adquiriram forma semissólida, de coloração enegrecida, após 24 horas de exposição à umidade. Em trabalho similar com *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* (SOUZA et al., 2000), os extratos secos com dióxido de silício coloidal apresentaram melhores resultados que a gelatina ou sua mistura com dióxido de silício coloidal, quanto à higroscopicidade e ao conteúdo de flavonoides totais. Extratos de *Rhamnus purshiana* (GALLO et al., 2011) secos com dióxido de silício coloidal apresentaram propriedades físicas adequadas para garantir uma boa estabilidade do produto, como pós com baixo teor de umidade, baixa higroscopicidade, aumento da temperatura de transição vítrea.

1.6 Análise térmica

A análise térmica inclui um conjunto de técnicas que avaliam alterações de uma propriedade física de uma substância em função da temperatura e/ou tempo, na medida em que esta mesma substância é submetida a um programa controlado de temperatura em uma atmosfera específica (GIRON, 2002; ARAÚJO et al., 2003).

A análise térmica já possui mais de um século de história, ao longo do qual novas técnicas foram desenvolvidas, permitindo a aplicação das mesmas em muitos campos, como minerais, substâncias inorgânicas, metais, cerâmica, materiais eletrônicos, polímeros, substâncias orgânicas, produtos farmacêuticos, produtos alimentares, dentre outras (OZAWA, 2000).

A aplicação destas técnicas para os produtos farmacêuticos é utilizada desde a década de 1970, sendo utilizada para caracterização de fármacos, além de obter informações sobre, pureza, compatibilidade, estabilidade, polimorfismo, dentre outros

(NUNES et al., 2009). Dentre as técnicas mais amplamente difundidas e utilizadas pode-se destacar a termogravimetria (TG) e a análise térmica diferencial (DTA).

Através da TG pode-se mensurar a variação de massa de uma determinada substância em função da temperatura em uma atmosfera controlada sob um programa de aquecimento (OLIVEIRA et al., 2011). Enquanto a DTA mede a diferença de temperatura entre a amostra e um material de referência (termicamente inerte) em função da temperatura ou do tempo, enquanto ambos são submetidos a uma programação controlada de temperatura (IONASHIRO, 2004).

Estas técnicas também têm encontrado uma aplicação na investigação de materiais de origem biológica com potencial terapêutico (WESOLOWSKI et al., 2001). Vários autores têm demonstrado aplicações da análise térmica em tecnologia farmacêutica e da padronização e caracterização de produtos oriundos de plantas medicinais (MEDEIROS et al., 2002; FERNANDES et al., 2013; CORREIA et al., 2011, 2013, 2015a,b).

Como exemplo pode-se citar Medeiros et al. (2002) que avaliaram o comportamento térmico do extrato seco de *Albizia inopinata* (Fabaceae) sem e com os adjuvantes de secagem dióxido de silício coloidal (Aerosil[®] 200) e β -ciclodextrina (Kleptose[®]). Para o extrato sem adjuvante e com dióxido de silício coloidal foram observadas sete etapas de decomposição com resíduo mineral de 10,32 e 38,58% respectivamente. O extrato com β -ciclodextrina apresentou oito processos de decomposição e um resíduo de 8,56%.

Fernandes et al. (2013) utilizaram análise térmica e outras técnicas analíticas para caracterizar extratos secos por aspensão de duas plantas de uso medicinal no semiárido brasileiro *Ximenia americana* L. (Olacaceae) e *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae). Em *X. americana* observou-se um evento endotérmico a 83,16°C atribuído a perda de compostos voláteis, enquanto em *S. brasiliensis*, evento similar foi observado a 80,99°C, seguido por diversos eventos endotérmicos e exotérmicos no intervalo entre 126.14 e 325.50 °C, correspondentes à decomposição de diversos metabólitos secundários do extrato, principalmente compostos fenólicos. Quanto ao perfil de degradação, para ambos os extratos os autores observaram três etapas de decomposição, com resíduo mineral de 39,17 % e 37,58% para *X. americana* e *S. brasiliensis*, respectivamente.

A análise térmica também é aplicada em estudos de pré-formulação, dentre os quais a análise da compatibilidade entre o ingrediente farmacêutico ativo e os excipientes. Em trabalho desta natureza, Lira et al. (2007) avaliaram a compatibilidade entre o lapachol,

uma naftoquinona encontrada em diversas espécies vegetais, e excipientes utilizados em formulações de gel ou cremes. Quanto ao compostamento térmico do lapachol, observou-se um pico endotérmico a 138,5 °C, correspondente ao processo de fusão, com posterior decomposição térmica a uma temperatura de aproximadamente 141 °C. Ao avaliar misturas binárias entre o lapachol e os excipientes, houve mudanças nas propriedades do primeiro, indicando possível incompatibilidade com os excipientes monoestearato de glicerila, álcool cetosteárico e metilparabeno.

Estes e outros estudos que utilizaram análise térmica na investigação de características de produtos de origem vegetal (WESOLOWSKI et al., 2001; ARAGÃO et al., 2002; SILVA JÚNIOR et al., 2006; COSTA et al., 2013; CORREIA et al., 2013, 2015a,b), refletem o potencial destas técnicas para o estudo de compatibilidade fármaco/extrato/excipientes farmacêuticos, além de ser empregada no controle da qualidade de insumo farmacêutico ativo e produtos fitoterápicos, garantindo maior qualidade, segurança e eficácia de seu uso.

REFERÊNCIAS

ADWAN, G.; ABU-SHANAB, B.; ADWAN K. Antibacterial activities of some plant extracts alone and in combination with different antimicrobials against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. v. 1, pp. 266-269, 2010.

AGRA, M. F. FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 17, n. 1, pp.114-140, 2007a.

AGRA, M. F.; BARACHO G. S.; NURIT, K.; BASÍLIO I. J. L. D.; COELHO, V. P. M. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, pp.383–395, 2007b.

AGRA, M. F.; BARACHO, G. S.; BASÍLIO, I. J. D.; NURIT, K.; COELHO, V. P.; BARBOSA, D. A. Sinopse da Flora Medicinal do Cariri Paraibano. **Oecol. Bras.**, v.11, n.3, pp. 323-330, 2007b.

AGRA, M. F.; NURIT, K.; BASÍLIO I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 18, n. 3, pp. 472-508, 2008.

AGUIAR, J. J.; SOUSA, C. P.; ARARUNA, M. K.; SILVA, M. K.; PORTELO, A. C.; LOPES, J. C.; CARVALHO, V. R. A.; FIGUEREDO, F. G.; BITU, V. C. N.; COUTINHO, H. D. M.; MIRANDA, T. A. S.; MATIAS, E. F. F. Antibacterial and modifying-antibiotic activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum* L. and *Plectranthus amboinicus* L. **European Journal of Integrative Medicine**. v. 7, n. 2, pp. 151-156, 2015.

AHMAD, I.; BEG, A. Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. **Journal of ethnopharmacology**, v. 74, n. 2, p. 113-123, 2001.

AHMED, M.; BORSCH, C. M.; NEYFAKH, A. A.; SCHULDINER, S. Mutants of the *Bacillus subtilis* multidrug transporter Bmr with altered sensitivity to the antihypertensive alkaloid reserpine. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, n. 15, p. 11086-11089, 1993.

ALBUQUERQUE, U. P. Re-examining hypotheses concerning the use and knowledge of medicinal plants: a study in the Caatinga vegetation of NE Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 2, n.30, 2006.

ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 114, pp. 325–354, 2007a.

ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Acta bot. bras.** v. 16, n.3, pp. 273-285, 2002a.

ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Uso de recursos vegetais da Caatinga: o caso do agreste do Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciencia**. v. 27, n. 7, pp. 336-346, 2002b.

ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C.; SILVA, A. C. O. Use of plant resources in a seasonal dry forest (Northeastern Brazil). **Acta bot. bras.** v.19, n.1 pp. 27-38, 2005.

ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, N. Supl., pp. 678-689, 2006.

ALBUQUERQUE, U. P.; MONTEIRO, J. M.; RAMOS, M. A.; AMORIM, E. L. C. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 110, pp. 76–91, 2007b.

ALBUQUERQUE, U. P.; OLIVEIRA, R. F. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants? **Journal of Ethnopharmacology**. v.113, pp.156–170, 2007.

ALBUQUERQUE, U. P.; SILVA, V. A.; CABRAL, M. C.; ALENCAR, N. L.; ANDRADE, L. H. C. Comparisons between the use of medicinal plants in indigenous and rural caatinga (dryland) communities in NE Brazil. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 7, n. 3, pp. 156 – 170, 2008.

ALBUQUERQUE, U. P.; SOLDATI, G. T.; SIEBER, S. S.; LINS NETO, E. M. F.; SÁ, L. C.; SOUZA, L. C. Use and extraction of medicinal plants by the Fulni-ô indians in northeastern Brazil – implications for local conservation. **Sitientibus série Ciências Biológicas**. v. 11, n. 2, pp. 309–320. 2011b.

ALBUQUERQUE, U. P.; SOLDATI, G. T.; SIEBER, S. S.; MEDEIROS, P. M.; SÁ, L. C.; SOUZA, L. C. Rapid ethnobotanical diagnosis of the Fulni-ô Indigenous lands (NE Brazil): floristic survey and local conservation priorities for medicinal plants. **Environ Dev Sustain**. v. 13, pp. 277–292, 2011a.

ALCÂNTARA JÚNIOR, J. P.; AYALA-OSUNA, J. T.; QUEIROZ, S. R. O. D; RIOS, A. P. Levantamento Etnobotânico e Etnofarmacológico de Plantas Medicinais do Município de Itaberaba-Ba para cultivo e preservação. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 5, n. 1, pp. 39-44, 2005.

ALMEIDA, C. F. C. B. R.; ALBUQUERQUE, U. P. Uso e conservação de Plantas e Animais Medicinais no Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil): um estudo de caso. **Interciencia**. v. 27 n.6, pp. 276-285, 2002.

ALMEIDA, C. F. C. B. R.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P.; MAIA, M. B. S. Medicinal plants popularly used in the Xingó region – a semi-arid location in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**. v. 2, n. 15, 2006.

ALVES, R.R.N.; SILVA, C. C.; ALVES, H. N. Aspectos sócio-econômicos do comércio de plantas e animais medicinais em área metropolitanas do Norte e Nordeste do Brasil. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v. 8, n. 1, 2008.

ALVIANO, W. S.; ALVIANO, D. S.; DINIZ, C. G.; ANTONIOLLI, A.R.; ALVIANO, C.; FARIAS, L. M.; CARVALHO, M. A. R.; SOUZA, M. M. G.; BOLOGNESE, A. M. *In vitro* antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. **Archives of Oral Biology**. v. 53, n. 6, p. 545–552, 2008.

AMADEO, B.; ZARB, P.; MULLER, A.; DRAPIER, N.; VANKERCKHOVEN, V.; ROGUES, A. M.; DAVEY, P.; & GOOSSENS, H. European Surveillance of Antibiotic Consumption (ESAC) point prevalence survey 2008: paediatric antimicrobial prescribing in 32 hospitals of 21 European countries. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. pp.1-6. 2010. doi:10.1093/jac/dkq309

ANDERSSON, D. I.; HUGHES, D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? **Nature Reviews Microbiology**. v. 8, n. 4, pp. 260-271, 2010.

ANDRADE, C. T. S.; MARQUES, J. G. W; ZAPPI, D. C. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.8, n.3, p.36-42, 2006.

ANSELMO, A. F.; SILVA, C. G.; MARINHO, M. G. V.; ZANELLA, F. C. V.; XAVIER, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais comercializadas por raizeiros em uma feira livre no município de Patos – PB. **Biofar**, Volume especial, pp. 39-48, 2012.

AQUINO, P. E. A.; PEREIRA, N. L. F.; FIGUEREDO, F. G.; FERREIRA, S. S.; LEANDRO, L. M. G.; SOUZA, J. C. C. O.; OLIVEIRA, C. D. M.; SANTANA, J. K. L.; TORRES, C. M. G.; SILVA, M. R.; COUTINHO, H. D. M.; MATIAS, E. F. F. The association between drugs and herbal products: In vitro enhancement of the antibiotic activity by extracts of dry floral buttons of *Egletes viscosa* L.(macela). **European Journal of Integrative Medicine**. v. 7, pp.258-262, 2015.

ARAGÃO, C. F. S.; SOUZA, F. S.; BARROS, A. C. S.; VERAS, J. W. E.; BARBOSA FILHO, J. M.; MACEDO, R. O. Aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 60-61, 2002.

ARARUNA, M. K.; SANTOS, K. K. A.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; BOLIGON, A. A.; STEFANELLO, S. T.; ATHAYDE, M. L.; SARAIVA, R. A.; ROCHA, J. B. T.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A. Phenolic composition and in vitro activity of the Brazilian fruit tree *Caryocar coriaceum* Wittm. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 5, p. 178-183, 2013.

ARAÚJO, A.A.S.; STORPIRTIS, S.; MERCURI, L.P.; CARVALHO, F.M.S.; SANTOS FILHO, M.; MATOS, J.R. Thermal analysis of the antiretroviral zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 260, n. 02, p. 303-314, 2003.

AYRAPETYAN, M.; WILLIAMS, T. C.; OLIVER, J. D. Bridging the gap between viable but non-culturable and antibiotic persistent bacteria. **Trends in microbiology**, v. 23, n. 1, p. 7-13, 2015.

BAHIA, M. V.; SANTOS, J. B.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Biflavonoids and other phenolics of *Caesalpinia pyramidalis* (Fabaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. 16(6b): 1402-1405.

BAHIA, M. V.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Occurrence of biflavones in leaves of *Caesalpinia pyramidalis* specimens. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1297-1300, 2010.

BARBOSA, J. A. A. “Das Sementes aos Frutos”: indicações terapêuticas dos vegetais e suas partes em uma comunidade tradicional na Paraíba. **Biofar**. v.5, n. 1, pp. 48-63, 2011.

BARBOSA JÚNIOR, A. M.; MÉLO, D. L. F. M.; ALMEIDA, F. T. C.; TRINDADE, R. C. Estudo comparativo da susceptibilidade de isolados clínicos de *Cryptococcus neoformans* (Sanfelice, 1895) frente a alguns antifúngicos de uso hospitalar e extratos vegetais obtidos de plantas medicinais da região semiárida sergipana. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 17, n. 1, p. 120-132, 2015.

BARBOSA, T. M.; LEVY, S. B. The impact of antibiotic use on resistance development and persistence. **Drug resistance updates**, v. 3, n. 5, pp. 303-311, 2000.

BARRETO, H. M.; FONTINELE, F. C.; OLIVEIRA, A. P.; ARCANJO, D. D. R.; SANTOS, B. H. C.; ABREU, A. P. L.; COUTINHO, H. D. M.; SILVA, R. A. C.; SOUSA T. O.; MEDEIROS, M. G. F.; CITÓ A. M. G. L.; DANTAS LOPES, J. A. Phytochemical prospection and modulation of antibiotic activity in vitro by *Lippia organoides* HBK in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **BioMed research international**, 2014.

BARRETO, H. M.; SILVA FILHO, E. C.; LIMA, E. O.; COUTINHO, H. D. M.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; TAVARES, C. C. A.; TINTINO, S. R.; REGO, J. C.; ABREU, A. P. L.; LUSTOSA, M. C. G.; OLIVEIRA, R. W. G.; CITÓ, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D. Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Industrial Crops and Products**. v. 59, pp. 290–294, 2014.

BENTO, E. B.; MATIAS, E. F. F.; BRITO, F. E.; OLIVEIRA, D. R.; COUTINHO H. D. M.; COSTA, J. G. M.; KERNTOPF M. R.; MENEZES, I. R. A. Association between food and drugs: antimicrobial and synergistic activity of *Annona muricata* L. **International Journal of Food Properties**, v.16, pp.738–744, 2013.

BITU, V. C. N.; FECUNDO, H. T. B.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; RODRIGUES, F. F. G.; SANTANA, N. M.; BOTELHO, M. A.; MENEZES, I. R. A. Chemical composition of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer leaves and its potential as modulator of bacterial resistance. **Natural product research**, v. 28, n. 6, pp. 399-402, 2014.

BLAIR, J. M. A. WEBBER, M. A.; BAYLAY, A. J.; OGBOLU, D. O.; PIDDOCK, L. J. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 42-51, 2015.

BOLSON, M.; HEFLER, S. R.; DALL, E. I.; CHAVES, O.; JUNIOR, A. G.; JUNIOR, E. L. C. Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 161, p. 1-10, 2015.

BORGES-DOS-SANTOS, R. R.; SANTOS, J. L. L.; FAROUK, Z.; DAVID, J. M.; DAVID J. P.; LIMA, J. W. M. Biological Effect of Leaf Aqueous Extract of *Caesalpinia pyramidalis* in Goats Naturally Infected with Gastrointestinal Nematodes. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.

BOURGAUD, F.; GRAVOT, A.; MILESI, S.; GONTIER, E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant science**, v. 161, n. 5, p. 839-851, 2001.

BRAGA, M. F. B. M.; SALES, D. L.; CARNEIRO, J. N.; PAIVA, O. A.; ALBUQUERQUE, R. S.; BRITO, D. I. V.; FIGUEREDO, F. G.; LEITE, N. F.; TINTINO, S. R.; COUTINHO, H. D. M. Efeito antifúngico e atividade moduladora de *Lygodium venustum* SW. **Revista Ouricuri**. v. 3, p. 146-159, 2013b.

BRAGA, M. F. B. M.; SOUZA, T. M.; SANTOS, K. K. A.; ANDRADE, J. C.; GUEDES, G. M. M.; TINTINO, S. R.; SOUZA, C. E. S.; COSTA, J. G. M.; MENEZES, I. R. A.; SARAIVA, A. A. F.; COUTINHO, H. D. M. Antimicrobial and Modulatory Activity of Ethanol Extract of the Leaves from *Lygodium venustum* SW. **American Fern Journal**. v. 102, pp. 154-160, 2012a.

BRAGA, M. F. B. M.; SOUZA, T. M.; SANTOS, K. K. A.; GUEDES, G. M. M.; ANDRADE, J. C.; TINTINO, S. R.; COSTA, J. G. M.; MENEZES, I. R. A.; SARAIVA, A. A. F.; COUTINHO, H. D. M. Atividade antibacteriana, antifúngica e moduladora da atividade antimicrobiana de frações obtidas de *Lygodium venustum* SW.. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 12, p. 38-43, 2013a.

BRAGA, M. F. B. M.; SOUZA, T. M.; SANTOS, K. K. A.; GUEDES, G. M. M.; ANDRADE, J. C.; SOUZA, C. E. S.; TINTINO, S. R.; COSTA, J. G. M.; SARAIVA, A. A. F.; COUTINHO, H. D. M. Phenolic Compounds and Interaction between Aminoglycosides and Natural Products of *Lygodium venustum* SW against Multiresistant Bacteria. **Chemotherapy**, v. 58, p. 337-340, 2012b.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 2ª edição. Fortaleza: Imprensa Oficial do Ceará. 1960, 540p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica**. Brasília, DF: Ed. Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n 26, de 13 de maio de 2014**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos, 2014.

BRITO JUNIOR, F. E.; MATIAS, E. F. F.; OLIVEIRA, D. R.; RAMOS, A. G.; FERNANDES, C. N.; SOUZA, H. H.; PEREIRA, A. O.; LACERDA NETO, L. J.; ARARUNA, M. K.; SANTOS F.A.V.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A. Modulatory antibiotic activity and Chemical composition of hydroalcoholic extract of *Croton campestris*. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 5, p. 4400-4404, 2011.

BRITO, S. M.; COUTINHO, H. D. M. TALVANI, A.; CORONEL, C.; BARBOSA, A. G.; VEGA, C.; FIGUEREDO, F. G.; TINTINO, S. R.; LIMA, L. F.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; MENEZES, I. R. A. Analysis of bioactivities and chemical composition of *Ziziphus joazeiro* Mart. using HPLC–DAD. **Food chemistry**. v.186, 185-191, 2015.

BRITO, V. S. F.; DANTAS, I. C.; DANTAS, G. D. S. Plantas medicinais utilizadas pela comissão de mulheres na zona rural no Município de Lagoa Seca – PB. **Biofar**. v.3, n. 1, pp. 112-123, 2009.

CABRAL, J. H. M.; JACKSON, A. P.; SMITH, C. V.; SHIKOTRA, N.; MAXWELL, A.; LIDDINGTON, R. C. Crystal structure of the breakage-reunion domain of DNA gyrase. **Nature**. v.388, pp. 903–906, 1997.

CAL, K.; SOLLOHUB, K. Spray drying technique. I: Hardware and process parameters. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 99, n. 2, p. 575-586, 2010.

CALIXTO JÚNIOR, J. T.; MORAIS, S. M.; MARTINS, C. G.; VIEIRA, L. G.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; CARNEIRO, J. N.; MACHADO, A. J. P.; MENEZES, I. R. A.; TINTINO, S. R.; COUTINHO, H. D. M. Phytochemical Analysis and Modulation of Antibiotic Activity by *Luehea paniculata* Mart. & Zucc.(Malvaceae) in Multiresistant Clinical Isolates of *Candida* Spp. **BioMed research international**, 2015.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz J Med Biol Res**. vol.33, n.2, pp. 179-189, 2000.

CARTAXO, S. L.; SOUZA, M. M. A.; ALBUQUERQUE, U. P. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 131, pp.326–342, 2010.

CARVALHO, A. C. B.; BALBINO, E. E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J. P. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 314-319, 2008.

CARVALHO, T. K. N.; SOUSA, R. F.; MENESES, S. S. S.; RIBEIRO, J. P. O.; FÉLIX, L. P.; LUCENA, R. F. P. Plantas usadas por uma comunidade rural na depressão sertaneja no Nordeste do Brasil. **Biofar**, Volume especial, pp. 92-120, 2012.

CASTRO, J. A.; BRASILEIRO, B. P.; LYRA, D. H.; PEREIRA, D. A.; CHAVES, J. L.; AMARAL, C. L. F. Ethnobotanical study of traditional uses of medicinal plants: The flora of caatinga in the community of Cravolândia-BA, Brazil. **Journal of Medicinal Plants Research**. v. 5, n. 10, pp. 1905-1917, 2011.

CHAMBERS, H. F. Princípios gerais da terapia antimicrobiana. In: BRUNTON, L. L.; LAZO, J.; PARKER, K. (eds). **Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica**. 11.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill interamericana do Brasil, pp 1095–1111, 2006.

CHANDA, S.; RAKHOLIYA, K. Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. **Microbiol Book Series**. 520-529, 2011.

CHAVES, T. P.; SANTANA, C. P.; VÉRAS, G.; BRANDÃO, D. O.; FELISMINO, D. C.; MEDEIROS, A. C. D.; TROVÃO, D. M. D. B. Seasonal variation in the production of secondary metabolites and antimicrobial activity of two plant species used in Brazilian traditional medicine. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 8, 2015.

CHAVES, T. P.; BARBOSA, A. S.; NUNES, L. E.; SILVA, K. M. A.; SIMÕES, M. O. S.; SANTOS, R. L.; CATÃO, R. M. R.; SANTOS, V. L.; MEDEIROS, A. C. D. Evaluation of the potential modulator of bacterial resistance, acute toxicity and chemical composition of *Schinopsis brasiliensis* Engl. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 9, n. 33, p. 843-849, 2015.

CHOU, T. C. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. **Pharmacological reviews**. v. 58, n. 3, pp. 621-681, 2006.

CLARK, A. M. Natural products as a resource for new drugs. **Pharmaceutical research**, v. 13, n. 8, p. 1133-1141, 1996.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional. 1926

CORREIA, L. P.; PROCÓPIO, J. V. V.; SANTANA, C. P.; SANTOS, A. F. O.; MEDEIROS CAVALCANTE, H. M.; MACÊDO, R. O. Characterization of herbal medicine with different particle sizes using pyrolysis GC/MS, SEM, and thermal techniques. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 111, n. 3, p. 1691-1698, 2013.

CORREIA, L. P.; PROCÓPIO, J. V. V.; SANTANA, C. P.; PINTO, M. F.; MOURA, E. A.; SANTOS, A. F. O.; MACÊDO, R. O. Herbal medicine physical quality evaluation by thermal analysis using adapted Ozawa method. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v.122, pp. 207-214, 2015a.

CORREIA, L. P.; SANTANA, C. P.; MEDEIROS, A. C. D.; MACÊDO, R. O. *Sideroxylon obtusifolium* herbal medicine characterization using pyrolysis GC/MS,

SEM and different thermoanalytical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. 2015b, In press

COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; Falcão-Silva, V.S.; SIQUEIRA JUNIOR, J. P. Use of Aromatherapy Associated with Antibiotictherapy: Modulation of the Antibiotic Activity by the essential oil of *Zanthoxylum articulatum* using gaseous contact. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 13, p. 670-675, 2010.

COSTA, R.S.; NEGRÃO, C.A.B.; CAMELO, S.R.P.; RIBEIRO-COSTA, R.M.; BARBOSA, W.L.R.; COSTA, C.E.F.; SILVA JÚNIOR, J.O.S.; Investigation of thermal behavior of *Heliotropium indicum* L. lyophilized extract by TG and DSC. **Journal Thermal Analysis and Calorimetric**. v. 111, n. 01, p. 1959-1964, 2013.

COURVALIN, P. Predictable and unpredictable evolution of antibiotic resistance. **Journal of internal medicine**, v. 264, n. 1, p. 4-16, 2008.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; FALCÃO-SILVA, V. S.; LIMA, E. O.; SIQUEIRA JUNIOR, J. P. Effect of *Momordica charantia* L. in the resistance to aminoglycosides in methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 33, p. 467-471, 2010.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; LIMA, E. O. Fruits to potentiate the antibiotic activity: The effect of *Eugenia uniflora* and *Eugenia jambolanum* L. against MRSA. **Acta Alimentaria**. v. 41, pp. 67-72, 2012.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; LIMA, E. O.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J. P. Increasing of the Aminoglicosyde Antibiotic Activity Against a Multidrug-Resistant *E. coli* by *Turnera ulmifolia* L. and Chlorpromazine. **Biological Research for Nursing**, v. 11, p. 332-335, 2010b.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G.M.; FALCÃO-SILVA, V. S. ; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; LIMA, E. O. In vitro additive effect of *Hyptis martiusii* in the resistance to aminoglycosides of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, p. 1002-1006, 2010a.

COUTINHO, H. D. M.; MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; SANTOS F.A.V.; BRAGA, M. F. B. M.; SOUZA, T. M.; ANDRADE, J. C.; SOUZA, C. E. S.; TINTINO, S. R.; GUEDES, G. M. M.; SILVA, V. S. F.; SIQUEIRA JUNIOR, J. P.; COSTA, J. G. M. Modulation of the Norfloxacin Resistance in *Staphylococcus aureus* by *Croton campestris* A. and *Ocimum gratissimum* L. **Biomédica**, v. 31, p. 608-612, 2011b.

COUTINHO, H. D. M.; RODRIGUES, F. F. G.; NASCIMENTO, E. M.; COSTA, J. G. M.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA JUNIOR, J. P. Synergism of gentamicin and norfloxacin with the volatile compounds of *Lippia microphylla* Cham. (Verbenaceae). **The Journal of Essential Oil Research**, v. 23, p. 24-28, 2011.

COUTINHO, H. D.M.; COSTA, J. G. M.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; LIMA, E. O. Potentiation of Antibiotic Activity by *Eugenia uniflora* and *Eugenia jambolanum*. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, p. 1024-1026, 2010.

COUTO, R. O.; ARAÚJO, R. R.; TACON, L. A.; CONCEIÇÃO, E. C.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R.; FREITAS, L. A. P. Development of a phytopharmaceutical intermediate product via spray drying. **Drying Technology**, v. 29, n. 6, p. 709-718, 2011.

COX, S. D.; GUSTAFSON, J. E.; MANN, C. M.; MARKHAM, J. L.; LIEW, Y. C.; HARTLAND, R. P.; WYLLIE, S. G. Tea tree oil causes K⁺ leakage and inhibits respiration in *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, n. 5, p. 355-358, 1998.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites) In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds). **Biochemistry and molecular biology of plants**, v. 24, p. 1250-1319, 2000.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview. In: CROZIER, A.; CLIFFORD, M. N.; ASHIHARA, H. **Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet**. Ames, Iowa –EUA. Blackwell Publishing, 2006.

CRUZ, M. C. S.; SANTOS, P. O.; BARBOSA, J. R. A. M.; MELO, D. L. F. M.; ALVIANO, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; ALVIANO, D. S.; TRINDADE, R. C. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 409-412, 2007.

CUNHA LIMA, S. T.; RODRIGUES, E. D.; ALVES, C.; MERRIGAN, T. L.; MELO, T.; GUEDES, M. L. S.; NASCIMENTO, A. F.; TORALLES, M. B. The use of medicinal plants by an indigenous Pataxó community in NE Brazil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.14, n.1, p.84-91, 2012.

CUNHA, F. A. B.; MATIAS, E. F. F.; BRITO, S. V.; FERREIRA, F. S.; BRAGA, J. M. A.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Phytochemical screening, antibacterial activity and interactions between *Costus cf. arabicus* L. with UV-A and aminoglycosides. **Natural Product Research**, v. 26, pp. 380-386, 2012.

DANTAS, I. C.; GUIMARÃES, F. R. Plantas medicinais comercializadas no Município de Campina Grande, PB. **Biofar**. v.1, n. 1, 2007.

DAVIES, J. Where have all the antibiotics gone? **The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology**. v. 17, n. 5, pp. 287, 2006.

DINIZ, P. B. F.; RIBEIRO, A. R. S.; ESTEVAM, C. S.; BANI, C. C.; THOMAZZI, S. M.; Possible mechanisms of action of *Caesalpinia pyramidalis* against ethanol-induced gastric damage. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 168, n. 20, p. 79-86, 2015.

DRUMMOND, M. A. (Coord.) **Avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade do bioma da Caatinga**. Petrolina, 23. 2000.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia. **Cienc. Cult.** v. 55, n.3, p. 35-36. 2003.

ELISABETSKY, E. SOUSA, G. C. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2004.

FARIAS, P. A. M.; FIGUEREDO, F. G.; LUCAS, A. M. B.; MOURA, R. B.; COUTINHO, H. D. M.; SILVA, T. M. S.; MARTIN, A. L. A. R.; FONTELES, M. M. F. Antibiotic-modifying activity of riachin, a non-cyanogenic cyanoglycoside extracted from *Bauhinia pentandra*. **Drug design, development and therapy**. v.9, pp. 3067-3072, 2015.

FERNANDES, C. N.; SOUSA, H. H. F.; BORGES, M. C. M.; SOUZA, C. E. S.; GUEDES, G. M. M.; FIGUEREDO, F. G.; TINTINO, S. R.; COSTA J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; FELIPE, C. F. B.; KERNTOPF, M. R. Evaluation of the modulatory and antibacterial activity of the ethanolic extract and fractions of *Duguetia furfuracea* A. St.-Hil. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 8, n. 1, pp. 16-20, 2014.

FERNANDES, F.H.A., SANTANA, C.P.; SANTOS, R.L.; CORREIA, L.P.; CONCEIÇÃO, M.M.; MACÊDO, R.O.; MEDEIROS, A.C.D.; Thermal characterization of dried extract of medicinal plant by DSC and analytical techniques. **Journal Thermal analysis and calorimetric**. v. 113, n.1, p. 443-447, 2013.

FIGUEIREDO, F. G.; FERREIRA, E. O.; LUCENA, B. F. F.; TORRES, C. M. G.; LUCETTI, D. L.; LUCETTI, E. C. P.; SILVA, J.M.F.L.; SANTOS, F.A.V.; MEDEIROS, C. R.; OLIVEIRA, G. M. M.; COLARES, A. V.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; MENEZES I.R.A.; SILVA, J. C. F.; KERNTOPF, M.R.; FIGUEIREDO, P. R. L.; MATIAS, E. F. F. Modulation of the Antibiotic Activity by Extracts from *Amburana cearensis* A. C. Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1-5, 2013.

FIGUEREDO, F. G.; LUCENA, B. F.; TINTINO, S. R.; MATIAS, E. F.; LEITE, N. F.; ANDRADE, J. C.; NOGUEIRA, L. F. B.; MORAIS, E. C.; COSTA, J. G.M.; COUTINHO, H. D. M.; RODRIGUES, F. F. Chemical composition and evaluation of modulatory of the antibiotic activity from extract and essential oil of *Myracrodruon urundeuva*. **Pharmaceutical biology**. v. 52, n. 5, pp. 560-565, 2014.
from the Semi-Arid Region of Northeastern Brazil. **Economic Botany**, v. 64, n.1, pp. 11-21, 2010.

GALLO, L.; LLABOT, J. M.; ALLEMANDI, D.; BUCALÁ, V.; PIÑA, J. Influence of spray-drying operating conditions on *Rhamnus purshiana* (Cáscara sagrada) extract powder physical properties. **Powder Technology**, v. 208, n. 1, p. 205-214, 2011.

GAZZANEO, L. R.S.; LUCENA, R. F. P.; ALBUQUERQUE, U. P. Knowledge and use of medicinal plants by local specialists in an region of Atlantic Forest in the state of Pernambuco (Northeastern Brazil). **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**. v.1, n.9, 2005.

GIBBONS, S. Antistaphylococcal plant natural products. **Natural Product Reports** v. 21; 2004, pp. 263–277.

GIBBONS, S. Plants as a source of bacterial resistance modulators and anti-infective agents. **Phytochemistry Reviews**, v. 4, n. 1, p. 63-78, 2005.

GIRON, D. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, n. 2, p. 335-357, 2002.

GIULLIETI, A. M.; CONCEIÇÃO, A.; QUEIROZ, L. P. **Diversidade e caracterização das fanerógamas do semi-árido brasileiro**. Recife: Associação Plantas do Nordeste, 2006. 488 p.

GOLD, H. S.; MOELLERING JR, R. C. Antimicrobial-drug resistance. **New England Journal of Medicine**. v. 335, n. 19, pp. 1445-1453, 1996.

GOMES, E. C. S.; BARBOSA, J.; VILAR, F. C. R.; PEREZ, J. O.; VILAR, R. C.; FREIRE, J. L. O.; LIMA, A. N.; DIAS, T. J. Plantas da Caatinga de uso terapêutico: levantamento etnobotânico. **Engenharia Ambiental**, v.5, n.2, pp. 74-85, 2008.

GUERRA, A. M. N. M.; CUNHA NETO, J. R.; MARQUES, J. V. A. D.; PESSOA, M. F.; MARACAJÁ, P. B. Plantas medicinais e hortaliças usadas para cura de doenças em residências da cidade de Mossoró – RN. **Revista Verde**, v.2, n.1, pp.70-77, 2007.

GUERRA, A. M. N. M.; PESSOA, M. F.; SOUZA, C. S. M.; MARACAJÁ, P. B. Utilização de plantas medicinais pela comunidade rural Moacir Lucena, Apodi-RN. **Biosci. J.** v. 26, n. 3, pp. 442-450, 2010.

GUERRA, F. Q. S.; MENDES, J. M.; SOUSA, J. P.; BRAGA, M. F. B. M.; SANTOS, B. H. C.; COUTINHO, H. D. M.; LIMA, E. O. Increasing of the Antibiotic Activity against a Multidrug Resistant *Acinetobacter* spp by essential oil of *Citrus limon* and *Cinnamomum zeylanicum*. **Natural Product Research**. v. 26, pp. 2235-2238, 2011.

GUSTAFSON, J. E.; LIEW, Y. C.; CHEW, S.; MARKHAM, J.; BELL, H. C.; WYLLIE, S. G.; WARMINGTON, J. R. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, n. 3, p. 194-198, 1998.

GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. **International journal of food microbiology**, v. 124, n. 1, pp. 91-97, 2008.

HAESEKER, M.; HAVENITH, T.; STOLK, L.; NEEF, C.; BRUGGEMAN, C.; VERBON, A. Is the standard dose of amoxicillin-clavulanic acid sufficient?. **BMC Pharmacology and Toxicology**, v. 15, n. 1, p. 38, 2014.

HOLMES, A. H.; MOORE, L. S.; SUNDSFJORD, A.; STEINBAKK, M.; REGMI, S.; KARKEY, A.; PIDDOCK, L. J. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The Lancet**, 2015.

HÜBSCH, Z.; VAN ZYLA, R. L.; COCK, I. E.; VAN VUUREN, S. F. Interactive antimicrobial and toxicity profiles of conventional antimicrobials with Southern African medicinal plants. **South African Journal of Botany**. v.93, pp.185–197, 2014a

HÜBSCH, Z.; VAN VUUREN, S. F.; VAN ZYL, R. L. Can rooibos (*Aspalathus linearis*) tea have an effect on conventional antimicrobial therapies? **South African Journal of Botany**. v. 93, pp. 148–156, 2014b.

IONASHIRO, M. Princípios básicos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial. **Araraquara: Giz**, 2004.

JACOBY, G. A. Mechanisms of resistance to quinolones. **Clinical Infectious Diseases**. v. 41, Supplement 2, S120-S126, 2005.

KEITH, C. T.; BORISY, A. A.; STOCKWELL, B. R. Multicomponent therapeutics for networked systems. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, n. 1, pp. 71-78, 2005.

KHAFAGI, Ishrak K.; DEWEDAR, Ahmed. The efficiency of random versus ethno-directed research in the evaluation of Sinai medicinal plants for bioactive compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, n. 3, p. 365-376, 2000.

KIM, K. S.; YANG, H. J.; CHOI, E. K.; PARK, Y. J.; CHO, D. H.; AHN, K. S., JANG, H. J. The multi-target antibiotic efficacy of *Angelica dahurica* Bentham et Hooker extract exposed to the *Escherichia coli* O157: H7. **BioChip Journal**, v. 5, n. 4, pp. 333-342, 2011.

KOKOSKA, L.; POLESNY, Z.; RADA, V.; NEPOVIM, A.; VANEK, T. Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. **Journal of ethnopharmacology**, v. 82, n. 1, p. 51-53, 2002.

KOLÁŘ, M.; URBÁNEK, K.; & LÁTAL, T. Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance. **International journal of antimicrobial agents**, v. 17, n. 5, pp. 357-363, 2001.

LA STORIA, A.; ERCOLINI, D.; MARINELLO, F.; DI PASQUA, R.; VILLANI, F.; MAURIELLO, G. Atomic force microscopy analysis shows surface structure changes in carvacrol-treated bacterial cells. **Research in microbiology**, v. 162, n. 2, p. 164-172, 2011.

LAMBERT, P. A. Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 57, n. 10, pp. 1471-1485, 2005.

LAVOR, A. K. L. S. MATIAS, E. F. F.; ALVES, E. F.; SANTOS, B. S.; FIGUEREDO, F. G.; LIMA, L. F.; LEITE, N. F.; SOBRAL-SOUZA, C. E.; ANDRADE, J. C.; ALENCAR, L. B. B.; BRITO, D. I. V.; ALBUQUERQUE, R. S.; COUTINHO H. D. M. Association between drugs and herbal products: In vitro enhancement of the antibiotic activity by fractions from leaves of *Croton campestris* A. (Euphorbiaceae). **European Journal of Integrative Medicine**. v.6, pp. 301–306, 2014.

LAXMINARAYAN, R.; DUSE, A.; WATTAL, C.; ZAIDI, A. K.; WERTHEIM, H. F.; SUMPRADIT, N.; CARS, O. Antibiotic resistance—the need for global solutions. **The Lancet infectious diseases**, v. 13, n. 12, p. 1057-1098, 2013

LEANDRO, L. M. G.; AQUINO, P. E. A.; MACEDO, R. O.; RODRIGUES, F. F. G.; GUEDES, T. T. A. M.; FRUTUOSO, A. D.; COUTINHO, H. D. M.; BRAGA, J. M. A.; RIBEIRO, T. R. G.; MATIAS, E. F. F.. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória de extratos metanólico e hexânico da casca de *Sideroxylon obtusifolium*. **Revista e-Ciência**, v. 1, p. 1-12, 2013.

LEITE, A. P.; PEDROSA, K. M.; LUCENA, C. M.; CARVALHO, T. K. N.; FÉLIX, L. P.; LUCENA, R. F. P. Uso e conhecimento de espécies vegetais úteis em uma comunidade rural no vale do Piancó (Paraíba, Nordeste, Brasil). **Biofar**, Volume especial, pp. 133-157, 2012.

LIETAVA, J. Medicinal plants in a Middle Paleolithic grave Shanidar IV?. **Journal of ethnopharmacology**, v. 35, n. 3, p. 263-266, 1992.

LIMA, J. L. S. Plantas forrageiras das caatingas: usos e potencialidades. **Plantas forrageiras das caatingas: usos e potencialidades**, Embrapa. Petrolina- PE, 1996.

LIMA, M. R. F.; LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; ANDRADE, M. C. C.; SANTANA, A. E. G.; GENET, J. P.; MARQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v.105, n. 1-2, pp. 137–147, 2006.

LIN, Y. F.; YANG, C. H.; SINDY, H.; LIN, J. Y.; HUI, C. Y. R.; TSAI, Y. C.; CHIU, C. H. Severe cutaneous adverse reactions related to systemic antibiotics. **Clinical Infectious Diseases**, p. ciu126, 2014.

LINS NETO, E. M. F.; PERONI, N.; ALBUQUERQUE, U. P. Traditional Knowledge and Management of Umbu (*Spondias tuberosa*, Anacardiaceae): An Endemic Species

LIRA, A. M.; ARAÚJO, A. A. S.; BASÍLIO, I. D. J.; SANTOS, B. L. L.; SANTANA, D. P.; MACEDO, R. O. Compatibility studies of lapachol with pharmaceutical excipients for the development of topical formulations. **Thermochimica acta**, v. 457, n. 1, p. 1-6, 2007.

LOPES, I. S.; SILVA, J. E. R.; COELHO, I. A. M.; SILVA, E. M. R.; MARINHO, M. G. V.; RANGEL, J. A. F. Levantamento de plantas medicinais utilizadas na cidade de Itapetim, Pernambuco, Brasil. **Biofar**. v.7, n. 1, pp. 115-121, 2012.

LUCENA, B. F. F.; TINTINO, S. R.; FIGUEREDO, F. G.; OLIVEIRA, C. M.; AGUIAR, J. J. S.; CARDOSO, E. N.; AQUINO, P. E. A.; ANDRADE, J. C.; COUTINHO, H. D. M.; MATIAS, E. F. F. Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora de aminoglicosídeos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Acta biológica Colombiana**. v.20, n. 1, pp. 39-45, 2015.

LUCENA, C. M.; COSTA, G. G. S.; CARVALHO, T. K. N.; GUERRA, N. M.; QUIRINO, Z. G. M.; LUCENA, R. F. P. Uso e conhecimento de cactáceas no

município de São Mamede (Paraíba, Nordeste do Brasil). **Biofar**, Volume especial, pp. 121-134, 2012.

LUCENA, C. M.; COSTA, G. M.; SOUSA, R. F.; CARVALHO, T. K. N.; MARREIROS, N. A.; ALVES, C. A. B.; PEREIRA, D. D.; LUCENA, R. F. P. Conhecimento local sobre cactáceas em comunidades rurais na mesorregião do sertão da Paraíba (Nordeste, Brasil). **Biotemas**, v. 25, n. 3, pp. 281-291, 2012.

LUCENA, R. F. P.; MEDEIROS, P. M.; ARAÚJO, E. L.; ALVES, A. G. S.; ALBUQUERQUE, U. P. The ecological apparency hypothesis and the importance of useful plants in rural communities from Northeastern Brazil: An assessment based on use value. **Journal of Environmental Management**. v. 96, n. 1, 106-15, 2012.

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. **Journal of ethnopharmacology**, v. 148, n. 1, p. 45-55, 2013.

MACGOWAN, A.; MACNAUGHTON, E. Antibiotic resistance. **Medicine**, v. 41, n. 11, p. 642-648, 2013.

MARINHO, M. G. V.; SILVA, C. C.; ANDRADE, L. H. C. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de caatinga no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.2, pp.170-182, 2011.

MARTINEZ, M.; SILLEY, P. Antimicrobial drug resistance. In **Comparative and Veterinary Pharmacology**. (pp. 227-264). Springer Berlin Heidelberg, 2010

MATIAS, E. F. F.; ALVES, E. F.; SANTOS, B. S.; SOUZA, C. E. S.; FERREIRA, J. V.; LAVOR, A. K.; FIGUEIREDO, F. G.; SANTOS, F.A.V.; LIMA, L. F.; PEIXOTO, F. S. N.; COLARES, A. V.; BOLIGON, A. A.; COUTINHO, H.D.M.; SARAIVA, R. A.; ATHAYDE, M. L.; ROCHA, J. B. T.; MENEZES I.R.A.; COSTA, J. G. M. Biological Activities and Chemical Characterization of *Cordia verbenacea* DC. as Tool to Validate the Ethnobiological Usage. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 2013, p. 1-7, 2013.

MATIAS, E. F. F.; SANTOS, F. A.; SILVA, J. M. F.; SOUZA, C. E.; TINTINO, S. R.; GUEDES, G. M.; MEDEIROS, C. R.; BRAGA, M. F. B. M.; ALMEIDA, T. S.; COSTA, J. G. M.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M. Screening the *in vitro* modulation of antibiotic activity of the extracts and fractions of *Ocimum gratissimum* L. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 9, pp. 1902-1907, 2012.

MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; ALMEIDA, T. S.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M. Phytochemical screening and modulation of antibiotic activity by *Ocimum gratissimum* L.. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 1, p. 57-60, 2011.

MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Enhancement of antibiotic activity by *Cordia verbenaceae* DC. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 29, p. 1049-1052, 2010.

MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA - JÚNIOR, J. P.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Modulation of the norfloxacin resistance in *Staphylococcus aureus* by *Cordia verbenacea* DC. **Indian Journal of Medical Research**. v.137, n. 1, pp. 178–182, 2013.

MATIAS, E.F.F.; SANTOS, K.K.A.; ALMEIDA, T.S.; COSTA, J.G.M.; COUTINHO, H.D.M. Phytochemical Prospection and Modulation of Aminoglycoside Antibiotic Activity by *Croton campestris* A. **Chemotherapy**. v. 57, p. 305-309, 2011.

MCCLATCHEY, W. Improving quality of international ethnobotany research and publications. **Ethnobotany Research and Applications**, v. 4, p. 1-10, 2006.

MEDEIROS, A. C. D.; MEDEIROS, I. A.; MACÊDO, R. O. Thermal studies of *Albizia inopinata* crude extract in the presence of cyclodextrin and Aerosil® by TG and DSC coupled to the photovisual system. **Thermochemica acta**, v. 392, p. 93-98, 2002.

MELO, J. G.; ARAÚJO, T. A. S.; CASTRO, V. T. N. A.; CABRAL, D. L. V.; RODRIGUES, M. D.; NASCIMENTO, S. C.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Antiproliferative Activity, Antioxidant Capacity and Tannin Content in Plants of Semi-Arid Northeastern Brazil. **Molecules**. v. 15, n. 12, p. 8534-8542, 2010.

MENDES, C. C.; BAHIA, M. V.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Constituents of *Caesalpinia pyramidalis*. **Fitoterapia**. v. 71, n. 2, p. 205-207, 2000.

MENEZES, I. R.; SANTANA, T. I.; VARELA, V. J.; SARAIVA, R. A.; MATIAS, E. F.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; ROCHA, J. B. Chemical composition and evaluation of acute toxicological, antimicrobial and modulatory resistance of the extract of *Murraya paniculata*. **Pharmaceutical biology**. v.53, n. 2, pp. 185-191, 2014.

MORAES, J. P.; PEREIRA, D. S.; MATOS, A. S.; SANTANA, D. G.; SANTOS, C. A.; ESTEVAM, C. S.; FAKHOURI, R.; LUCCA JR, W. CAMARGO, E. A. The Ethanol Extract of the Inner Bark of *Caesalpinia pyramidalis* (Tul.) Reduces Urinary Bladder Damage during Cyclophosphamide-Induced Cystitis in Rats. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.

MORE, G.; TSHIKALANGE, T. E.; LALL, N.; BOTHA, F.; MEYER, J. J. M. Antimicrobial activity of medicinal plants against oral microorganisms. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 3, p. 473-477, 2008.

MOREIRA, R. C. T.; COSTA, L. C. B.; COSTA, R. C. S.; ROCHA, E. A. Abordagem Etnobotânica acerca do Uso de Plantas Medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farm. Bonaerense** v.21, n.3, pp.205-211, 2002.

MOTHANA, R. A.; LINDEQUIST, U. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. **Journal of ethnopharmacology**, v. 96, n. 1, p. 177-181, 2005.

MOURA, M. S. B.; GALVINCIO, J. D.; BRITO, L. D. L.; SOUZA, L. D.; SÁ, I. I. S.; SILVA, T. D. **Clima e água de chuva no semiárido. Água de Chuva no Semi-Árido brasileiro/org.** Luiza Teixeira de Lima Brito/Magna Soelma B. de Moura–Petrolina, PE: Embrapa Semiárido, 2007.

MOURA-COSTA, G. F.; NOCCHI, S. R.; CEOLE, L. F.; MELLO, J. C. P.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P.; UEDA-NAKAMURA, T. Antimicrobial activity of plants used as medicinals on an indigenous reserve in Rio das Cobras, Paraná, Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 631-638, 2012.

NASCIMENTO, J. M.; CONCEIÇÃO, G. M. Plantas medicinais e indicações terapêuticas da comunidade Quilombola Olho D'água do Raposo, Caxias, Maranhão, Brasil. **Biofar**. v.6, n. 2, pp. 138-151, 2012.

NATHWANI, D.; RAMAN, G.; SULHAM, K.; GAVAGHAN, M.; MENON, V. Clinical and economic consequences of hospital-acquired resistant and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections: a systematic review and meta-analysis. **Antimicrob Resist Infect Control**, v. 3, n. 1, p. 32, 2014.

NCUBE, B.; FINNIE, J. F.; VAN STADEN, J. *In vitro* antimicrobial synergism within plant extract combinations from three South African medicinal bulbs. **Journal of ethnopharmacology**, v.139, n. 1, pp. 81-89, 2012.

NETO, C. C.; OWENS, C. W.; LANGFIELD, R. D.; COMEAU, A. B.; ONGE, J. S.; VAISBERG, A. J.; Hammond, G. B. Antibacterial activity of some Peruvian medicinal plants from the Callejon de Huaylas. **Journal of ethnopharmacology**, v. 79, n. 1, p. 133-138, 2002.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. **Journal of natural products**, v. 70, n. 3, p. 461-477, 2007.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of natural products**, v. 75, n. 3, p. 311-335, 2012.

NICOLOFF, H.; ANDERSSON, D. I. Indirect resistance to several classes of antibiotics in cocultures with resistant bacteria expressing antibiotic-modifying or-degrading enzymes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. dkv312, 2015.

NOVAIS, T. S.; COSTA, J. F. O.; DAVID, J. P. L.; DAVID, J. M.; QUEIROZ, L. P.; FRANÇA, F.; GIULIETTI, A. M.; SOARES, M. B. P.; SANTOS, R. R. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semiárido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 13, n. supl.2, p. 4-7, 2003.

NUNES, G. D. L. **Investigação das atividades biológicas do extrato aquoso de *Poincianella pyramidalis* no controle da hemonose caprina.** Dissertação. Universidade Federal da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos. 2012.

NUNES, R. S.; SEMAAN, F. S.; RIGA, A. T.; CAVALHEIRO, E. T. Thermal behavior of verapamil hydrochloride and its association with excipients. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 97, n. 1, p. 349-353, 2009.

OCHENG, F. BWANGA, F.; JOLOBA, M.; BORG-KARLSON, A. K.; GUSTAFSSON, A.; OBUA, C. Antibacterial activities of extracts from Ugandan medicinal plants used for oral care. **Journal of ethnopharmacology**, v. 155, n. 1, p. 852-855, 2014.

OLIVEIRA, A. D. L.; RODRIGUE, F. F. G.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; MENEZES, I. R. A. Chemical Composition, Modulatory Bacterial Resistance and Antimicrobial Activity of Essential Oil the *Hyptis martiusii* Benth by Direct and Gaseous Contact. **Jundishapur J Nat Pharm Prod**. v. 9, n. 3, 2014.

OLIVEIRA, D. R.; BRITO JUNIOR, F. E.; BENTO, E. B.; MATIAS, E. F. F.; SOUSA, A. C. A.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A. Antibacterial and modulatory effect of *Stryphnodendron rotundifolium*. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, p. 1265-1270, 2011.

OLIVEIRA, J. C. S. **Estudo químico e avaliação biológica do extrato das cascas das raízes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Leguminosae)**. Dissertação. Universidade Federal da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Química. 2010.

OLIVEIRA, F. C. S.; BARROS, R. F. M.; MOITA NETO, J.M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.3, p.282-301, 2010a.

OLIVEIRA, G. L.; OLIVEIRA, A. F. M.; ANDRADE, L. H. C. Plantas medicinais utilizadas na comunidade urbana de Muribeca, Nordeste do Brasil. **Acta bot. bras.** v.24, n.2, pp. 571-577, 2010b.

OLIVEIRA, M.A.; YOSHIDA, M.I.; GOMES, E.C.L.; Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**. v. 24, n. 07, p 1224-1230, 2011.

OZAWA, T. Thermal analysis — review and prospect. **Thermochimica Acta**, v. 355, n. 1, p. 35-42, 2000.

PALADINO, J. A.; SUNDERLIN, J. L.; PRICE, C. S.; SCHENTAG, J. J. Economic consequences of antimicrobial resistance. **Surgical infections**. v. 3, n. 3, pp. 259-267, 2002.

PAULINO, R. C.; HENRIQUES, G. P. S. A.; MOURA, O. N. S.; COELHO, M. F. B.; AZEVEDO, R. A. B. Medicinal plants at the Sítio do Gois, Apodi, Rio Grande do Norte State, Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v.22, n.1, pp. 29-39, 2012.

PEDROSA, K. M.; GOMES, D. S.; LUCENA, C. M.; PEREIRA, D. D.; SILVINO, G. S.; LUCENA, R. F. P. Uso e disponibilidade local de *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T.D. Penn. (Quixabeira) em três regiões da depressão sertaneja da Paraíba, Nordeste do Brasil. **Biofar**, Volume especial, pp. 158-183, 2012.

PEREIRA, C. O.; LIMA, E. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; TOLEDO, M. S.; AZEVEDO, A. K. A.; GUERRA, M. F.; PEREIRA, R. C. Abordagem etnobotânica de plantas medicinais utilizadas em dermatologia na cidade de João Pessoa-Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.**, v.7, n.3, p.9-17, 2005.

PEREIRA JÚNIOR, L. R. P.; ANDRADE, A. P.; ARAÚJO, K. D.; SILVA BARBOSA, A.; BARBOSA, F. M. Espécies da Caatinga como Alternativa para o Desenvolvimento de Novos Fitofármacos. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 4, p. 509-520, 2014.

PICHERSKY, E.; GANG, D. R. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. **Trends in plant science**, v. 5, n. 10, p. 439-445, 2000.

PLAPER, A.; GOLOB, M.; HAFNER, I.; OBLAK, M.; ŠOLMAJER, T.; JERALA, R. Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 306, n. 2, p. 530-536, 2003.

PURUSHOTHAM, K. G.; ARUN, P.; JAYARANI, J. J.; VASANTHAKUMARI, R.; SANKAR, L.; REDDY, B. R. Synergistic in vitro antibacterial activity of *Tectona grandis* leaves with tetracycline. **International Journal of PharmTech Research**. v. 2, pp. 519-523, 2010.

QUEIROZ, L. P. New combinations in *Libidibia* (DC.) Schldt. and *Poincianella* Britton & Rose (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Neodiversity**. v. 5, p. :11-12, 2010.

RADULOVIC, N. S.; BLAGOJEVIC, P. D.; STOJANOVIC-RADIC, Z. Z.; STOJANOVIC, N. M. Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. **Current medicinal chemistry**, v. 20, n. 7, p. 932-952, 2013.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Rang & Dale: farmacologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

READ, P.; FERNANDES, T. Management of environmental impacts of marine aquaculture in Europe. **Aquaculture**. v. 226, n. 1-4, pp. 139-63, 2003.

RIBEIRO, A. R. S.; DINIZ, P. B.; ESTEVAM, C. S.; PINHEIRO, M. S.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L.; THOMAZZI, S. M. Gastroprotective activity of the ethanol extract from the inner bark of *Caesalpinia pyramidalis* in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 147, n. 2, p. 383-388, 2013.

RODRIGUES, A. C. C.; GUEDES, M. L. S. Utilização de plantas medicinais no Povoado Sapucaia, Cruz das Almas – Bahia. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.8, n.2, p.1-7, 2006.

ROJAS, R. BUSTAMANTE, B.; BAUER, J.; FERNÁNDEZ, I.; ALBÁN, J.; LOCK, O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. **Journal of ethnopharmacology**, v. 88, n. 2, p. 199-204, 2003.

RYBAK, M. J.; MCGRATH, B. J. Combination antimicrobial therapy for bacterial infections. Guidelines for the clinician. **Drugs**. v. 52, pp. 390-405, 1996.

SALYERS, A. A.; SHOEMAKER, N.; SCHLESINGER, D. Ecology of Antibiotic Resistance Genes. In: WAX, R. G.; LEWIS, K.; SALYERS, A. A.; TABER, H. **Bacterial resistance to antimicrobials**. 2. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2008.

SAMPAIO, E. V. S. B. Características e potencialidades. In: GARIGLIO, M. A.; SAMPAIO, E.V.S.B.; CESTARO, L. A.; KAGEYAMA, P. Y. **Uso Sustentável e Conservação dos Recursos Florestais da Caatinga**. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, 2010.

SANTANA, D. G.; SANTOS, C. A.; SANTOS, A. D. S.; NOGUEIRA, P. C. L.; THOMAZZI, S. M.; ESTEVAM, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; CAMARGO, E. A. Beneficial effects of the ethanol extract of *Caesalpinia pyramidalis* on the inflammatory response and abdominal hyperalgesia in rats with acute pancreatitis. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 142, n. 2, p. 445–455, 2012.

SANTOS, A. C.; AILANE, M. P. R.; PASSOS, F. C. A.; CAMARGO, E. A.; ESTEVAM, C. S.; SANTOS, M. R. V.; THOMAZZI, S. M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Caesalpinia pyramidalis* in rodents. **Braz. J. Pharmacogn.** v. 21, n. 6, pp. 1077-1083, 2011.

SANTOS, A. C.; SANTOS, D. S.; SANTANA, D. G.; THOMAZZI, S. M. Evaluation of mechanisms involved in the antinociception of the ethanol extract from the inner bark of *Caesalpinia pyramidalis* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 148, n. 1, pp. 205–209, 2013a.

SANTOS, E. B.; DANTAS, G. S.; SANTOS, H. B.; DINIZ, M. F. F. M.; SAMPAIO, F. C. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.19, pp.321-324, 2009.

SANTOS, K. K. A.; MATIAS, E. F. F.; TINTINO, S. R.; GUEDES, G. M. M.; SOUZA, C. E. S.; BRAGA, M. F. B. M.; COSTA, J.G.M. ; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H.D.M. Enhancement of the Antifungal Activity of Antimicrobial Drugs by *Eugenia uniflora* L.. **Journal of Medicinal Food**, v. 16, pp. 669-671, 2013b.

SANTOS, M. L. O.; SIQUEIRA, W. N.; SÁ, L. J. F.; SILVA, L. R. S.; CABRAL, D. L. V.; AMÂNCIO, F. F.; MELO, A. M. M. A. Estudo do efeito radioprotetor do extrato metanólico de *Caesalpinia pyramidalis* sobre células embrionárias de *Biomphalaria glabatra*. **Scientia Plena**. v. 9, n. 9, p. 1-7, 2013b.

SANTOS, N. K. A.; COUTINHO, H. D. M.; RODRIGUES, F. F. G.; VIANA, G. S. B.; COSTA, J. G. M. Chemical characterization and synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Vanillosmopsis arborea*. **Medicinal Chemistry Research**, v. 20, p. 637-641, 2011.

SANTOS, N. K. A.; RODRIGUES, F. F. G.; COUTINHO, H. D. M.; VIANA, G. S. B.; COSTA, J. G. M. Isolation of alpha-Bisabolol from the Essential Oil of *Vanillosmopsis arborea* Baker and Modulation of Antibiotic Activity Using Gaseous Contact. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 16, p. 826-831, 2013a.

SARAIVA, A. M.; SARAIVA, C. L.; GONÇALVES, A. M.; SOARES, R. R.; MENDES, F. O.; CORDEIRO, R. P.; XAVIER, H. S.; PISCIOTTANO, M. N. C. Antimicrobial activity and bioautographic study of antistaphylococcal components from *Caesalpinia pyramidalis* Tull. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 48, n. 1, pp.147-154, 2012a.

SARAIVA, A. M.; SARAIVA, M. G.; GONÇALVES, A. M.; SENA FILHO, J. G.; XAVIER, H. S.; PISCIOTTANO, M. N. C. Avaliação da atividade antimicrobiana e perfil fitoquímico de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabaceae). **Biofar**. v. 7, n. 2, p. 52-60, 2012b.

SARAIVA, A. M.; SARAIVA, C. L.; CORDEIRO, R. P.; SOARES, R. R.; XAVIER, H. S.; CAETANO, N. Atividade antimicrobiana e sinérgica das frações das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engl. frente a clones multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.15, n.2, p.199-207, 2013.

SEFTON, A. M. Mechanisms of antimicrobial resistance. **Drugs**. v. 62, n. 4, pp. 557-566, 2002.

SELMAR, D. Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants. **Landbauforschung Volkenrode**, v. 58, n. 1/2, p. 139, 2008.

SELMAR, D.; KLEINWÄCHTER, M. Stress enhances the synthesis of secondary plant products: the impact of the stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. **Plant and cell physiology**, p. pct054, 2013.

SILVA, A. C. O.; ALBUQUERQUE, U. P. Woody medicinal plants of the Caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). **Acta Botanica Brasilica**. v.19, n. 1, pp. 17-26, 2005.

SILVA JÚNIOR, J.O.C.; VIEIRA, J.L.F.; BARBOSA, W.L.R.; PEREIRA, N.L.; Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, n. supl., p. 671-677, 2006.

SILVA, C.; MARINHO, M.; LUCENA, M.; COSTA, J. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 133-142, 2015.

SILVA, C. H. T. B.; PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; CASTRO, V. T. N. A.; LIMA, D. C. A.; AMORIM, E. L. C. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of *Caesalpinia pyramidalis* Tul. and *Sapium glandulosum* (L.) Morong from Northeastern Brazil. **Molecules**. v. 16, n. 6, p. 4728-4739, 2011a.

SILVA, F. S.; RAMOS, M. A.; HANAZAKI, N.; ALBUQUERQUE, U. P. Dynamics of traditional knowledge of medicinal plants in a rural community in the Brazilian semi-arid region. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.21, n. 3, pp. 382-391, 2011.

SILVA, K. M. A.; CHAVES, T. P.; SANTOS, R. L.; BRANDÃO, D. O.; FERNANDES, F. H. A.; RAMOS JÚNIOR, F. J. L.; SANTOS, V. L.; FELISMINO D. C.; MEDEIROS, A. C. D. Modulation of the erythromycin resistance in *Staphylococcus aureus* by ethanolic extracts of *Ximenia americana* L and *Schinopsis brasiliensis* Engl. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**. v. 14, n.2, pp. 92 – 98, 2015.

SILVA, L. M. M.; MATOS, V. P. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul. - Caesalpinaceae) e de juazeiro (*Zizyphus joazeiro* Mart. - Rhamnaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 2, p. 25-31, 1998.

SILVA, T. S.; FREIRE, E. M. X. Abordagem etnobotânica sobre plantas medicinais citadas por populações do entorno de uma unidade de conservação da caatinga do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.12, n.4, p.427-435, 2010.

SMITH, R.; COAST, J. The true cost of antimicrobial resistance. **Bmj**, v. 346, pp. 1-5, 2013.

SOLLOHUB, K.; CAL, K.. Spray drying technique: II. Current applications in pharmaceutical technology. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 99, n. 2, p. 587-597, 2010.

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico e produção de Fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Editora da UFRGS/Ed. da UFSC, 2004.

SOUSA, E. O.; RODRIGUES, F. F. G.; COUTINHO, H. D. M.; CAMPOS, A. R.; LIMA, S. G.; COSTA, J. G. M. Chemical composition and aminoglycosides synergistic effect of *Lantana montevidensis* Briq. (Verbenaceae) essential oil. **Records natural of products**, v. 5, p. 60-64, 2011.

SOUSA, I. J. M.; MATIAS, E. F. F.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H.D.M. Modulation of the antibiotic activity by the essential oils of *Origanum vulgare* and *Coriandrum sativum*. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 52, p. 191-194, 2013.

SOUZA, C. E. S.; LEITE, N. F.; BRITO, D. I. V.; ALENCAR, L. B. B.; LAVOR, A. K. L. S.; MATIAS E. F. F.; ALBUQUERQUE, R. S.; FERREIRA, J. V. A.; CUNHA, F. A. B.; TINTINO, S. R.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Avaliação da atividade antimicrobiana e moduladora do extrato hexânico de *Costus cf. arabicus* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. v. 19, n. 2, pp. 151-159, 2014.

SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Powder properties and system behavior during spray drying of *Bauhinia forficata* link extract. **Drying technology**, v. 24, n. 6, p. 735-749, 2006.

SOUZA, H. H.; FERNANDES, C. N.; BRAGA, M. F. B. M.; TINTINO, S. R.; ARAUJO, A. C.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES I.R.A. ; KERNTOPF, M.R. Phytochemical composition, antibacterial and modulatory of antibiotic activity of the extract and fractions from *Annona squamosa* L. **Ethnobiology and Conservation**, v. 2, p. 1-8, 2013.

SOUZA, K. C. B.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L.; ORTEGA, G. G. The adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P influence on the technological characteristics of spray-dried powders from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 331-336, 2000.

SOUZA, M. Z. S.; ANDRADE, L. R. S.; FERNANDES, M. S. M. Levantamento sobre plantas medicinais comercializadas na feira livre da cidade de Esperança – PB. **Biofar**. v.5, n. 1, pp. 111-118, 2011.

SOUZA, T. M.; BRAGA, M. F. B. M. COSTA, J. G. M.; LIMA, M. A.; COUTINHO, H. D. M. Herbs in association with drugs: Enhancement of the aminoglycoside antibiotic activity by *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link. **Journal of Young Pharmacists**. v. 5, pp. 188-190, 2013.

SOUZA, T. M.; BRAGA, M. F. B. M.; COSTA, J. G. M.; SARAIVA, A. A. F.; COUTINHO, H. D. M. . Enhancement of antimicrobial activity of antibiotics and antifungals by the use of natural products from *Pityrogramma calomelanos* (L.) link. **Archives of Biological Science**, v. 64, p. 43-46, 2012.

SOUZA, T. M.; BRAGA, M. F. B. M.; COSTA, J.G.M. ; SARAIVA, A. A. F.; COUTINHO, H.D.M. Additive effects of *Pityrogramma calomelanos* L. (link.) combined with aminoglycosides against *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Phytomedicine**, v. 4, p. 564-566, 2012.

SRINIVASAN, D. NATHAN, S.; SURESH, T.; PERUMALSAMY, P. L. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, n. 3, p. 217-220, 2001.

TAMMA, P. D.; COSGROVE, S. E.; MARAGAKIS, L. L. Combination therapy for treatment of infections with gram-negative bacteria. **Clinical microbiology reviews**, v. 25, n. 3, p. 450-470, 2012.

TANG, S. S.; APISARNTHANARAK, A.; HSU, Li Y.. Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community-and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. **Advanced drug delivery reviews**, v. 78, p. 3-13, 2014.

TAYLOR, P. W.; STAPLETON, P. D.; LUZIO, J. P. New ways to treat bacterial infections. **Drug Discovery Today**. v.7, n. 21, pp. 1086-1091, 2002.

TAYLOR, P. W. Alternative natural sources for a new generation of antibacterial agents. **International journal of antimicrobial agents**, v. 42, n. 3, p. 195-201, 2013.

TEIXEIRA, S. A.; MELO, J. I. M. Plantas medicinais utilizadas no município de Jupi, Pernambuco, Brasil. **Iheringia, Sér. Bot.** v. 61, n. 1-2, p. 5-11, 2006.

TEKWU, E. M.; PIEME, A. C.; BENG, V. P. Investigations of antimicrobial activity of some Cameroonian medicinal plant extracts against bacteria and yeast with gastrointestinal relevance. **Journal of ethnopharmacology**, v. 142, n. 1, p. 265-273, 2012.

TINTINO, S. R.; GUEDES, G. M. M.; CUNHA, F. A. B.; SANTOS, K. K. A.; MATIAS, E. F. F.; BRAGA, M. F. B. M.; ANDRADE, J. C.; SOUZA, C. E. S.; FREITAS, M. A.; ALENCAR, L. B.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H.D.M. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana e moduladora dos extratos etanólico e hexânico de bulbo de *Costus arabicus*. **Bioscience Journal**. v. 29, pp. 732-738, 2013.

TINTINO, S. R.; SOUZA, C. E.; GUEDES, G. M.; COSTA, J. I.; DUARTE, F. M.; CHAVES, M. C. O.; SILVA, V. A.; PESSOA, H. F.; LIMA, M. A.; GARCIA, C. A.; COUTINHO, H. D. M. Modulatory antimicrobial activity of *Piper arboreum* extracts. **Acta Botanica Croatica**. v.73, n. 1, pp. 303-311, 2014.

TROVÃO, D. M. B. M.; FERNANDES, P. D.; DE ANDRADE, L. A.; DANTAS NETO, J. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 3, p. 307-311, 2007.

TOROGLU S. In-vitro antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. **Journal of Environmental Biology**. v. 32, pp. 23-29, 2011.

ULTEE, A.; KETS, E. P. W.; SMID, E. J. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and environmental microbiology**, v. 65, n. 10, p. 4606-4610, 1999.

VAN ACKER, H.; VAN DIJCK, P.; COENYE, T.. Molecular mechanisms of antimicrobial tolerance and resistance in bacterial and fungal biofilms. **Trends in microbiology**, v. 22, n. 6, p. 326-333, 2014.

VASCONCELOS, E. A. F.; MEDEIROS, M. G. F.; RAFFIN, F. N.; MOURA, T. F. A. Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil® 200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 243-249, 2005.

VERAS, H. N.; CAMPOS, A. R.; RODRIGUES, F. F. G.; BOTELHO, M. A.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M. Enhancement of the antibiotic activity of erythromycin by volatile compounds of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown against *Staphylococcus aureus*. **Pharmacognosy Magazine**, v. 7, p. 334-337, 2011a.

VERAS, H. N.; CAMPOS, A. R.; RODRIGUES, F. F. G.; BOTELHO, M. A.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M. *Lippia alba* (Mill.) NE essential oil interferes

with aminoglycosides effect Against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 14, p. 574-581, 2011.

VRANAKIS, I. et al. Proteome studies of bacterial antibiotic resistance mechanisms. **Journal of proteomics**, v. 97, p. 88-99, 2014.

WAGNER, H.; ULRICH-MERZENICH, G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. **Phytomedicine**, v. 16, n. 2, p. 97-110, 2009.

WEBBER, M. A.; PIDDOCK, L. J. V. The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 51, n. 1, pp. 9-11, 2003.

WESOŁOWSKI, M.; KONIECZYŃSKI, P.; ULEWICZ-MAGULSKA, B. Thermal decomposition of medicinal plant raw materials based on principal component analysis. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 66, n. 2, p. 593-601, 2001.

WILIAMS, J. D. β -Lactamases and β -lactamase inhibitors. **International Journal of Antimicrobial Agents** v. 12, Suppl. 1, pp .S3–S7, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action**. WHO, 2012.

YABESH, J. E. M.; PRABHU, S.; VIJAYAKUMAR, S. An ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in silent valley of Kerala, India. **Journal of ethnopharmacology**, v. 154, n. 3, p. 774-789, 2014.

CAPÍTULO 2:
Traditional use, phytochemistry and
biological activities of *Poincianella*
***pyramidalys* (Tul.) LP Queiroz**

**Traditional use, phytochemistry and biological activities of *Poincianella
pyramidalys* (Tul.) LP Queiroz**

Thiago Pereira Chaves, Joanda Paolla Raimundo e Silva, Francinalva Dantas de
Medeiros, José Hamilton da Costa Filho, Lailane Carla Batista Alencar, Cleildo Pereira
Santana, Delcio de Castro Felismino, Karlete Vania Mendes Vieira, Ana Cláudia
Dantas de Medeiros

Artigo publicado no periódico “African Journal of Biotechnology”

Review

Traditional use, phytochemistry and biological activities of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) LP Queiroz

Thiago Pereira Chaves^{1,2}, Joanda Paolla Raimundo e Silva³, Francinalva Dantas de Medeiros², José Hamilton da Costa Filho¹, Lianne Carla Batista Alencar², Cleildo Pereira Santana², Delcio de Castro Felismino⁴, Karlete Vania Mendes Vieira³ and Ana Cláudia Dantas Medeiros^{2*}

¹Universidade Federal do Piauí, Departamento de Ciências da Natureza, BR 135, km 03, Planalto Horizonte, Bom Jesus - PI, Brazil.

²Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) – Universidade Estadual da Paraíba, Rua das Baraúnas, 351 - Bairro Universitário Campina Grande, Paraíba, Brazil.

³Laboratório de Microbiologia, Departamento de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba, R. Baraúnas, 351 - Bairro Universitário Campina Grande, Paraíba, Brazil.

⁴Departamento de Biologia, Universidade Estadual da Paraíba, R. Baraúnas, 351 - Bairro Universitário Campina Grande, Paraíba, Brazil.

Received 12 June, 2015; Accepted 15 October, 2015

The vegetation of Northeastern Brazil is an important source of income for the local population. *Poincianella pyramidalis* is a very important species in the semiarid and is inserted in various categories of ethnobotanical use, as foraging, construction and technology uses. However, the most important use is medicinal. Several preparations obtained from the root, bark, leaves and flowers of *P. pyramidalis* are used to treat various ailments, especially infections, pain and inflammation. This paper discusses the medical use, chemical constituents and pharmacological potential of *P. pyramidalis*. This revision was based on studies published in scientific journals, books, and search sites such as Science Direct, PubMed and American Chemical Society (ACS). *P. pyramidalis* features a wealth of secondary metabolites, belonging to the most diverse classes as flavonoids, terpenoids, tannins and others. Of these, 22 compounds were included in this review. The species showed significant ability to perform biological activities such as antimicrobial, anti-inflammatory, gastroprotective, radioprotective and anticancer, as well as being both a molluscicide and larvicide. On the other hand, the species showed relative toxicity. Numerous compounds in *P. pyramidalis* were identified with recognized action on the body, where anti-inflammatory and antimicrobial activities were the most pronounced. All parts of the plant stem, flower, root and leaf showed pharmacological action validating many traditional uses. However, the identification of the chemical constituents or group responsible for producing these therapeutic actions, as well as carrying out of further test *in vivo* to determine the mechanisms of action related to biological activities is required.

Key words: *Poincianella pyramidalis*, folk medicine, bioactive compounds, phytochemistry, biological activities.

INTRODUCTION

Poincianella pyramidalis (Tul.) LP Queiroz is an arboreal species of the Fabaceae family, popularly known as

catingueira, pau-de-rato or catinga-de-porco. Until recently, this species was known as *Caesalpinia pyramidalis* Tul., and, as a result of a taxonomic reformulation, it belongs to the genus *Poincianella* (Queiroz, 2009). *P. pyramidalis* is a small unarmed tree that can reach 4 m and greater heights in certain environments. It has bipinnate leaves with 5 to 11 leaflets that are sessile, alternate, leathery, oblong and obtuse. It has yellow flowers arranged in racemes with similar length to the leaves. The fruit is a pod that is sessile, leathery, flat, dark in color and can be up to 11 cm long (Corrêa, 1926; Braga, 1960). This species is a native pioneer and endemic of the Caatinga, broadly distributed in Northeastern Brazil, occurring in the states of Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe and Bahia (Valladares et al., 2007; Santana et al., 2011). It adapts to xeric and degraded environments and can be found in several plant associations, inhabiting stony ground and growing well in humid lowlands (Lima, 1996; Oliveira, 2010). These features ensure its successful cultivation throughout the Brazilian semiarid climate (Fabricante et al., 2009).

P. pyramidalis is considered as one of the most useful species for the people of that area because of its multiplicity of uses (Lucena et al., 2012). Among these uses is that of folk medicine, in which its flowers, leaves, and barks are used primarily in the treatment of infectious diseases and as an anti-inflammatory and analgesic (Braga, 1960; Maia, 2004; Santos et al., 2008). Its popular medicinal uses have attracted the attention of researchers from different areas. In recent years, studies have been developed to evaluate the chemical composition and biological activities of *P. pyramidalis*, including its antimicrobial, antioxidant, gastroprotective, anti-inflammatory, antinociceptive, radioprotective, and anthelmintic properties, apart from toxicity. This review aims to highlight the traditional medicinal use and main biological and phytochemical properties of *P. pyramidalis*, targeting future studies on this plant.

MEDICINAL USE

P. pyramidalis is a perpetual contributor to the various health problems of the Brazilian semiarid population. The uses of the stem bark, leaves, flowers and roots of this plant in folk medicine are described in Table 1.

PHYTOCHEMISTRY

The presence of diterpenes, flavonoids, and other phenolic compounds is characteristic of this genre and

family. Lignans, gallic acid, steroids, phenylpropanoid, and tannins, flavonoids and especially biflavonoids are isolated in the leaves and stem of *P. pyramidalis* (Mendes et al., 2000; Bahia et al., 2005; Bahia et al., 2010; Oliveira, 2010). Monteiro (2005) quantified the greater abundance of metabolites in the methanol extract from the bark of catingueira, where he obtained 29.60 and 24.72 mg for total phenol and tannins, respectively. The chloroform extract of the leaves provides biflavonoids and phenolic compounds called caesalflavona, podocarpusflavona A, agathisflavona, apigenin, kaempferol, sitosterol and lupeol. Phenylpropanoid glycoside acid, 4-Ob-glucopyranosyloxy-7-Z-hydroxycinnamic acid and 4-Ob-glucopiranosiloxy Z-8-hydroxycinnamic acid were also isolated from the leaves. The chloroform extract gave the stem 4, 4'-dihydroxy-2'-methoxy-chalcone, (-) - Methyl gallate and syringaresinol (Table 2) (Mendes et al., 2000; Bahia et al., 2005; Borges-dos-Santos et al., 2012). The hexane phase of the root was the isolation of lupeol, acetina, phenylpropanoid, and a mixture of sitosterol and stigmasterol. From the methanolic phase one biflavonoid was isolated, and also 7-hydroxy-4'-methoxyflavone-5 α -2,4-dihydroxy-4'-metoxidihydrochalcona (Oliveira, 2010). The chemical structure of some of these molecules is shown in Figure 1.

BIOLOGICAL ACTIVITIES

Antimicrobial activity

There is a concern in global public health about bacteria resistant to most known antibiotics and their prevalence in causing morbidity and mortality. *Staphylococcus aureus* is one of the main actors in this scenario, commonly occurring in strains resistant to methicillin (MRSA), and recently, vancomycin (VRSA). So, with the discovery of new antibacterial agents with different mechanisms of action, new research is vital (Luna et al., 2010). Novais et al. (2003) observed a good microbiological activity in the ethyl acetate extract obtained from the bark and leaves of *P. pyramidalis* against *S. aureus*, by disk diffusion method. Alviano et al. (2008) also noted antibacterial activity against oral pathogens in the bark and leaves of this plant. The MIC values observed in this study were 1000 μ mL⁻¹ to *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*, and 8000 μ g mL⁻¹ to *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei*, microorganisms related to dental caries.

In their study, Saraiva et al. (2012a) evaluated the activity of the methanol extracts, ethyl acetate and n-

*Corresponding author. E-mail: anaclaudia@uepb.edu.br. Tel/Fax: +55 83 3315 3300 (Ext. 3516).

Table 1. *Poincianella pyramidalis* uses in traditional medicine.

Part used	Form of use	Therapeutic indication	Authors
Stem bark	Maceration, decoction, syrup, juice	<p>Respiratory problems: asthma, bronchitis, expectorant, flu, respiratory infection, catarrhal infections, cough.</p> <p>Gastrointestinal problems: heartburn, colic, diarrhea, dysentery, flatulence, gastritis, indigestion, stomach pain, stomach problems.</p> <p>Problems of the circulatory system: hemostatic,</p> <p>Undefined symptoms: inflammation, fever.</p> <p>Recreation: Aphrodisiac.</p> <p>Lesions: Cicatrizant, injuries, bruises.</p> <p>Endocrine problems: Diabetes.</p>	Lima, 1996; Agra et al., 2007a; 2007b; 2008; Cartaxo et al., 2010; Albuquerque et al, 2007; Albuquerque et al., 2006; Oliveira et al., 2010; Marinho et al., 2011; Silva and Albuquerque, 2005; Albuquerque and Andrade 2002a,b; Albuquerque 2006; Silva and Freire, 2010; Silva et al., 2011b; Pereira Jr et al., 2014; Silva et al., 2015;
Flower	Infusion, syrup	<p>Respiratory problems: asthma, bronchitis, expectorant, flu, respiratory infection, catarrhal infections, cough.</p> <p>Gastrointestinal problems: heartburn, colic, diarrhea, dysentery, flatulence, gastritis, indigestion, stomach pain, stomach problems.</p> <p>Problems of the circulatory system: hemostatic,</p> <p>Undefined symptoms: fever. Recreation: Aphrodisiac. Lesions: Cicatrizant, injuries, bruises.</p> <p>Endocrine problems: Diabetes.</p>	Cartaxo et al., 2010; Lima, 1996; Albuquerque et al, 2007; Almeida et al., 2006; Souza et al., 2011; Pereira Jr et al., 2014.
Leaves	Infusion	<p>Respiratory problems: asthma, bronchitis, expectorant, flu, respiratory infection, catarrhal infections, cough.</p> <p>Gastrointestinal problems: colic, diarrhea, dysentery, flatulence, gastritis, stomach pain, indigestion.</p> <p>Fungicide: candidiasis.</p> <p>Lesions: Cicatrizant, injuries, bruises.</p> <p>Endocrine problems: Diabetes.</p> <p>Other: Diuretic.</p>	Almeida et al., 2005, 2006; Bahia et al., 2010; Cruz et al., 2007; Lima, 1996; Albuquerque et al., 2007; Ribeiro et al., 2014.
Root	Decoction	<p>Respiratory problems: asthma, bronchitis, expectorant, respiratory infection, flu, cough.</p> <p>Gastrointestinal problems: heartburn, colic, diarrhea, stomach pain, flatulence, gastritis.</p> <p>Undefined symptoms: fever.</p> <p>Lesions: wounds, bruises.</p> <p>Endocrine problems: Diabetes.</p>	Albuquerque et al., 2007

hexane against 17 isolates multiresistant MRSA, 2 MSSA and 2 standard strains of *S. aureus*. A good activity to the methanol extracts of the leaves, flowers, bark, roots, fruits and seeds, and to the ethyl acetate extract of the bark, roots and fruits ($MIC \leq 1000 \mu g mL^{-1}$) was observed. The antimicrobial efficacy of these extracts against *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *S. aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* (Saraiva et al., 2012b) was observed. MIC values of methanol extract of the leaves against *P. aeruginosa* ($MIC = 125 \mu g mL^{-1}$), and the ethyl

acetate extract of the root against *E. coli* and *S. aureus* were 500 and $250 \mu g mL^{-1}$, respectively; and the methanol extract of the leaves against *E. coli* was $250 \mu g mL^{-1}$. In another study, it was found that the ethanolic extracts of the leaves of *P. pyramidalis* against strains of MRSA and *S. aureus* with NorA efflux pump protein overexpression. It was observed that the bacterial growth of *S. aureus* resistant NorA was 10-fold less than the negative control (DMSO 1%); and there was no observed growth of the MRSA strain after 24 h of incubation (Lima et al., 2006). *P. pyramidalis* also presented significant antifungal

Table 2. Chemical constituents of *Poincianella pyramidalis*.

S/N	Part of plant	Substance	Group	References
1	Leaf, root	Lupeol	Triterpene	Mendes et al., 2000. Oliveira, 2010; Bahia et al., 2005
2	Leaf, root	Sitosterol	Steroid	Bahia et al., 2005; Oliveira, 2010
3	Root	Estigmasterol	Steroid	Oliveira, 2010; Bahia et al., 2010
4	Root	Acacetina	Flavonoid	Oliveira, 2010;
5	Root	Acid (E)-8-hydroxy-3,5-dimetoxycumaric	Phenylpropanoid	Oliveira, 2010
6	Root	7-hydroxy-4'-metoxyflavone-5 α -2,4-dihydroxy-4'-metoxydihydrochalcone.	Biflavonoid	Oliveira, 2010
7	Leaf	Caesalflavone	Biflavonoid	Bahia et al., 2005
8	Leaf	Podocarpusflavone A	Biflavonoid	Bahia et al., 2005
9	Leaf	Agathisflavone	Biflavonoid	Bahia et al., 2005; Borges-dos-Santos, 2012; Mendes et al., 2000
10	Leaf	Kaempferol	Flavonol	Bahia et al., 2005
11	Leaf	Apigenin	Flavone	Bahia et al., 2005
12	Leaf	4-O- β -glucopiranosyloxy-Z-7-hydroxycinnamic	Fenilpropanoid	Mendes et al., 2000
13	Leaf	Acid 4-O- β -D-glucopyranosyloxy-8-Z-hydroxycinnamic	Fenilpropanoid	Mendes et al., 2000
14	Root	7-hydroxy-4'-methoxyflavone-5 α -2,4-dihydroxy-4'-metoxidihydrochalcone	Biflavonoid	Oliveira, 2010
15	Leaf	Amentoflavone	Biflavonoid	Bahia et al., 2010
16	Leaf	Sequoiaflavone	Biflavonoid	Bahia et al., 2010
17	Stem bark	Methyl gallate	Phenolic ester	Bahia et al., 2005
18	Stem bark	4, 4'-dihydroxy-2'-methoxy-chalcone	Chalcone	Bahia et al., 2005
19	Leaf	Taxifolin	Flavonone	Bahia et al., 2010
20	Leaf	Loniflavone	Biflavonoid	Bahia et al., 2010
21	Leaf	5-hidroxiamentoflavone	Biflavonoid	Bahia et al., 2010
22	Stem bark	(-)-syringaresinol	Lignan	Bahia et al., 2005

properties. Cruz et al. (2007) evaluated the antifungal activity of four Brazilian medicinal plants used in folk medicine for the treatment of fungal infections. *P. pyramidalis* presented the best results of aqueous extract of the leaves; it had significant activity against standard strains ATCC and clinical isolates of *Trichophyton rubrum* (MIC = 6.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *Candida guilliermondii* (MIC = 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *Candida albicans* (MIC = 12.5 μg

mL^{-1}), *Cryptococcus neoformans* (MIC = 12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and *Fonsecaea pedrosoi* (MIC = 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Barbosa et al. (2015) evaluated the susceptibility of clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* resistant to azole antifungal and ATCC strain using plant extracts obtained from medicinal plants in the semiarid region of the State of Sergipe, Brazil. The researchers used the disk

diffusion method and the aqueous extract of leaves of *P. pyramidalis* at a concentration of 4, 40 and 100 mg mL^{-1} . The extracts showed good activity against 5 of the 10 strains tested, with zones of inhibition ranging between 7 and 14 mm. The activity of ethanolic extract of the bark of *P. pyramidalis* against standard ATCC strain of *Helicobacter pylori* evaluated by Ribeiro et al. (2013) had 625 and 10,000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, of MIC and

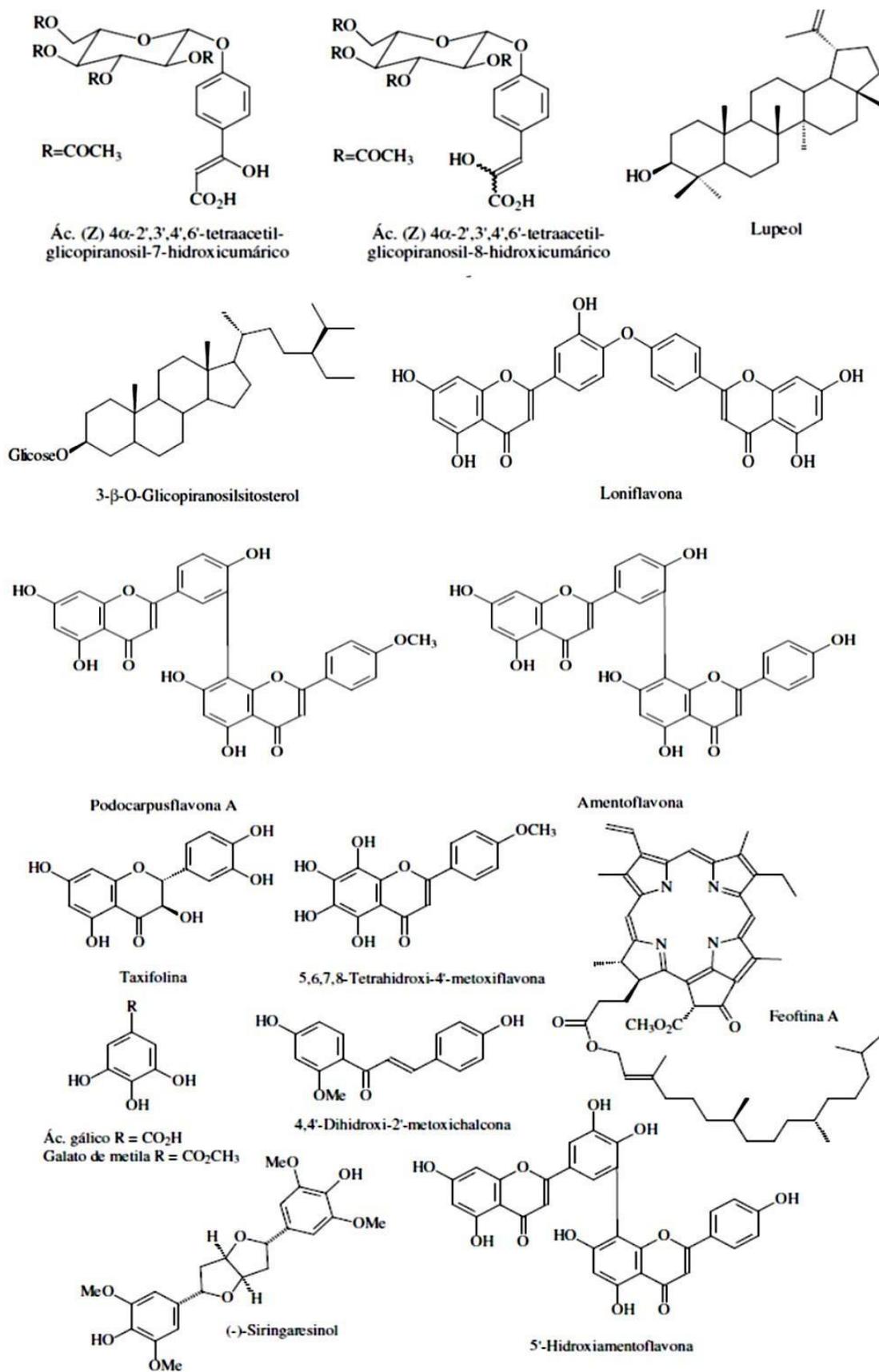


Figure 1. Isolated molecules from *P. pyramidalis*.

MBC respectively; they were obtained by broth microdilution method.

Antioxidant activity

The production of free radicals in the body causes numerous problems that manifest as degenerative diseases, cardiovascular diseases, aging, and immune problems; therefore, this creates a need to discover new antioxidants. In plants, phenolic substances act as free radical scavengers and metal chelators, which may be used as antioxidants in various pathologies (Haslam, 1998). Santos (2010) determined the antioxidant activity of ethanolic extract of the bark of *P. pyramidalis*, by method of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). This indicates the lipid peroxidation. The extract (concentrations of 100 and 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) showed antioxidant activity reducing significantly ($P < 0.001$) lipid peroxidation compared to the control (77.66 and 82.41%, respectively). This was achieved by the reduction of TBARS production. The antioxidant potential of Brazilian medicinal plants was evaluated by Alviano et al. (2008) using photometric test DPPH. The aqueous extract of leaves of *P. pyramidalis* presented a great elimination activities of DPPH ($\text{EC}_{50} = 15.2 \pm 1.0 \text{ mg L}^{-1}$), and was better than the synthetic antioxidant BHT ($\text{EC}_{50} = 86 \mu\text{g mL}^{-1}$). While in another study by Silva et al. (2011a), the antioxidant activity of ethanolic extract of the bark and leaves was evaluated by DPPH and FIC assays. The extract from the bark showed high antioxidant activity ($\text{IC}_{50} = 16.98 \pm 1.34 \mu\text{g mL}^{-1}$) compared to standards rutin and ascorbic acid ($\text{IC}_{50} = 22.96 \pm 1.99$ and $16.12 \pm 0.01 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectively). Moreover, the extract of leaves was more effective in chelating ferrous ions ($\text{IC}_{50} = 62.49 \pm 10.77 \mu\text{g mL}^{-1}$), with IC_{50} values closer to EDTA control ($\text{IC}_{50} = 15.26 \pm 0.58 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Melo et al. (2010) evaluated the antioxidant activity of 14 medicinal plants of the Brazilian semi-arid region; *P. pyramidalis* presented lower IC_{50} value ($42.95 \pm 1.77 \mu\text{g mL}^{-1}$) and good antioxidant activity. The authors attributed this to the antioxidant activity, that the high concentration of phenolic compounds is mainly tannins.

Gastroprotective activity

Ribeiro et al. (2013) evaluated the antiulcerogenic activity and gastric mucosal protection factors of ethanolic extract of the bark of *P. pyramidalis* through several *in vivo* models using Wistar rats. In the ethanol-induced ulcer model, the animals were treated with doses of extracts of 30, 100 and 300 mg kg^{-1} , and the results showed inhibition of the parameters with higher concentration. The values of ulcer lesion index, total lesion area, and percentage of lesion to extract were 0.92 ± 0.40 , $0.93 \pm 0.46 \text{ mm}^2$, $0.16 \pm 0.08\%$, respectively. Histopathological analysis

showed that the animals pretreated with the extract showed less mucosal damage compared to the control group. In the indomethacin-induced ulcers model, the extract (100 mg kg^{-1}) and positive control (Cimetidine 100 mg kg^{-1}) significantly reduced the ulcer, exhibiting the same ulcer inhibition rate (86.97%). In the model gastric secretion, using ligation of pylorus in groups treated with the extract of *P. pyramidalis*, there was a volume of discharge and acid secretion was not reduced compared to the vehicle. However, when these groups were compared to the model determination mucus there was a significant increase in mucus production (vehicle = $1.00 \pm 0.13 \text{ mg L}^{-1}$; extract 300 $\text{mg kg}^{-1} = 1.61 \pm 0.09 \text{ mg L}^{-1}$).

Diniz et al. (2015) investigated the possible mechanisms of the action of ethanolic extract of the bark of *P. pyramidalis* against ethanol-induced gastric damage. To evaluate the possible involvement of gaseous mediators (nitric oxide and hydrogen sulfide) in the protective extract, pretreated groups of rats with L-NAME or PAG were used. The protective effect of the extract was significantly attenuated by pretreatment with PAG, suggesting possible involvement of H₂S in the gastro protector extract. The authors believe that another mechanism of action would be an anti-inflammatory effect on gastric mucosa caused by attenuation of expression of the inflammatory mediator gene and increased expression of the anti-inflammatory mediator gene.

Anti-inflammatory activity

The anti-inflammatory activity of ethanolic extract (90%) of *P. pyramidalis* was evaluated by *in vivo* models with Wistar rats. In the model of carrageenan-induced edema and MPO activity in rat paws, the extract (400 mg kg^{-1}) was able to reduce the edema at 2, 3 and 4 h after the injection of carrageenan. The group treated with the extract has inhibition of edema (41.2%), while dexamethasone (2 mg kg^{-1}) unleashed an inhibition of 54.4% compared to the group treated with carrageenan. The extract at the same concentration was also able to reduce the action of MPO. The group treated with the extract showed $4.5 \pm 0.5 \text{ mg UMPO}^{-1}$ and the vehicle group had $7.1 \pm 0.9 \text{ mg UMPO}^{-1}$. In addition, the activity of this extract was against carrageenan-induced peritonitis in mice. The extract (400 mg kg^{-1}) significantly inhibited the migration of leukocytes into the peritoneal cavity ($2.63 \pm 0.23 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ of leukocytes / 80.2% inhibition) compared to the vehicle group ($7.22 \pm 0.99 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ of leukocytes) (Santos et al., 2011). Another study was conducted with 90% ethanolic extract of *P. pyramidalis* to assess the anti-inflammatory activity using Wistar rats with hemorrhagic cystitis. The groups treated with the extract (100 and 400 mg kg^{-1}) showed a significant reduction of cyclophosphamide-induced MPO. 100 mg kg^{-1} concentration was significantly decreased in leukocyte infiltration in the urinary bladder and basal

concentration of MDA (Moraes et al., 2013).

Santana et al. (2012) evaluated the anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *P. pyramidalis* in acute pancreatitis model in rats. The authors investigated the levels of pancreatic enzymes in the blood, pancreas neutrophil infiltration, lipid peroxidation and abdominal hyperalgesia. The extract (400 mg kg⁻¹) was able to reduce the levels of amylase and lipase in serum after 6 or 24 h of induction; it also reduced MPO activity in pancreatic tissue, leading to a decrease in infiltration neutrophils and promoting anti-inflammatory effect. The extract also promoted protective effect against the lipoperoxidation caused by CBDO. MDA formation decreased after 6 h of pancreatitis induction, and was maintained for 24 h. In the hyperalgesia test was reported that the groups treated with the extract (100, 200 or 400 mg kg⁻¹) had a reduction in abdominal hyperalgesia after 6 h of induction. This effect was maintained for 24 h for the highest concentration. These results demonstrate the anti-inflammatory activity of the extract.

Antinociceptive activity

The ethanolic extract of the bark of *P. pyramidalis* (100, 200 and 400 mg kg⁻¹) reduced significantly the contortion acetic acid-induced compared to the control group. Inhibition of nociceptive behavior occurred; it was induced by formalin at neurogenic and inflammatory phases. In the hot-plate reaction time, the extract (400 mg kg⁻¹) increased the pain latency time of mice exposed to the hot plate. The group treated with the extracts did not show any significant effects in the rotarod test (Santos et al., 2011). The possible mechanism of action of ethanol (90%) extract in the nociceptive behavior was investigated by Santos et al. (2013a). In the analysis of possible involvement of L-arginine–nitric oxide (NO), groups of mice were pre-treated intraperitoneally with nitric oxide precursor L-arginine (600 mg Kg⁻¹) after receiving a nitric oxide synthase inhibitor L-NOARG (75 mg Kg⁻¹) or extract (30 mg Kg⁻¹). The previous treatment with L-arginine reversed the antinociceptive effect of L-NOARG and extract, suggesting the participation of L-arginine/nitric oxide pathway in the antinociceptive activity of *P. pyramidalis* extract. We also observed antinociceptive effect on the glutamate induced nociception at 10, 30, and 100 mg Kg⁻¹. The authors suggest the participation of NMDA receptors in this antinociceptive effect.

Radioprotective activity

Ionizing radiation interaction with biological environment may have various effects such as death or mutation in cells, chromosomes and even DNA. Santos et al. (2013b) reported the effect of methanolic extracts of *P. pyramidalis* opposite to the damage caused by irradiation on

Biomphalaria glabrata embryos. The bark extract (250 ppm) showed radioprotective activity in the groups irradiated with doses of 2.5 and 4.0 Gy, while the extract of the leaves at the same concentration showed activity in the groups irradiated with doses between 2.5 and 100 Gy, demonstrating potential radioprotective activity.

Anthelmintic activity

Borges-dos-Santos et al. (2012) evaluated the potential benefits of the aqueous extract of *P. pyramidalis* on goats naturally infected with gastrointestinal nematodes. *In vivo* studies demonstrated a significant reduction in the count of eggs in the feces throughout the trial period; which, according to the authors, can be related to the direct activity of the extract reducing the fertility of female parasites. The extract also led to increased concentration of IgA, which can be involved with the generation of protective immunity.

Toxicity

The toxicity of plant species is one of the most important parameters in evaluating its timely use by the population. The bioassay with *Artemia salina* is commonly used to speculate toxicity of plant extracts. In the work of Luna et al. (2005), the ethanol extract of the stem bark (1000 ppm) showed high toxicity, with 100% mortality forwarded to *A. salina*. Oliveira (2010), performing the same test, described the toxicity according to the polarity of the extracts, fractions with ethyl acetate and the more toxic methanol, followed by butanol. The hexane fraction was considered nontoxic, while the other showed moderate toxicity.

CONCLUSION

P. pyramidalis is a natural resource used extensively in the Brazilian semiarid region. This study has identified numerous compounds, largely with recognized action on the body. The species showed therapeutic potential; anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial properties were the most pronounced and they validate its traditional use. All parts of the plant, including the stem, flower, root and leaf had pharmacological action and a wealth of compounds. But, it is necessary to identify and isolate the chemical constituents, and all those responsible for producing the therapeutic action, as well as conducting *in vivo* tests to determine the mechanisms involved in the biological activities.

Abbreviations

ACS, American chemical society; **MRSA**, methicillin-

resistant *Staphylococcus aureus*; **MSSA**, methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*; **VRSA**, vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*; **ATCC**, American Type Culture Collection; **MIC**, minimum inhibitory concentration; **NorA**, gene that encodes a membrane-associated protein mediating active efflux of fluoroquinolones; **DPPH**, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; **FIC**, ferrous ion chelating; **EDTA**, ethylenediaminetetraacetic acid; **IC₅₀**, amount of extract needed for 50% inhibition; **BHT**, butylated hydroxytoluene; **L-NAME**, Nw-nitro-L-arginine methyl ester Hydrochloride; **PAG**, DL-propargylglycine; **MPO**, myeloperoxidase; **UMPO**, units of MPO; **CBDO**, common bile duct obstruction; **MDA**, malondialdehyde; **NO**, nitric oxide; **L-NOARG**, Nw-nitro L-arginine.

Conflict of interests

The authors have not declared any conflict of interests.

REFERENCES

- Agra MF, Baracho GS, Nurit K, Basílio JLD, Coelho VPM (2007b). Medicinal and poisonous diversity of the flora of "Cariri Paraibano", Brazil. *J. Ethnopharmacol.* 111(2):383-395.
- Agra MF, Freitas PF, Barbosa-Filho JM (2007a). Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Braz. J. Pharmacogn.* 17(1):114-140.
- Agra MF, Silva KN, Basílio JLD, Freitas PF, Barbosa-Filho JM (2008). Survey of medicinal plants used in the region northeast of Brazil. *Braz. J. Pharmacogn.* 18(3):472-508.
- Albuquerque UP (2006). Re-examining hypotheses concerning the use and knowledge of medicinal plants: a study in the Caatinga vegetation of NE Brazil. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 2:30.
- Albuquerque UP, Andrade LHC (2002a). Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Acta Bot. Bras.* 16(3):273-285.
- Albuquerque UP, Andrade LHC (2002b). Uso de recursos vegetais da Caatinga: o caso do agreste do Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). *Interciencia* 27(7):336-346.
- Albuquerque UP, Lucena RFP, Monteiro JM, Florentino ATN, Ramos MA, Almeida CFCBR (2006). Evaluating two quantitative ethnobotanical techniques. *Ethnobot. Res. Appl.* 4:51-60.
- Albuquerque UP, Medeiros PM, Almeida ALS, Monteiro JM, Lins Neto EMF, Melo JG, Santos JP (2007). Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. *J. Ethnopharmacol.* 114(3):325-354.
- Almeida CFCBR, Amorim ELC, Albuquerque UP, Maia MBS (2006). Medicinal plants popularly used in the Xingó region – a semi-arid location in Northeastern Brazil. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 2:15.
- Almeida CFCBR, Silva TCL, Amorim ELC, Maia MBS, Albuquerque UP (2005). Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). *J. Arid Environ.* 62(1):127-142.
- Alviano WS, Alviano DS, Diniz CG, Antonioli AR, Alviano C, Farias LM, Carvalho MAR, Souza MMG, Bolognese AM (2008). *In vitro* antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. *Arch. Oral Biol.* 53(6):545-552.
- Bahia MV, David JP, David JM (2010). Occurrence of biflavones in leaves of *Caesalpinia pyramidalis* specimens. *Quim. Nova.* 33(6):1297-300.
- Bahia MV, Santos JB, David JP, David JM (2005). Biflavonoids and other phenolics of *Caesalpinia pyramidalis* (Fabaceae). *J. Braz. Chem. Soc.* 16(6b):1402-1405.
- Barbosa Jr AM, Mélo DLFM, Almeida FTC, Trindade RC (2015). Estudo comparativo da susceptibilidade de isolados clínicos de *Cryptococcus neoformans* (Sanfelice, 1895) frente a alguns antifúngicos de uso hospitalar e extratos vegetais obtidos de plantas medicinais da região semiárida sergipana. *Rev. Bras. Plantas Med.* 17(1):120-132.
- Borges-dos-Santos RR, Santos JLL, Farouk Z, David JM, David JP, Lima JWM (2012). Biological Effect of Leaf Aqueous Extract of *Caesalpinia pyramidalis* in Goats Naturally Infected with Gastrointestinal Nematodes. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 17:1.
- Braga R (1960). Plantas do Nordeste, especialmente do Ceara. 2ª edição. Fortaleza: Imprensa Oficial do Ceará. 540.
- Cartaxo SL, Souza MMA, Albuquerque UP (2010). Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. *J. Ethnopharmacol.* 131(2):326-342.
- Corrêa MP (1926). Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional.
- Cruz MCS, Santos PO, Barbosa JRAM, Melo DLFM, Alviano CS, Antonioli AR, Alviano DS, Trindade RC (2007). Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. *J. Ethnopharmacol.* 111(2):409-412.
- Diniz PBF, Ribeiro ARS, Estevam CS, Bani CC, Thomazzi SM (2015). Possible mechanisms of action of *Caesalpinia pyramidalis* against ethanol-induced gastric damage. *J. Ethnopharmacol.* 168(20): 79-86.
- Fabricante JR, Feitosa SS, Bezerra FTC, Feitosa RC, Xavier KRF (2009). Análise populacional de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabaceae) na caatinga da região do Seridó nordestino. *Rev. Bras. Bioci.* 7(3): 285-90.
- Haslam E (1998) *Practical Polyphenolics from structure to molecular recognition and physiological action*, Cambridge University Press: 103 p.
- Lima JLS (1996). Plantas forrageiras da caatinga usos e potencialidades. Embrapa. Petrolina- PE. 44 p.
- Lima MRF, Luna JS, Santos AF, Andrade MCC, Santana AEG, Genet JP, Marquez B, Neuville L, Moreau N (2006). Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 105(1-2): 137–147.
- Lucena RFP, Medeiros PM, Araújo EL, Alves AGS, Albuquerque UP (2012). The ecological apparency hypothesis and the importance of useful plants in rural communities from Northeastern Brazil: An assessment based on use value. *J. Environ. Manage.* 96(1): 106-15.
- Luna CM, Rodriguez-Noriega E, Bavestrello L, Gotuzzo E (2010). Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. *Braz J Infect Dis.* 14(Suppl. 2): S119-S127.
- Luna JS, Santos AF, Lima MRF, Omena MC, Mendonça FAC, Bieber LW, Sant'Ana AEG (2005). A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. *J. Ethnopharmacol.* 97(2):199-206.
- Maia GN (2004). Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades. São Paulo: Leitura e Arte, pp.159-169.
- Marinho MG, Silva CC, Andrade LHC (2011). Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de caatinga no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. *Rev. Bras. Plantas Med.* 13(2):170-182.
- Melo JG, Araújo TAS, Castro VTNA, Cabral DLV, Rodrigues MD, Nascimento SC, Amorim ELC, Albuquerque UP (2010). Antiproliferative Activity, Antioxidant Capacity and Tannin Content in Plants of Semi-Arid Northeastern Brazil. *Molecules* 15(12):8534-8542.
- Mendes CC, Bahia MV, David JM, David JP (2000). Constituents of *Caesalpinia pyramidalis*. *Fitoterapia* 71(2):205-207.
- Monteiro JM, Lins Neto EMF, Amorim ELC, Strattmann RR, Araújo EL, Albuquerque UP (2005). Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpátricas da caatinga. *Rev. Árvore* 29(6):999-1005.
- Moraes JP, Pereira DS, Matos AS, Santana DG, Santos CA, Estevam CS, Fakhouri R, Lucca Jr W, Camargo EA (2013). The Ethanol Extract of the Inner Bark of *Caesalpinia pyramidalis* (Tul.) Reduces Urinary Bladder Damage during Cyclophosphamide-Induced Cystitis in Rats. *Sci. World J.* 2013.
- Novais TS, Costa JFO, David JPL, David JM, Queiroz LP, França F,

- Giulietti AM, Soares MBP, Santos RR (2003). Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semiárido brasileiro. *Braz. J. Pharmacogn.* 13(supl.2):4-7.
- Oliveira FCS, Barros RFM, Moita Neto JM (2010). Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. *Rev. Bras. Plantas. Med.* 12(3):282-301.
- Oliveira JCS (2010). Estudo químico e avaliação biológica do extrato das cascas das raízes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Leguminosae). Dissertação. Universidade Federal da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Química. 2010.
- Pereira Jr LR, Andrade AP, Araújo KD, Barbosa AS, Barbosa FM (2014). Espécies da Caatinga como Alternativa para o Desenvolvimento de Novos Fitofármacos. *Floresta Ambient.* 21(4):509-520.
- Queiroz LP (2009). Leguminosas da Caatinga. Feira de Santana: Editora Universitária da UEFS.
- Ribeiro AR, Diniz PF, Estevam CS, Pinheiro M, Albuquerque-Jr RLC, Thomazzi S (2013). Gastroprotective activity of the ethanol extract from the inner bark of *Caesalpinia pyramidalis* in rats. *J. Ethnopharmacol.* 147(2):383-388.
- Ribeiro DA, Oliveira LGS, Macêdo DG, Menezes IRA, Costa JGM, Silva MAP, Lacerda SR, Souza MMA (2014). Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *J. Ethnopharmacol.* 155(3):1522-1533.
- Santana DG, Santos CA, Santos ADS, Nogueira PCL, Thomazzi SM, Estevam CS, Antonioli AR, Camargo EA (2012). Beneficial effects of the ethanol extract of *Caesalpinia pyramidalis* on the inflammatory response and abdominal hyperalgesia in rats with acute pancreatitis. *J. Ethnopharmacol.* 142(2):445-455.
- Santana JAS, Vieira FA, Pacheco MV, Oliveira PRS (2011). Padrão de distribuição e estrutura diamétrica de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Catingueira) na Caatinga do Seridó. *Rev. Biol. Ciênc. Terra.* 11(1):116-122.
- Santos AC, Ailane MPR, Passos FCA, Camargo EA, Estevam CS, Santos MRV, Thomazzi SM (2011). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Caesalpinia pyramidalis* in rodents. *Braz. J. Pharmacogn.* 21(6):1077-1083.
- Santos AC, Santos DS, Santana DG, Thomazzi SM (2013a). Evaluation of mechanisms involved in the antinociception of the ethanol extract from the inner bark of *Caesalpinia pyramidalis* in mice. *J. Ethnopharmacol.* 148(1):205-209.
- Santos CA (2010). Estudo farmacológico do extrato etanólico da entrecasca da *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Leguminosae). 83f. Dissertação- Mestrado em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Sergipe.
- Santos JP, Araujo EL, Albuquerque UP (2008). Richness and distribution of useful woody plants in the semi-arid region of northeastern Brazil. *J. Arid Environ.* 72(5): 652-663.
- Santos MLO, Siqueira WN, Sá LJF, Silva LRS, Cabral DLV, Amâncio FF, Melo AMMA (2013b). Estudo do efeito radioprotetor do extrato metanólico de *Caesalpinia pyramidalis* sobre células embrionárias de *Biomphalaria glabata*. *Scientia Plena* 9(9): 1-7.
- Saraiva AM, Saraiva CL, Gonçalves AM, Soares RR, Mendes FO, Cordeiro RP, Xavier HS, Pisciotano MNC (2012a). Antimicrobial activity and bioautographic study of antistaphylococcal components from *Caesalpinia pyramidalis* Tull. *Braz. J. Pharm. Sci.* 48(1):147-154.
- Saraiva AM, Saraiva MG, Gonçalves AM, Sena Filho JG, Xavier HS, Pisciotano MNC (2012b). Avaliação da atividade antimicrobiana e perfil fitoquímico de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabaceae). *Biofar* 7(2): 52-60.
- Silva ACO, Albuquerque UP (2005). Woody medicinal plants of the Caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). *Acta Bot. Bras.* 19(1):17-26.
- Silva CG, Marinho MG, Lucena MFA, Costa JGM (2015). Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. *Rev. Bras. Plantas Med.* 17(1): 133-142.
- Silva CHTB, Peixoto Sobrinho TJS, Castro VTNA, Lima DCA, Amorim ELC (2011a). Antioxidant Capacity and Phenolic Content of *Caesalpinia pyramidalis* Tul. and *Sapium glandulosum* (L.) Morong from Northeastern Brazil. *Molecules* 16(6):4728-4739.
- Silva FS, Ramos MA, Hanazaki N, Albuquerque UP (2011b). Dynamics of traditional knowledge of medicinal plants in a rural community in the Brazilian semi-arid region. *Braz. J. Pharmacogn.* 21(3):382-391.
- Silva TS, Freire EMX (2010). Abordagem etnobotânica sobre plantas medicinais citadas por populações do entorno de uma unidade de conservação da caatinga do Rio Grande do Norte, Brasil. *Rev. Bras. Plantas Med.* 12(4):427-435.
- Souza MZS, Andrade LRS, Fernandes MSM (2011). Levantamento sobre plantas medicinais comercializadas na feira livre da cidade de Esperança – PB. *Biofar* 5(1): 111-118.
- Valladares F, Gianoli E, Gómez JM (2007). Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytol.* 176(4): 749-763.

CAPÍTULO 3:

Determinação da interação entre o extrato de *Poincianella pyramidalis* (Tul.)

L.P. Queiroz e antimicrobianos por modelos biológicos e analíticos

Determinação da interação entre o extrato de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz e antimicrobianos por modelos biológicos e analíticos

Thiago P. Chaves, Felipe H. A. Fernandes, Cleildo P. Santana, Jocimar S. Santos,
Francinalva D. Medeiros, Delcio C. Felismino, Vanda L. Santos, Raïssa M. R. Catão,
Henrique D. M. Coutinho, Ana C. D. Medeiros

Artigo submetido ao periódico “Plos One”

Normas para publicação no Anexo E

1 **Determinação da interação entre o extrato de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P.**
2 **Queiroz e antimicrobianos por modelos biológicos e analíticos**

3

4 **Interação entre *Poincianella pyramidalis* e antimicrobianos**

5

6 Thiago P. Chaves^{1,2¶}, Felipe H. A. Fernandes^{1,3¶}, Cleildo P. Santana^{1&}, Jocimar S.
7 Santos^{1¶}, Francinalva D. Medeiros^{1&}, Delcio C. Felismino^{1&}, Vanda L. Santos^{4&}, Raïssa
8 M. R. Catão^{5&}, Henrique D. M. Coutinho^{6&}, Ana C. D. Medeiros^{1¶*}

9

10 ¹Laboratório de Desenvolvimento e Ensaios de Medicamentos, Universidade Estadual
11 da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

12 ²Departamento de Ciências da Natureza, Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus,
13 Piauí, Brazil.

14 ³Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São
15 Paulo, Brazil

16 ⁴Laboratório de Farmacologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande,
17 Paraíba, Brazil.

18 ⁵Laboratório de Pesquisa em Microbiologia, Universidade Estadual da Paraíba,
19 Campina Grande, Paraíba, Brazil.

20 ⁶Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional do Cariri,
21 Crato-CE, Brazil

22 * Autor para Correspondência

23 E-mail: anaclaudia@uepb.edu.br (ACDM)

24

25 ¶ Esses autores contribuíram igualmente para este trabalho

26 & Esses autores contribuíram igualmente para este trabalho

27 **Resumo**

28 *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz (Fabaceae) é uma árvore endêmica da
29 região Nordeste do Brasil, ocorrendo principalmente na Caatinga. Seu uso medicinal é
30 amplamente disseminado, sendo, um importante recurso terapêutico contra diarreias,
31 disenterias, infecções respiratórias e urinárias, dentre outras doenças. Neste trabalho foi
32 determinado o marcador químico e avaliada a interação entre o extrato de *P.*
33 *pyramidalis* e antimicrobianos comerciais através da utilização de modelos biológicos e
34 analíticos. Para a obtenção do extrato utilizou-se uma mistura hidroalcoólica (50:50 v/v)
35 como solvente, sendo posteriormente submetido à secagem em spray dryer utilizando
36 dióxido de silício coloidal como adjuvante de secagem. O extrato (ENPp) foi submetido
37 a análise por HPLC para verificar a presença de determinados metabólitos secundários.
38 A Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato sobre bactérias Gram negativas foi
39 determinada por microdiluição, assim como a CIM de antimicrobianos sintéticos na
40 presença e na ausência do extrato. A atividade antioxidante do ENPp foi avaliada pelo
41 protocolo DPPH. A compatibilidade entre o extrato e os antimicrobianos foi avaliada
42 por análise térmica (TG/DTA). A toxicidade aguda do extrato foi avaliada *in vivo*
43 utilizando roedores. Os resultados indicam significativa ação aditiva do extrato sobre
44 antibióticos sintéticos, considerável atividade antioxidante e ausência de toxicidade.
45 Este extrato apresenta elevado potencial como insumo ativo vegetal para o
46 desenvolvimento de formulações para a terapia antimicrobiana.

47

48 **Palavras-chave:** Resistência bacteriana, extrato nebulizado, atividade moduladora,
49 análise térmica.

50

51

52 **Introdução**

53 O surgimento dos antibióticos foi um dos maiores progressos da medicina
54 moderna. Estas substâncias tem um papel fundamental para o sucesso do tratamento de
55 infecções que costumavam levar os pacientes à óbito, como também para o aumento da
56 expectativa de vida. Entretanto, o uso generalizado e indiscriminado de antibióticos vem
57 contribuindo para o surgimento de patógenos resistentes, incluindo cepas
58 multirresistentes [1,2]. Esse problema tem se agravado nas últimas décadas, sendo
59 reconhecido recentemente como uma das maiores ameaças à saúde humana [3,4].

60 Um caso particularmente preocupante é o das bactérias Gram-negativas
61 multirresistentes. Estes micro-organismos, que são resistentes intrinsecamente a
62 diversos antibióticos, apresentam uma membrana externa de baixa permeabilidade que
63 limita o acesso dos agentes antimicrobianos para os seus alvos no interior da célula e
64 esta, associada a mecanismos de resistência adquiridos como a bomba de efluxo,
65 degradação enzimática e mudança no sítio de ação do fármaco, protegem assim, as
66 bactérias contra os efeitos deletérios destes agentes [5]. Uma grande ameaça a nível
67 global provocada por estas bactérias são as infecções nosocomiais, visto que o
68 tratamento de pacientes em estado crítico na unidade de terapia intensiva (UTI) e outros
69 pacientes imunossuprimidos torna-se mais complexo, associando-se a uma maior
70 morbidade e mortalidade [6,7].

71 O problema do aumento da resistência antimicrobiana se torna ainda mais
72 ameaçador levando-se em consideração o atraso na descoberta e desenvolvimento de
73 novos antibióticos, cujo número ainda é bastante limitado, o que coloca em risco o
74 papel essencial desempenhado pelos antibióticos nas práticas médicas atuais [8].

75 Os problemas citados requerem urgentemente novas estratégias terapêuticas,
76 dentre as quais destaca-se a busca de novos insumos ativos farmacêuticos oriundos de

77 fontes biológicas, onde moléculas, predominantemente metabolitos secundários,
78 contribuem para a elaboração de novos medicamentos [9]. Uma outra abordagem para
79 melhorar a eficácia de antimicrobianos existentes e para suprimir a emergência de cepas
80 multirresistentes envolve a utilização de produtos que potencializem a atividade destas
81 substâncias [10,12]. Estes produtos podem melhorar tanto a eficácia do antibiótico
82 como eliminar ou retardar o surgimento de resistência a antibióticos [13].

83 Extratos vegetais são conhecidos por apresentarem propriedades
84 antimicrobianas, podendo desempenhar importante papel em tratamentos terapêuticos.
85 Por este motivo, um número crescente de estudos realizados em diferentes países tem
86 sido realizado para demonstrar a eficácia desses extratos [14-16]. Além da atividade
87 antimicrobiana direta, espécies vegetais têm sido testadas como possíveis adjuvantes,
88 modificando a resistência microbiana [17,18].

89 Combinações de extratos e produtos naturais de origem vegetal, com
90 antimicrobianos disponíveis comercialmente, constituem uma perspectiva bastante
91 promissora para o tratamento de infecções, podendo, os produtos naturais atuarem como
92 adjuvantes, substituindo pelo menos em parte as substâncias sintéticas nas formulações
93 e eventualmente reduzindo os efeitos indesejáveis dessas substâncias no organismo
94 humano [19].

95 *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz (Fabaceae) é uma espécie arbórea
96 com ampla distribuição na região semiárida brasileira. Até pouco tempo esta espécie era
97 conhecida como *Caesalpinia pyramidalis* Tul., porém devido a uma atualização
98 taxonômica passou a ser chamada de *P. pyramidalis* [20]. Suas partes, especialmente a
99 casca, as folhas e as flores são utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de
100 diversas enfermidades, dentre as quais se pode citar gripe, tosse, diarreia, disenteria,
101 inflamações em geral, infecções respiratórias e urinárias [21-27]. Dentre as atividades

102 biológicas de *P. pyramidalis* descritas na literatura, pode-se destacar a atividade
103 antibacteriana [28,29], antifúngica [30], antioxidante [31], gastroprotetora [32], anti-
104 inflamatória, antinociceptiva [33] e antihelmíntica [34].

105 Assim, este trabalho teve como objetivo investigar a interação entre o extrato de
106 *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz e antibióticos por modelos biológicos e
107 analíticos.

108

109 **Material e Métodos**

110 **Material vegetal**

111 Foram coletadas cascas de indivíduos adultos de *P. pyramidalis* na fazenda
112 Farinha, município de Pocinhos, PB, Brasil (7°07'54.53''S e 36°07'14.51''O), em
113 janeiro de 2014. Uma exsicata (CSTR 5036) foi depositada no herbário do Centro de
114 Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande.

115

116 **Preparação do extrato**

117 O material vegetal foi limpo e submetido à secagem em estufa de circulação de
118 ar a 40 °C. Posteriormente foi triturado em moinho de facas com tamanho de partícula
119 de 10 mesh. O extrato hidroalcoólico foi obtido por extração assistida por ultrassom a
120 40 °C durante 60 min, utilizando como solvente etanol:água 50% (v/v). Em seguida foi
121 submetido à secagem por aspersão em um Mini *Spray Dryer* Labmaq PS-1, com
122 temperatura de entrada de 120°C, fluxo de ar 40 L min⁻¹, vazão de ar de secagem 3 mL
123 min⁻¹. O extrato nebulizado (ENPp) foi seco utilizando como adjuvante dióxido de
124 silício coloidal (Aerosil 200®) em 20%, em relação ao resíduo seco.

125

126 **Ensaio químicos**

127 **Determinação de polifenóis totais**

128 O teor de polifenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu [35]. Os
129 extratos foram diluídos para obter uma concentração de $200 \mu\text{g mL}^{-1}$. Para cada solução,
130 uma alíquota de 1 mL do extrato foi adicionada a 1 mL da solução do reagente de Folin-
131 Ciocalteu (Sigma-Aldrich), permanecendo em repouso por 2 minutos. Em seguida,
132 adicionou-se 2 mL de solução de Na_2CO_3 a 20% (p/v), e foi deixado em repouso por 10
133 minutos. As amostras foram medidas utilizando um espectrofotômetro UV-Vis
134 Shimadzu, modelo UV-mini 1240, em comprimento de onda de 757 nm. A curva de
135 calibração foi obtida com soluções de ácido gálico (Sigma-Aldrich) com concentrações
136 entre 1 e $40 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados foram expressos em μg equivalentes de ácido
137 gálico/ mg de extrato.

138

139 **Determinação de flavonoides totais**

140 O teor de flavonoides totais foi determinado pelo método AlCl_3 [35]. Os extratos
141 foram diluídos em metanol a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$. A cada 5 mL da solução teste foi
142 adicionado o mesmo volume da solução de AlCl_3 em metanol deixando-se em repouso
143 por 10 minutos. A leitura das amostras foi realizada utilizando espectrofotômetro UV-
144 Vis, Shimadzu, modelo UV-mini 1240, em comprimento de onda de 415 nm. Uma
145 curva de calibração foi construída com soluções de quercetina (Sigma-Aldrich) com
146 concentrações entre 2 e $30 \mu\text{g mL}^{-1}$.

147

148 **Determinação de taninos condensados**

149 Foi utilizado o método da vanilina-HCl descrito por Makkar and Becker [36],
150 onde, a 0,25 mL da amostra foram adicionados 1,5 mL da solução de vanilina em

151 metanol (4% p/v) e 0,75 mL de HCl concentrado (37%). Depois da adição do HCl o
152 conteúdo do tubo foi agitado em banho maria a 30 °C durante 3-4 segundos antes da
153 leitura num espectrofotômetro a 500 nm de comprimento de onda. Catequina foi
154 utilizado como padrão em concentrações entre 10 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

155

156 **Determinação de Saponinas Totais**

157 A quantificação de saponinas totais seguiu o método descrito por Makkar et al.,
158 [37]. Adicionou-se 250 μL de uma solução de vanilina 8% em etanol a 250 μL da
159 solução do extrato em metanol 80%, em seguida, adicionou-se 2,5 mL de ácido
160 sulfúrico a 72%. Os tubos foram incubados a 60 °C em banho-maria por 10 minutos,
161 sendo transferido para um banho de gelo, onde permaneceram por 4 minutos. Foi feita a
162 leitura da absorbância a 544 nm, contra um branco composto pela solução de vanilina,
163 metanol 80% e ácido sulfúrico. A curva de calibração foi obtida a partir de uma solução
164 de disogenina em concentrações entre 100 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

165

166 **Determinação do composto químico majoritário**

167 Utilizou-se um Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (UPLC), marca
168 Shimadzu, equipado com duas bombas modelo LC-20AD, injetor automático SIL-20-
169 AHT, forno para coluna CTO-20A, detector com comprimento de onda variável
170 UV/Vis, modelo SPD-20A, controlador CBM-20A, integrador automático
171 computadorizado com software LC Solution[®]. A fase estacionária foi composta por uma
172 coluna Gemini - NX C18 (250 x 4,60 mm, 5 μm). A fase móvel foi constituída de uma
173 mistura isocrática de ácido acético 0,1% : metanol (90:10, v/v). As análises foram
174 realizadas em temperatura controlada (30°C), utilizando um fluxo de 1 mL min^{-1} e

175 volume de injeção de 20 μL . Todas as amostras foram filtradas com filtros de seringa
176 0,45 μm de diâmetro.

177

178 **Atividade antioxidante**

179 A ação antioxidante do extrato nebulizado de *P. pyramidalys* foi analisada
180 através da capacidade de substâncias antioxidantes presentes na amostra capturarem o
181 radical livre DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Os ensaios foram conduzidos
182 utilizando o método descrito por Dhar et al., [38], com adaptações. Inicialmente foi
183 preparada uma solução de DPPH a 0,200 mM em etanol. A 500 μL desta solução foram
184 adicionados 500 μL do extrato diluído em etanol em concentrações que variaram entre
185 50 e 3,125 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A mistura permaneceu em repouso ao abrigo da luz, a temperatura
186 ambiente durante 30 minutos, antes da leitura da absorbância em espectrofotômetro UV
187 a 517 nm. Ácido gálico e quercetina foram utilizados como padrões. A capacidade de
188 sequestrar radicais DPPH foi calculada pela seguinte equação:

189

$$\text{Capacidade (\%)} = \frac{(ABS_{\text{controle}} - ABS_{\text{amostra}})}{ABS_{\text{controle}}} \times 100$$

190

191

192 onde, ABS_{controle} é a absorbância do radical DPPH + etanol; ABS_{amostra} é a absorbância
193 do radical DPPH com extrato ou padrão.

194

195 A concentração inibitória (IC_{50}) e a concentração eficiente (EC_{50}) foram
196 estimadas como descrito por Kroyer [39] e Prakash et al., [40]. A IC_{50} foi determinada
197 representando graficamente a capacidade de eliminação do DPPH contra o logaritmo da
198 concentração da amostra, enquanto a EC_{50} foi calculada através da equação abaixo:

$$EC_{50} \frac{IC_{50}}{[DPPH] \text{ in } \mu\text{g.mL}^{-1}}$$

199

200

201 Ensaios Microbiológicos

202 Foram utilizadas cepas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) e

203 isolados clínicos de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella*

204 *pneumoniae*, cujo perfil de resistência está descrito na Tabela 1. As cepas foram

205 mantidas em tubos com inclinações de Ágar Mueller-Hinton, sendo, antes dos ensaios,

206 cultivadas a 37 °C por 24 horas, em placas com o mesmo meio de cultura.

207

208 **Tabela 1. Cepas bacterianas utilizadas e seu perfil fenotípico de resistência**

209 **antimicrobiana**

Cepas	Resistência
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-
<i>E. coli</i> 401	AMC, CFL; ATM; CFO; NIT; CPM; SFM; NOR
<i>E. coli</i> 613	CFO; ATM; CFL; CAZ; CPM; AMP; GEN; NOR; CLI; TET; SFM.
<i>E. coli</i> 523	CIP, CLO, NOR, SFM, TET e AMP
<i>E. coli</i> 534	AMP; CFO; NOR; CAZ; ATM; TET; CPM; GEN; CFL; CLI; SFM.
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-
<i>P. aeruginosa</i> 106	TOB; CFL; ATM; AMI; CPM; CFO; AMC; CFT;
<i>P. aeruginosa</i> 117	CFO; AMC; CFL; CFT; CAZ; SFM; NOR; GEN; CIP; TET; IPM; CPM.

<i>P. aeruginosa</i> 208	TOB; AMI; SFM; AMP; GEN; NOR; CLI; TET.
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 4352	-
<i>K. pneumoniae</i> 110	AMC; CFO; CFL; NIT; CAZ; ATM; CFT; TET; NOR; CLI; SFM; AMP; GEN.

210 AMC = Amoxicilina + Ác. Clavulânico; CFL = Cefalotina; ATM = Aztreonam; CFT =
 211 Cefoxitima; NIT = Nitrofurantoína; CPM = Cefepima; NOR = Norfloxacino; AMP =
 212 Ampicilina; CIP = Ciprofloxacino; CFO = Ceftriaxona; CAZ = Ceftazidima; GEN =
 213 Gentamicina; CLI = Clindamicina; TET = Tetraciclina; CLO = Cloranfenicol; TOB =
 214 Tobramicina; AMI – Amicacina; IPM – Imipenem; SFM = Sulfametoxazol +
 215 Trimetropim.

216

217 **Determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC)**

218 A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de
 219 microdiluição em placas de 96 cavidades [41], usando caldo BHI. Colônias dos micro-
 220 organismos foram suspensas em solução salina 0,9%, sendo a suspensão ajustada em
 221 espectrofotômetro a 625 nm a uma concentração final de 5×10^6 UFC mL⁻¹. Foram
 222 realizadas diluições seriadas do extrato em um intervalo de concentrações entre 1000 e
 223 $3,9 \mu\text{g mL}^{-1}$. As placas foram incubadas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 h. O crescimento
 224 bacteriano foi indicado pela adição de 20 μL de solução aquosa de resazurina (Sigma-
 225 Aldrich) a 0,01 %, com nova incubação a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ durante 2 h. A CIM foi definida
 226 como a menor concentração onde não houve crescimento microbiano visível. Os ensaios
 227 foram realizados em triplicata.

228

229

230 **Modulação da resistência antimicrobiana**

231 A avaliação dos extratos como moduladores da resistência a antibióticos foi
232 realizada de acordo com Coutinho et al. [42]. A CIM dos antibióticos utilizados neste
233 estudo (AMP, CFL, CFO, CPM, CLI, CLO, CIP, GEN, NIT e NOR) e do ácido gálico
234 foi determinada na presença e na ausência do extrato em concentrações sub-inibitórias
235 (CIM/8). A concentração dos antibióticos e do ácido gálico variou entre 1000 e 0,01 μg
236 mL^{-1} . As placas foram incubadas como descrito anteriormente e cada ensaio foi
237 realizado em triplicata.

238

239 **Avaliação da toxicidade aguda**

240 Neste teste foram utilizados Ratos Wistar albinos (*Rattus norvegicus*) adultos
241 obtidos a partir do biotério da Universidade Federal da Paraíba. Os mesmos
242 permaneceram em caixas de polipropileno, em grupos do mesmo sexo, em local com
243 temperatura ($22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) e umidade ($50\% \pm 20\%$) controladas e ciclo diário
244 claro/escuro de 12 horas. Os animais receberam ração padrão e água filtrada *ad libitum*
245 tanto para o período de adaptação (7 dias) quanto durante a experimentação, exceto o
246 período de 12 horas anteriores ao experimento, no qual o acesso à ração foi restrito. O
247 protocolo experimental foi aprovado pelo Este experimento foi aprovado Comitê de
248 Ética em Pesquisa Animal da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande sob o
249 número 5618092015.

250 Os animais foram divididos em grupos com 6 machos e 6 fêmeas, onde
251 receberam, por via oral, dose do extrato a 2000 mg kg^{-1} . Um grupo controle foi tratado
252 com solução salina, a mesma utilizada para ressuspender o extrato. Foram observadas
253 mudanças comportamentais ou morte durante as primeiras 24 horas, nos períodos de 0,
254 15, 30 e 60 minutos e a cada 4 horas e diariamente durante 14 dias após administração

255 usando-se a metodologia proposta por Almeida et al. [43]. Foram observados ainda o
256 consumo de água e ração. Os animais sobreviventes foram sacrificados, procedendo-se
257 a pesagem e análise macroscópica das vísceras (fígado, rins, baço, coração e pulmões).

258

259 **Análise estatística**

260 Os resultados dos ensaios microbiológicos foram expressos em média
261 geométrica. Foi aplicada à análise de variância two-way seguida pelo pós-teste de
262 Bonferroni, enquanto para os testes de toxicidade aplicou-se análise de variância com o
263 pós-teste de Tukey, utilizando o software GraphPad Prism 5.0.

264

265 **Análise térmica**

266 Os perfis termoanalíticos foram obtidos utilizando um analisador simultâneo
267 TG-DTA, modelo DTG-50 (Shimadzu). As amostras ($5,0 \pm 0,2$ mg) foram acomodadas
268 em cadinhos de platina, e submetidas a um programa de aquecimento entre 30 e 900 °C,
269 à razão de 10 °C min^{-1} , em atmosfera inerte de nitrogênio (50 mL min^{-1}). As amostras
270 consistiram em antibióticos e extrato, analisados separadamente e em misturas binárias,
271 na proporção 1:1.

272 O módulo DTA foi calibrado com padrão de índio (p.f. = 156,6 °C). E, para a
273 calibração do módulo TG, foi utilizado um padrão de oxalato de cálcio monohidratado.
274 As curvas foram analisadas no software TA60, versão 2.21.

275

276

277

278

279

280 Resultados e Discussão

281 Ensaio químicos

282 O teor de metabólitos secundários presentes no extrato encontra-se na tabela 2. O
 283 teor de polifenóis totais e taninos condensados estão elevados, quando comparado ao de
 284 flavonoides totais. Embora seja um método quantitativo, ele não consegue prever a
 285 composição individual de cada composto, além de uma possível quantificação de
 286 compostos não fenólicos [44].

287

288 **Tabela 2. Teor de metabólitos secundários presentes no extrato de *P. pyramidalis***
 289 **obtidos por espectrofotometria na região do visível.**

Metabólitos	Concentração
Polifenóis totais	36,94 ± 0.45 ¹
Flavonoides totais	19,09 ± 0.78 ²
Taninos condensados	59,08 ± 0.69 ³
Saponinas totais	328,43 ± 1.95 ⁴

290 ¹Equivalente de ácido gálico (EAG); ²Equivalente de quercetina (EQ); ³

291 Equivalente de catequina (EC); ⁴Equivalente de diosgenina (DE)

292

293 Outros estudos fitoquímicos conduzidos com extratos de *P. pyramidalis*
 294 revelaram a presença de metabólitos secundários, como saponinas, ácido ursólico,
 295 sitosterol, derivados cinâmicos, flavanoides, quercetina, proantocianidinas, catequina,
 296 ácido gálico e ácido elágico [58-60].

297 Foi realizada a identificação do composto químico majoritário por cromatografia
 298 líquida e, baseado no parâmetro tempo de retenção (TR), foi comparado os valores TR

299 obtidos para os padrões analisados (ácido gálico, catequina, quercetina, rutina e
300 canferol), com os valores TR dos picos observados no ENPp. Os resultados indicaram a
301 presença de ácido gálico, o qual pode ser utilizado como marcador químico da planta
302 (Fig 1). Em estudo realizado por Santana et al. [47] com extrato etanólico desta planta,
303 foi constatada a presença de rutina, substância que esteve ausente neste estudo. Esta
304 diferença pode estar relacionada com parâmetros como o local e época de coleta, estágio
305 de desenvolvimento da planta, dentre outros fatores [35].

306

307 **Fig.1. Cromatograma do extrato nebulizado de *P. pyramidalis* mostrando seu**
308 **marcador químico**

309

310 **Atividade Antioxidante**

311 Atualmente, é crescente a busca por substâncias que possam reduzir o risco de se
312 desenvolver doenças crônicas provocadas pelo o estresse oxidativo [48]. Este, por sua
313 vez, está relacionado com diversos processos patológicos e toxicológicos como
314 envelhecimento, transformação e morte celular, indução do câncer, doenças auto-
315 imunes, cardiopatias, dentre outras [49,50]. Dentre as substâncias em estudo mais
316 promissoras, com atividade antioxidante, estão as de origem vegetal, como polifenóis,
317 flavonóides, alcalóides, terpenos, carotenóides etc. [51-53].

318 A capacidade de eliminação de radicais livres do extrato do *P. pyramidalis*
319 foram comparados através de sua capacidade de eliminar o radical DPPH. Os dados
320 referentes a estes testes encontram-se na Tabela 3, expressos em percentual de inibição
321 do DPPH, IC₅₀ e EC₅₀. Ao observar o percentual de inibição do DPPH, constatou-se que
322 o extrato apresentou uma elevada taxa de inibição, não havendo diferença estatística
323 significativa entre o mesmo e o ácido gálico. Por outro lado, a IC₅₀ e a EC₅₀ do extrato

324 foi significativamente mais elevada do que os padrões, o que pode estar relacionado ao
 325 fato de que o extrato é uma mistura complexa de substâncias, enquanto os padrões são
 326 substâncias puras.

327

328 **Tabela 3. Atividade antioxidante do extrato e dos padrões frente ao DPPH.**

	DPPH (%)	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	EC ₅₀ (U.A.)
Ácido Gálico (10 µg mL ⁻¹)	75,28 ^a	5,99 ± 0,24 ^a	0,0760 ± 0,0030 ^a
Quercetina (10 µg mL ⁻¹)	36,84 ^b	13,75 ± 0,24 ^b	0,1743 ± 0,0030 ^b
Extrato (50 µg mL ⁻¹)	79,71 ^a	28,11 ± 0,68 ^c	0,3564 ± 0,0086 ^c

329 a,b,c – Letras diferentes em uma mesma coluna significam que ocorreu diferença
 330 estatística significativa (p < 0,01).

331

332 Há referências na literatura que citam que *P. pyramidalis* possui boa quantidade
 333 de compostos fenólicos [45]. Tais substâncias são componentes muito importantes de
 334 extratos vegetais e contribuem diretamente para eliminação de radicais devido aos seus
 335 grupos hidroxila [54,55]. O ácido gálico, encontrado no extrato de *P. pyramidalis*, é um
 336 destes compostos e há registros na literatura de suas propriedades antioxidantes [56-58].

337

338 **Atividades antimicrobiana e moduladora**

339 Quanto à atividade antimicrobiana, o ENPp não apresentou eficácia significativa
 340 sobre nenhuma das cepas estudadas. Dall'Agnol et al. [59] e Rios e Recio [60] relataram
 341 que extratos vegetais são considerados inativos com CIM > 1000 µg mL⁻¹, detentores de
 342 baixa atividade com CIM entre 500-1000 µg mL⁻¹, atividade moderada com valores de
 343 CIM entre 100-500 µg mL⁻¹ e boa atividade quando CIM ≤ 100 µg mL⁻¹. A ausência de
 344 atividade antimicrobiana aqui apresentada é consistente com o estudo conduzido por

345 Silva et al. [61], que detectaram inatividade do extrato etanólico bruto de *P. pyramidalis*
346 sobre cepas padrão e isolados clínicos de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*.

347 O ácido gálico, marcador químico do ENPp, também foi submetido ao teste de
348 suscetibilidade microbiana e não apresentou atividade significativa sobre as cepas testadas
349 neste estudo (CIM > 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Tal resultado corrobora o estudo desenvolvido por
350 Chanwitheesuk et al. [62], onde o ácido gálico também apresentou CIM > 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$
351 sobre diversas cepas bacterianas Gram positivas, Gram negativas e fúngicas.
352 Resultado semelhante foi observado Jayaraman et al. [63] em testes com cepas padrão e
353 multirresistentes de *P. aeruginosa*. Borges et al. [64] em ensaios com *E. coli*, *S. aureus*
354 e *Listeria monocytogenes* obteve valores de CIM > 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, entretanto, sobre *P.*
355 *aeruginosa* o ácido gálico apresentou CIM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Sanchez-Maldonado et al.
356 [65] obteve CIM de 490 $\mu\text{g mL}^{-1}$ sobre *E. coli*. Vaquero et al. [66], utilizando a
357 metodologia de difusão em ágar, obteve halos de inibição sobre cepas padrão de *E. coli*
358 (ATCC 35218 e ATCC 25922) em concentrações de ácido gálico variando entre 200 e
359 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Essa discrepância entre os resultados encontrados neste e em outros
360 estudos pode estar relacionado ao método utilizado para a determinação da atividade
361 antimicrobiana, assim como o perfil fenotípico das cepas utilizadas.

362 A resistência apresentada pelas bactérias Gram negativas possivelmente está
363 relacionada à presença da membrana externa da parede bacteriana, que constitui uma
364 barreira semipermeável composta basicamente por fosfolipídios, lipopolissacarídeos e
365 proteínas, que dificulta a passagem de drogas antimicrobianas, estando relacionada
366 elevada resistência intrínseca dessas bactérias [67,68]. Além desta barreira, os referidos
367 micro-organismos podem dispor de outros mecanismos que buscam impedir que o
368 antimicrobiano possa atingir seu alvo, podendo-se destacar a mudança na composição

369 da membrana externa, eliminação de porinas, indução de bombas de efluxo e
370 degradação enzimática do antimicrobiano [69,70].

371 Nos ensaios de atividade moduladora calcula-se uma concentração subinibitória
372 (CIM/8) do extrato, que é associada aos antibióticos. Em virtude do extrato não ter
373 apresentado efeito, a CIM considerada para este cálculo foi a maior concentração
374 testada, sendo, portanto, a concentração subinibitória $125 \mu\text{g mL}^{-1}$. Na Fig 2 (A, B, C e
375 D) pode-se observar que após a combinação tanto com o extrato, quanto com o ácido
376 gálico, ocorreu um aumento significativo na atividade da gentamicina sobre as cepas de
377 *E. coli* 401, 534 e 613. Sobre *E. coli* 523 o cloranfenicol teve sua CIM reduzida em
378 ambas associações, enquanto a gentamicina, apenas na associação com o extrato. Por
379 outro lado, a associação com ácido gálico provocou um aumento significativo na CIM
380 da nitrofurantoína (*E. coli* 401), ampicilina (*E. coli* 523) e norfloxacino (*E. coli* 534 e
381 613). Nos ensaios com as cepas de *P. aeruginosa* (Fig 2. E, F e G) constatou-se o efeito
382 aditivo do extrato e do ácido gálico na ação da gentamicina sobre todas as cepas
383 testadas, ceftriaxona (*P. aeruginosa* 106 e 117), ciprofloxacino e cefepima (*P.*
384 *aeruginosa* 117). O extrato ainda provocou a redução significativa da CIM do
385 ciprofloxacino sobre *P. aeruginosa* 106, enquanto o ácido gálico proporcionou efeito
386 contrário. Ainda sobre esta mesma cepa, a associação com ácido gálico ocasionou o
387 aumento da CIM da cefalotina. Nos testes com *K. pneumoniae* (Fig. 2 H), o antibiótico
388 cuja atividade foi intensificada, em ambas associações, foi gentamicina. Entretanto,
389 ocorreu aumento significativo da CIM da clindamicina, quando associada ao extrato.

390

391 **Fig. 2. Atividade moduladora do extrato de *P. pyramidalis* sobre a resistência de**
392 **bactérias Gram negativas a diferentes antimicrobianos. A - *E. coli* 401; B - *E. coli***
393 **523, C - *E. coli* 613; D = *E. coli* 534; E - *P. aeruginosa* 106; F - *P. aeruginosa* 117; G -**

394 *P. aeruginosa* 208. H - *K. pneumoniae* 110. *** - diferença estatisticamente
395 significativa ($P < 0.001$); ns – não houve diferença significativa ($P > 0.05$). CFL =
396 Cefalotina, NIT = Nitrofurantoína, CFO = Ceftriaxona, GEN = Gentamicina, CLI =
397 Clindamicina, AMP = Ampicilina, CLO = Cloranfenicol, NOR = Norfloxacino, CIP =
398 Ciprofloxacino, CPM = Cefepima.

399

400 Os melhores resultados observados nas interações com o extrato ou ácido gálico
401 foram observados nos ensaios com gentamicina, cuja CIM sobre todas as cepas foi
402 reduzida. Este antimicrobiano pertence à classe dos aminoglicosídeos, que por sua vez,
403 estão entre os agentes anti-infecciosos mais comumente empregados na prática clínica
404 [71]. Eles são capazes de interagir com diferentes porções do RNAr, provocando efeitos
405 deletérios no processo de tradução do RNAm em polipeptídeo, seja inibindo a síntese
406 proteica ou provocando a produção de proteínas defeituosas [71-73]. Os principais
407 mecanismos de resistência a estes antimicrobianos incluem a degradação enzimática
408 destes por N-acetilação, adenilação ou O-fosforilação; a redução da concentração
409 intracelular do antimicrobiano por alterações na permeabilidade e transporte das
410 membranas e efluxo ativo; a alteração do alvo subunidade ribossomal 30S; e a
411 metilação do sítio de ligação do antimicrobiano [74,75].

412 Uma característica particularmente importante apresentada pelos
413 aminoglicosídeos é a capacidade de atuar sinergicamente com outras drogas [75]. Esta
414 característica é particularmente importante na busca de novas alternativas terapêuticas,
415 em virtude do surgimento de cepas resistentes e da toxicidade provocada por esses
416 fármacos [76]. Na literatura há estudos que demonstraram sinergismo resultante da
417 associação entre aminoglicosídeos e β -lactâmicos [77,78] e entre aminoglicosídeos e
418 produtos naturais [79-81].

419 A associação entre extratos vegetais e antibióticos é bem documentada na
420 literatura. Em diversos casos, tal associação provocou um efeito aditivo resultando em
421 uma melhor atividade antimicrobiana contra várias cepas multirresistentes [82-87].

422 A redução da CIM da gentamicina após associação com ENPp ou de seu
423 marcador químico pode estar relacionada com a promoção da entrada do fármaco na
424 célula bacteriana. O ácido gálico age nas membranas celulares provocando alterações
425 irreversíveis em suas características como permeabilidade intra e extracelular,
426 propriedades físico-químicas através de mudanças de hidrofobicidade e diminuição da
427 carga negativa da superfície, além de favorecer a ocorrência de rupturas ou a formação
428 de poros, com conseqüente entrada do fármaco e perda de constituintes intracelulares
429 essenciais para a vida da bactéria [64].

430 O ENPp, como diversos tipos de extratos vegetais, apresentam ampla variedade
431 de compostos fitoquímicos e, por este motivo, outros mecanismos podem estar
432 relacionados com os efeitos aditivos da combinação de antibióticos e ENPp. A grande
433 variedade de compostos presentes no extrato podem atuar em diferentes alvos [88],
434 podendo ser em um ou vários alvos de cada vez. Dentre os mecanismos pelos quais os
435 extratos podem interferir no crescimento microbiano estão a inativação de enzimas,
436 proteínas receptoras e de transporte, DNA/RNA, além de atuar na supressão de
437 mecanismos de resistência bacteriana [89-91]. Além disso, a referida diversidade de
438 compostos e de seus mecanismos de ação proporciona um baixo risco de aumento da
439 resistência, porque proporciona maiores dificuldades para a adaptação microbiana [92].

440

441 **Toxicidade Aguda**

442 Durante os 14 dias que sucederam a administração do extrato não houve morte
443 entre os animais, o que impossibilitou o cálculo da DL₅₀. Também não foi observada

444 mudança no comportamento dos animais. Ao avaliar o consumo de água e ração e o
445 peso médio dos órgãos dos animais, não houve diferença estatística significativa entre o
446 grupo tratado com o extrato e o grupo controle ($P < 0,05$).

447

448 **Análise térmica**

449 **Análise térmica diferencial (DTA)**

450 A curva DTA do ENPp mostrou três processos de transições de fases da
451 amostra. O primeiro pico endotérmico em 53,36 °C, possivelmente está relacionado a
452 perda de água, solvente (etanol) ou compostos voláteis na amostra. Os dois picos
453 subsequentes são exotérmicos de cristalização, sendo o segundo em 348,30 °C e o
454 quarto em 425,17 °C (Tabela 4).

455 Na curva DTA do norfloxacino observou-se o primeiro pico, de natureza
456 endotérmica a 179,69 °C O segundo pico, endotérmico, ocorreu em 223,84 °C, o qual
457 corresponde ao retardamento do processo de fusão do fármaco que ocorre entre 220,00 e
458 221,00 °C [93,94]. Na mistura binária antibiótico + extrato, foi observado que, o
459 primeiro pico endotérmico ocorreu na temperatura de 179,36 °C, o qual é característico
460 do fármaco. O segundo pico ocorreu em 219,51°C corresponde à antecipação do
461 processo de fusão do fármaco. A partir do terceiro que ocorreu em 428,63, inicia-se o
462 processo de decomposição térmica da amostra. Na mistura observou-se uma alteração
463 nos picos de calor com antecipação da temperatura de fusão do fármaco e a supressão
464 dos picos observados no extrato. Estas alterações possivelmente são provenientes de
465 interações entre o extrato e o antibiótico (Tabela 4/Fig 3A).

468 **Fig. 3. Curvas DTA do extrato de *P. pyramidalis*, antimicrobianos e suas misturas**
469 **binárias.** (A) Norfloxacino, (B) Ampicilina, (C) Cefalotina, (D) Ciprofloxacino, (E)
470 Clindamicina, (F) Nitrofurantoina, (G) Ceftriaxona, (H) Gentamicina, (I) Cefepima, (J)
471 Cloranfenicol.

472

473 Foram registrados quatro eventos na curva DTA da ampicilina, sendo os três
474 primeiros, endotérmicos registrados nas temperaturas de 63,52 °C, relacionada com a
475 desidratação a amostra; o segundo em 218,30 °C, o qual corresponde provavelmente ao
476 retardamento do processo de fusão, com decomposição, de uma das suas formas anidras
477 [94,95]; a partir do terceiro em 363,24 °C ocorreu o início da decomposição da
478 ampicilina. Na curva produzida com a mistura observou-se que os dois primeiros picos
479 endotérmicos do fármaco foram mantidos na mesma temperatura, porém com menor
480 calor de reação envolvido nos processos endotérmicos. A supressão dos picos
481 exotérmicos do fármaco e do extrato, na curva da mistura binária é um indício de uma
482 forte interação química entre os componentes da amostra (Tabela 4/Fig 3B).

483 A curva DTA da cefalotina mostrou um pico endotérmico em 167,27 °C,
484 provavelmente relacionado ao processo de fusão da amostra que ocorre entre 160,0 e
485 160,5 °C [94] e um exotérmico em 212,63 °C, correspondendo ao seu processo de
486 decomposição [96]. Na mistura produzida com o extrato, observou-se uma transição
487 vítrea na temperatura de 151,33 °C e um pico exotérmico em 211,66 °C, relacionado
488 com a degradação da mistura (Tabela 4/Fig 3C).

489 Na curva DTA do ciprofloxacino, percebeu-se a ocorrência de dois eventos,
490 sendo o primeiro de natureza endotérmica em 144,45 °C, que corresponde à perda de
491 grupo acetileno (C₂H₂) no fármaco [97]. O segundo, em 318,40 °C corresponde ao
492 processo de fusão do fármaco, que ocorre entre 318,0 e 320,0 °C [94,98]. Na curva da

493 mistura foram observados quatro picos endotérmicos, o primeiro em 134,90 °C,
494 decorrente da perda de umidade da amostra e do grupo C₂H₂ do fármaco [97]; o segundo
495 em 296,64°C, provavelmente está relacionado à antecipação do processo de fusão do
496 fármaco. Os dois picos endotérmicos em 405,53 e 430,63 °C, demonstram o processo de
497 decomposição da amostra. Essas diferenças apontam para uma interação entre as
498 substâncias presentes na mistura (Tabela 4/Fig 3D).

499 Foram observados cinco eventos na curva DTA da clindamicina, sendo os três
500 primeiros de natureza endotérmica, nas temperaturas de 109,00 °C, referente a
501 desidratação da amostra; 148,97 °C, provavelmente relacionado ao retardamento do
502 processo de fusão do fármaco, que deverá ocorrer na faixa de temperatura de 141 a 143
503 °C [94]. A partir do pico observado em 170,18 °C inicia-se o processo de decomposição
504 do fármaco. Por outro lado, na curva da mistura ocorreram apenas eventos
505 endotérmicos, o primeiro na temperatura de 101,86 °C, referente à perda de umidade na
506 mistura. O segundo em 147,23 °C provavelmente relacionado ao retardamento do
507 processo de fusão do fármaco. E o terceiro em 204,84 °C, também atribuído ao
508 retardamento do início da decomposição da mistura. Os picos exotérmicos presentes no
509 fármaco e na mistura foram suprimidos, o que caracteriza uma possível
510 incompatibilidade entre o fármaco e o extrato nebulizado de *P. pyramidalis* (Tabela
511 4//Fig 3E).

512 Na curva DTA da nitrofurantoína, observou-se um evento endotérmico apenas
513 em 272,07 °C. A ausência de eventos anteriores indica que a amostra estava
514 completamente livre de umidade. O primeiro evento observado está relacionado ao
515 início de decomposição do fármaco, o qual deve acontecer em temperaturas acima de
516 270 °C [94]. Observou-se ainda um último pico endotérmico em 307,84 °C, finalizando
517 o seu processo de decomposição. Na mistura foram observados dois eventos

518 exotérmicos. O primeiro em 263,06 °C, referente à antecipação do processo de
519 decomposição da nitrofurantoína. E o outro, em 423,83 °C, que corresponde a
520 degradação do extrato. Isto indica que provavelmente deve ocorrer uma forte
521 incompatibilidade entre o fármaco e as substâncias presentes no extrato (Tabela 4).

522 A curva DTA da ceftriaxona mostrou dois eventos endotérmicos em 80,90 °C,
523 atribuído ao processo de desidratação da amostra; e o segundo em 148,22 °C,
524 provavelmente responsável pelo início do processo fusão/decomposição do fármaco,
525 tendo em vista que ao ser aquecido a mais de 155 °C [94,99] a ceftriaxona se funde com
526 decomposição. O último pico exotérmico em 270,27 °C, que corresponde a continuação
527 do processo de decomposição do fármaco [100]. A curva DTA da mistura binária
528 ceftriaxona + extrato mostraram dois eventos endotérmicos e três exotérmicos. Os
529 primeiro endotérmicos em 85,12 e 154,40 °C correspondem aos dois primeiros picos
530 observados no fármaco. Assim como, o primeiro exotérmico, que ocorreu em 273,23
531 °C, embora com um retardamento. O segundo pico exotérmico, na temperatura de
532 356,14 °C, provavelmente é o primeiro pico de decomposição do extrato que foi
533 antecipado. E, o último pico exotérmico em 546,50 °C corresponde ao retardamento do
534 processo final de decomposição do extrato (Tabela 4/Fig 3G).

535 A curva da gentamicina apresentou três picos endotérmicos. O primeiro em
536 75,05 °C está relacionado à perda de água da amostra, enquanto o segundo e o terceiro,
537 que ocorreram em 252,84 °C e 299,71 °C. De acordo com o Merck Index [94] o ponto
538 de fusão do sulfato de gentamicina ocorre entre 218 e 237°C. Aquino et al. [101]
539 relatam que o sulfato de gentamicina, matéria-prima é caracterizada por uma série de
540 picos endotérmicos relacionados com a fusão das diferentes isoformas. Na curva da
541 mistura binária os três picos endotérmicos observados correspondem aos do fármaco. O
542 primeiro pico ocorreu em 67,93 °C, enquanto o segundo e o terceiro ocorreram em

543 252,46 °C e 299,15 °C respectivamente. A temperatura dos dois últimos picos ocorreu
544 muito próxima à dos picos do fármaco (Tabela 4/ Fig 3H).

545 A curva DTA da Cefepima apresentou três picos endotérmicos e um exotérmico.
546 Os dois primeiros ocorreram em 50,13 °C e 117,38 °C e estão relacionados à perda de
547 umidade da amostra. O terceiro em 182,04 °C está ligado ao processo de fusão do
548 fármaco, que ocorre próximo a 182°C [102]. O último pico, exotérmico, 645,78 °C está
549 relacionado com o processo de degradação do fármaco. Na mistura Cefepima + extrato,
550 foram mantidos os três primeiros picos do fármaco, que ocorreram respectivamente em
551 69,05 °C, 108,11 °C e 186,27 °C. Com relação ao último pico, houve retardamento do
552 ponto de fusão do fármaco (Tabela 4/ Fig 3I).

553 O cloranfenicol apresentou dois eventos exotérmicos em 184,87 °C e 279,09 °C,
554 provavelmente ligados ao processo de fusão e decomposição do fármaco. Estes
555 resultados contrastam os encontrados por Macedo et al., [103], onde o processo de fusão
556 do Cloranfenicol foi observado em 155,2°C e o evento exotérmico, característico da
557 decomposição do fármaco ocorreu em 244,1 e 257,8 °C.

558

559 **Termogravimetria (TG)**

560 Nas curvas TG das amostras foram observados seus processos de decomposição
561 térmica. A primeira, quando ocorre em temperatura até 100 °C é referente à perda de
562 umidade da amostra, que no caso do extrato nebulizado de *P. pyramidalis* foi de 6,36 %.
563 A segunda etapa é atribuída a principal etapa de decomposição, pois indica o início do
564 seu processo de degradação, que para este extrato ocorreu na temperatura de 208,99 °C,
565 com perda de massa de 14,67 % (Tabela 5/ Fig 4). Durante essa etapa, muitas cadeias
566 químicas são quebradas, originando, provavelmente, dióxido de carbono, outros tipos de
567 gases e novos compostos, que se juntam, formando compostos mais estáveis, os quais se

568 decompõem posteriormente em temperaturas maiores. A partir da segunda etapa ocorre
569 uma progressiva perda de massa, que corresponde a todo processo de decomposição
570 térmica da amostra analisada.

571 No final do processo de decomposição, que ocorre geralmente acima de 400 °C,
572 verifica-se a presença de um resíduo mineral. Esse resíduo corresponde ao teor de
573 cinzas da amostra, que no caso do extrato de *P. pyramidalis* foi de 58,84 %, ocorrido
574 numa faixa de temperatura de 370,02 a 429,47 °C. Para o ENPp este resíduo foi alto,
575 devido ao extrato ter sido seco utilizando 20 % de dióxido de silício coloidal, que é uma
576 sílica amorfa que só se degrada em temperaturas acima de 1600 °C [104].

577 Os fármacos cefalotina, ceftriaxona, ciprofloxacino, clindamicina e cefepima
578 apresentaram três etapas de decomposição térmica, tendo a etapa de degradação, para
579 essas amostras, iniciadas em 206,36 °C (CFL), 263,84 °C (CFO), 130,16 °C (CIP),
580 207,55 °C (CLI) e 189,01 °C (CPM); os antimicrobianos norfloxacino, ampicilina e
581 nitrofurantoína apresentaram quatro, sendo a primeira etapa iniciada nas temperaturas
582 de 206,36 °C (NOR), 209,52 °C (AMP), 236,47 °C (NIT) e 244,38 °C (GEN). O
583 cloranfenicol, por sua vez, apresentou cinco etapas de decomposição, sendo, a primeira
584 delas, iniciada à 194,03 °C (Table 5/ Fig 4).

585 As curvas TG das misturas binárias mostraram que as misturas produzidas com
586 todos os fármacos anteciparam o processo de degradação do extrato, exceto cefepima.
587 Entretanto, ao comparar as curvas da gentamicina com sua respectiva mistura binária,
588 observa-se que a diferença entre as temperaturas em que se iniciaram os processos de
589 decomposição da amostra é muito pequena.

590

591 **Fig. 4. Curvas TG do extrato de *P. pyramidalis*, antimicrobianos e suas misturas**
592 **binárias.** (A) Norfloxacino, (B) Ampicilina, (C) Cefalotina, (D) Ciprofloxacino, (E)

593 Clindamicina, (F) Nitrofurantoína, (G) Ceftriaxona, (H) Gentamicina, (I) Cefepima, (J)

594 Chloramfenicol.

595

596 **Tabela 5. Dados TG referentes às etapas de decomposição do extrato de *P.***

597 *pyramidalis*, antibiótico e misturas binária produzidas com o extrato +

598 antibióticos.

Amostras	Etapas de decomposição	Pico (°C)	T_{inicial} (°C)	T_{final} (°C)	Perda de Massa (%)
ENPp	Primeira	47,22	46,50	55,58	6,36
	Segunda	208,99	205,35	251,87	14,67
	Terceira	372,83	370,02	429,47	58,84
NOR	Primeira	49,33	56,42	72,74	7,49
	Segunda	213,52	206,36	226,52	6,32
	Terceira	327,44	315,94	352,93	32,98
	Quarta	402,99	361,52	405,21	34,32
NOR + ENPp	Primeira	61,28	38,93	70,41	8,24
	Segunda	195,49	191,55	220,03	7,28
	Terceira	309,93	309,47	350,87	25,28
	Quarta	412,53	439,86	454,78	27,21
	Quinta	579,67	579,15	628,55	21,25
AMP	Primeira	214,03	209,52	219,07	21,54
	Segunda	309,64	282,31	363,28	49,45
	Terceira	630,61	612,64	688,57	25,17
AMP + ENPp	Primeira	210, 24	204,34	219,26	12,05
	Segunda	324,42	275,73	372,71	35,87

CIP	Primeira	135,48	130,16	148,40	5,27
	Segunda	318,68	313,65	328,46	23,34
	Terceira	405,29	397,04	430,70	43,86
CIP + ENPp	Primeira	123,77	122,74	129,57	3,72
	Segunda	264,45	278,45	299,12	25,95
	Terceira	290,34	256,13	338,95	35,23
	Quarta	457,34	423,66	455,81	20,25
NIT	Primeira	271,02	264,20	282,79	6,43
	Segunda	303,75	303,21	319,25	42,78
	Terceira	376,93	352,38	415,19	19,13
NIT + ENPp	Primeira	247,51	236,47	270,91	22,50
	Segunda	322,51	319,26	353,90	18,26
CFL	Primeira	210,74	206,72	218,71	28,345
	Segunda	341,06	298,46	352,20	14,764
	Terceira	719,30	697,68	791,70	39,79
CFL + ENPp	Primeira	207,79	201,62	219,15	27,971
	Segunda	389,34	324,64	453,68	11,98
	Terceira	610,88	589,22	649,52	4,96
CLI	Primeira	46,69	42,78	58,64	6,98
	Segunda	250,42	207,55	272,20	55,29
	Terceira	766,75	755,71	817,99	9,05
CLI + ENPp	Primeira	47,76	36,61	67,85	8,49
	Segunda	229,07	227,72	259,92	28,32
	Terceira	438,59	335,54	457,74	34,06

CFO	Primeira	269,98	263,73	276,15	18,05
	Segunda	375,72	322,28	433,14	30,42
	Terceira	717,90	705,93	736,42	18,14
CFO + ENPp	Primeira	68,76	43,99	79,59	7,22
	Segunda	261,73	249,90	337,64	21,17
	Terceira	408,28	398,03	466,95	53,87
GEN	Primeira	59,95	44,38	78,07	11,59
	Segunda	244,75	244,38	251,95	14,95
	Terceira	292,52	286,43	312,20	24,23
	Quarta	543,41	535,33	624,33	40,98
GEN + ENPp	Primeira	67,13	49,74	83,01	9,48
	Segunda	242,30	238,64	248,33	7,22
	Terceira	280,31	233,61	288,28	20,85
	Quarta	478,04	322,43	494,81	47,07
COM	Primeira	60,45	60,19	89,23	3,63
	Segunda	247,18	189,01	273,26	49,05
	Terceira	667,30	626,11	755,86	39,37
CPM + ENPp	Primeira	56,40	46,89	75,56	6,29
	Segunda	248,02	192,76	303,48	39,55
	Terceira	647,30	566,36	740,84	30,48
CLO	Primeira	47,86	36,27	62,29	2,74
	Segunda	203,63	194,03	214,24	7,68
	Terceira	264,21	260,75	288,74	33,06
	Quarta	346,58	303,51	354,01	16,73

	Quinta	641,83	583,70	695,46	35,69
CLO+ ENPp	Primeira	56,61	35,22	83,65	6,15
	Segunda	199,55	198,99	215,83	6,38
	Terceira	257,07	251,88	286,43	21,96
	Quarta	406,45	316,88	434,58	26,16
	Quinta	743,16	729,41	859,19	25,39

599

600 NOR = Norfloxacino; AMP = Ampicilina; CFL = Cefalotina; CIP = Ciprofloxacino;

601 CLI = Clindamicina; NIT = Nitrofurantoína; CFO = Ceftriaxona; GEN = Gentamicina;

602 CPM = Cefepima; CLO = Cloranfenicol;

603

604 Conclusão

605 Os resultados obtidos neste trabalho indicam que o extrato nebulizado da casca
 606 de *P. pyramidalis* apresenta significativa ação antioxidante sobre radicais DPPH. O
 607 extrato não apresentou atividade antimicrobiana significativa, porém, ao ser combinado
 608 com determinados antibióticos sintéticos, reduziu significativamente a CIM sobre cepas
 609 multirresistentes. As curvas TG/DTA dos antimicrobianos e de suas misturas binárias
 610 com o extrato indicam possível interação físico-química entre o extrato e antibióticos
 611 cuja mistura com o extrato não exibiu efeito aditivo.

612 O extrato nebulizado de *P. pyramidalis* apresenta significativo potencial para
 613 utilização como componente adjuvante de formulações a serem utilizadas na terapia
 614 antimicrobiana sobre cepas Gram negativas, sendo uma alternativa promissora para o
 615 combate a bactérias multirresistentes.

616 Referências

- 617 1. Kumar A, Schweizer HP. Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and
618 reduced uptake. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005; 57: 1486-1513. doi:
619 [10.1016/j.addr.2005.04.004](https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.04.004) PMID: [15939505](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15939505/)
- 620 2. Pogue JM, Kaye KS, Cohen DA, Marchaim D. Appropriate Antimicrobial
621 Therapy in the Era of Multidrug Resistant Human Pathogens. *Clin Microbiol*
622 *Infect.* 2015; 21: 302-312. doi: [10.1016/j.cmi.2014.12.025](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.12.025) PMID: [25743999](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25743999/)
- 623 3. Davies, S. C. Annual Report of the Chief Medical Officer, Volume Two, 2011,
624 Infections and the rise of antimicrobial resistance. Department of Health,
625 London, 2013.
- 626 4. World Economic Forum. Global Risks 2014. Available:
627 <http://www.weforum.org/reports/global-risks-2014-report>.
- 628 5. Poole K. Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. 2001; 4: 500-508. doi:
629 [10.1016/S1369-5274\(00\)00242-3](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(00)00242-3) PMID: [11587924](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11587924/)
- 630 6. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al.
631 International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care
632 units. *JAMA.* 2009; 302: 2323–2329. doi: [10.1001/jama.2009.1754](https://doi.org/10.1001/jama.2009.1754) PMID:
633 [19952319](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19952319/)
- 634 7. Karaiskos I, Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant
635 Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert*
636 *Opin Pharmacother.* 2014; 10: 1351-1370. [10.1517/14656566.2014.914172](https://doi.org/10.1517/14656566.2014.914172)
637 PMID: [24766095](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24766095/)
- 638 8. Rossolini GM, Arena F, Pecile P, Pollini S. Update on the antibiotic resistance
639 crisis. *Curr Opin Pharmacol.* 2014;18: 56–60. doi: [10.1016/j.coph.2014.09.006](https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.09.006)
640 PMID: [25254623](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25254623/)

- 641 9. Taylor PW. Alternative natural sources for a new generation of antibacterial
642 agents. Int J Antimicrob Agents. 2013; 42: 195-201. doi:
643 [10.1016/j.ijantimicag.2013.05.004](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.05.004) PMID: [23796893](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23796893/)
- 644 10. Kalana L, Wrigh GD. Antibiotic adjuvants: multicomponent anti-infective
645 strategies. Expert Rev Mol Med. 2011; e5. doi:
646 <http://dx.doi.org/10.1017/S1462399410001766> PMID: [21342612](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21342612/)
- 647 11. Bernal P, Molina-Santiago C, Daddaoua A, Llamas MA. Antibiotic adjuvants:
648 identification and clinical use. Microb Biotechnol. 2013; 6: 445-449. doi:
649 [10.1111/1751-7915.12044](https://doi.org/10.1111/1751-7915.12044) PMID: [23445397](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23445397/)
- 650 12. Gill EE, Franco OL, Hancock REW. Antibiotic Adjuvants: Diverse Strategies
651 for Controlling Drug-Resistant Pathogens. Chem Biol Drug Des. 2015; 85: 56-
652 78. doi: [10.1111/cbdd.12478](https://doi.org/10.1111/cbdd.12478) PMID: [25393203](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25393203/)
- 653 13. Farha MA, Brown ED. Discovery of antibiotic adjuvants. Nat Biotechnol. 2013;
654 31: 120-122. doi: [10.1038/nbt.2500](https://doi.org/10.1038/nbt.2500) PMID: [23392510](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23392510/)
- 655 14. Mabona U, Viljoen A, Shikanga E, Marston A, Van Vuuren S. Antimicrobial
656 activity of southern African medicinal plants with dermatological relevance:
657 From an ethnopharmacological screening approach, to combination studies and
658 the isolation of a bioactive compound. J Ethnopharmacol. 2013; 148: 45–55.
659 doi: [10.1016/j.jep.2013.03.056](https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.056) PMID: [23545456](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23545456/)
- 660 15. Madikizela B, Aderogba MA, Finnie JF, Van Staden J. Isolation and
661 characterization of antimicrobial compounds from *Terminalia phanerophlebia*
662 Engl. & Diels leaf extracts. J Ethnopharmacol. 2014; 156: 228–234. doi:
663 [10.1016/j.jep.2014.09.003](https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.09.003) PMID: [25218320](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25218320/)
- 664 16. Vieira DRP, Amaral FMM, Maciel MCG, Nascimento FRF, Libério SA,
665 Rodrigues VP. Plant species used in dental diseases: Ethnopharmacology

- 666 aspects and antimicrobial activity evaluation. J Ethnopharmacol. 2014; 155:
667 1441–1449. doi: [10.1016/j.jep.2014.07.021](https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.07.021) PMID: [25046828](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25046828/)
- 668 17. Gibbons S. Anti-staphylococcal plant natural products. Nat Prod Rep. 2004; 21:
669 263–277. doi: [10.1039/B212695H](https://doi.org/10.1039/B212695H) PMID: [15042149](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15042149/)
- 670 18. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of
671 tomorrow. Mol Aspects Med. 2006; 27: 1–93. doi: [10.1016/j.mam.2005.07.008](https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.008)
672 PMID: [16105678](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16105678/)
- 673 19. Hemaiswarya S, Kruthiventi AK, Doble M. Synergism between natural products
674 and antibiotics against infectious diseases. Phytomedicine. 2008; 15: 639–652.
675 doi: [10.1016/j.phymed.2008.06.008](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.06.008) PMID: [18599280](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18599280/)
- 676 20. Queiroz LP. New combinations in *Libidibia* (DC.) Schltd. and *Poincianella*
677 Britton & Rose (Leguminosae, Caesalpinioideae). Neodiversity. 2010;5:11-12.
678 doi: [10.13102/neod.51.3](https://doi.org/10.13102/neod.51.3)
- 679 21. Silva ACO, Albuquerque UP. Woody medicinal plants of the Caatinga in the
680 state of Pernambuco (Northeast Brazil). Acta bot bras. 2005; 19: 17-26. doi:
681 [10.1590/S0102-33062005000100003](https://doi.org/10.1590/S0102-33062005000100003)
- 682 22. Agra MF, Baracho GS, Nurit K, Basílio IJLD, Coelho VPM. Medicinal and
683 poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. J Ethnopharmacol.
684 2007; 111: 383–395. doi: [10.1016/j.jep.2006.12.007](https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.12.007) PMID: [17236731](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17236731/)
- 685 23. Albuquerque UP, Medeiros PM, Almeida ALS, Monteiro JM, Lins Neto EMF,
686 Melo JG, et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE
687 Brazil: A quantitative approach. J Ethnopharmacol. 2007; 114: 325–354, 2007.
688 doi: [10.1016/j.jep.2007.08.017](https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.08.017) PMID: [17900836](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17900836/)
- 689 24. Lucena RFP, Albuquerque UP, Monteiro JM, Almeida CFCBR, Florentino
690 ATN, Ferraz JSF. Useful Plants of the Semi-Arid Northeastern Region of Brazil

- 691 – A Look at their Conservation and Sustainable Use. *Environ Monit Assess.*
692 2007; 125: 281–290. doi: [10.1007/s10661-006-9521-1](https://doi.org/10.1007/s10661-006-9521-1) PMID: [17219240](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17219240/)
- 693 25. Lucena RFP, Nascimento VT, Araújo EL, Albuquerque UP. Local Uses of
694 Native Plants in an Area of Caatinga Vegetation (Pernambuco, NE Brazil).
695 *Ethnobotany Research & Applications* 2008; 6: 003-013, 2008.
- 696 26. Cartaxo SL, Souza MMA, Albuquerque UP. Medicinal plants with
697 bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. *J*
698 *Ethnopharmacol.* 2010; 131: 326–342. doi: [10.1016/j.jep.2010.07.003](https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.003) PMID:
699 [20621178](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20621178/)
- 700 27. Silva FS, Ramos MA, Hanazaki N, Albuquerque UP. Dynamics of traditional
701 knowledge of medicinal plants in a rural community in the Brazilian semi-arid
702 region. *Braz J Pharmacogn.* 2011; 21: 382-391. doi: [10.1590/S0102-](https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000054)
703 [695X2011005000054](https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000054)
- 704 28. Lima MRF, Luna JS, Santos AF, Andrade MCC, Santana AEG, Genet JP, et al.
705 Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*
706 2006; 105: 137–147. doi: [10.1016/j.jep.2005.10.026](https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.10.026) PMID: [16356672](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16356672/)
- 707 29. Saraiva AM, Saraiva CL, Gonçalves AM, Soares RR, Mendes FO, Cordeiro RP,
708 et al. Antimicrobial activity and bioautographic study of antistaphylococcal
709 components from *Caesalpinia pyramidalis* Tull. *Braz. J. Pharm. Sci.* 2012; 48:
710 147-154. doi: [10.1590/S1984-82502012000100016](https://doi.org/10.1590/S1984-82502012000100016)
- 711 30. Cruz MCS, Santos PO, Barbosa JRAM, Melo DLFM, Alviano CS, Antonioli
712 AR, et al. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular
713 treatment of mycoses. *J Ethnopharmacol.* 2007; 111: 409–412. doi:
714 [10.1016/j.jep.2006.12.005](https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.12.005) PMID: [17234376](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17234376/)

- 715 31. Alviano WS, Alviano DS, Diniz CG, Antonioli AR, Alviano C, Farias LM, et
716 al. In vitro antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities
717 against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. Arch. Oral Biol. 2008;
718 53: 545–552. doi: [10.1016/j.archoralbio.2007.12.001](https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2007.12.001) PMID: [18243157](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18243157/)
- 719 32. Ribeiro AR, Diniz PF, Estevam CS, Pinheiro M, Albuquerque-Jr RLC,
720 Thomazzi S. Gastroprotective activity of the ethanol extract from the inner bark
721 of *Caesalpinia pyramidalis* in rats. J Ethnopharmacol. 2013; 147: 383–388. doi:
722 [10.1016/j.jep.2013.03.023](https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.023) PMID: [23506986](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23506986/)
- 723 33. Santos AC, Ailane MPR, Passos FCA, Camargo EA, Estevam CS, Santos MRV,
724 et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Caesalpinia pyramidalis*
725 in rodents. Braz. J. Pharmacogn. 2011; 21: 1077-1083. doi: [10.1590/S0102-](https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000179)
726 [695X2011005000179](https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000179)
- 727 34. Borges-dos-Santos RR, Santos JLL, Farouk Z, David JM, David JP, Lima JWM.
728 Biological Effect of Leaf Aqueous Extract of *Caesalpinia pyramidalis* in Goats
729 Naturally Infected with Gastrointestinal Nematodes. Evid. Based.
730 Complementary Altern. Med. 2012. doi: [10.1155/2012/510391](https://doi.org/10.1155/2012/510391)
- 731 35. Chaves TP, Santana CP, Vêras G, Brandão DO, Felismino DC, Medeiros ACD,
732 et al. Seasonal variation in the production of secondary metabolites and
733 antimicrobial activity of two plant species used in Brazilian traditional medicine.
734 Afr J Biotechnol. 2013; 12: 847-853. doi: [10.5897/AJB12.2579](https://doi.org/10.5897/AJB12.2579)
- 735 36. Makkar HPS, Becker K. Vanillin-HCl method for condensed tannins: Effect of
736 organic solvents used for extraction of tannins. J Chem Ecol. 1993; 4: 613-621.
737 doi: [10.1007/BF00984996](https://doi.org/10.1007/BF00984996). PMID: [24249005](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24249005/)
- 738 37. Makkar HPS, Siddhuraju P, Becker K. Plant Secondary Metabolites. Totowa,
739 New Jersey: Humana Press; 2007.

- 740 38. Dhar P, Bajpai PK, Tayade AB, Chaurasia OB, Srivastava RB, Singh SB.
741 Chemical composition and antioxidant capacities of phytoextracts from
742 trans-Himalayan cold desert. *BMC Complement Altern Med* 2013; 13: 259. doi:
743 [10.1186/1472-6882-13-259](https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-259) PMID: [24098968](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24098968/)
- 744 39. Kroyer GT. Red clover extract as antioxidant active and functional food
745 ingredient. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2004; 5: 101-105. doi:
746 [10.1016/S1466-8564\(03\)00040-7](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(03)00040-7)
- 747 40. Prakash D, Upadhyay G, Singh BN, Singh HB. Antioxidant and free radical-
748 scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean
749 (*Glycine max*). *Food Chem.* 2007, 104: 783–790. doi:
750 [10.1016/j.foodchem.2006.12.029](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.029)
- 751 41. CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012. Performance
752 Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty Second
753 Informational Supplement, ninth ed. Document M100–S22. Pennsylvania, USA:
754 NIH.
- 755 42. Coutinho HDM, Costa JGM, Lima EO, Falcão-Silva VS, Siqueira-Júnior JP.
756 Herbal therapy associated with antibiotic therapy: Potentiation of the antibiotic
757 activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by *Turnera ulmifolia*
758 L. *BMC Complement Altern Med.* 2009; 9: 13–17. doi: [10.1186/1472-6882-9-](https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-13)
759 [13](https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-13) PMID: [19426487](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19426487/)
- 760 43. Almeida RN, Falcão ACGM, Diniz RST, Quintans-Júnior LJ, Polari RN,
761 Barbosa-Filho JM, et al. Metodologia para avaliação de plantas com atividade
762 no sistema nervoso central e alguns dados experimentais. *Bras J Farmacogn.*
763 1999; 80: 72-76.

- 764 44. Robya MHH, Sarhan MA, Selima KAH, Khalel KI. Evaluation of antioxidant
765 activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.),
766 sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. Ind
767 Crops Prod. 2013; 43: 827–831. doi: [10.1016/j.indcrop.2012.08.029](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.08.029)
- 768 45. Monteiro JM, Lins Neto EMF, Amorim ELC, Strattmann RC, Araújo EL,
769 Albuquerque UP. Tannin concentration in three sympatric medicinal plants from
770 caatinga vegetation. Rev Árvore. 2005; 29: 999-1005. doi: [10.1590/S0100-](https://doi.org/10.1590/S0100-67622005000600020)
771 [67622005000600020](https://doi.org/10.1590/S0100-67622005000600020)
- 772 46. Santos CA, Passos AMPR, Andrade FC, Camargo EA, Estevam CS, Santos
773 MRV, Thomazzi SM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of
774 *Caesalpinia pyramidalis* in rodents. Braz J Pharmacogn. 2011; 21: 1077-1083
775 doi: [doi: 10.1590/S0100-67622005000600020](https://doi.org/10.1590/S0100-67622005000600020)
- 776 47. Santana DG, Santos CA, Santos ADC, Nogueira PCL, Thomazzi SM, Estevam
777 CH, et al. Beneficial effects of the ethanol extract of *Caesalpinia pyramidalis* on
778 the inflammatory response and abdominal hyperalgesia in rats with acute
779 pancreatitis. J Ethnopharmacol. 2012; 142: 445–455. doi:
780 [10.1016/j.jep.2012.05.015](https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.05.015) PMID: [22626927](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22626927/)
- 781 48. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and
782 disease. J Am Oil Chem Soc. 1998, 75: 199–212. doi: [10.1007/s11746-998-](https://doi.org/10.1007/s11746-998-0032-9)
783 [0032-9](https://doi.org/10.1007/s11746-998-0032-9)
- 784 49. Halliwell B, Murcia MA, Chirico S, Aruoma OI. Free radicals and antioxidants
785 in food and in vivo: What they do and how they work. Crit Rev Food Sci Nutr.
786 1995; 35: 7-20. doi: [10.1080/10408399509527682](https://doi.org/10.1080/10408399509527682) PMID: [7748482](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7748482/)
- 787 50. Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of
788 free radical damage: Applications in experimental animals and in humans. Free

- 789 Radic Biol Med. 1996; 26: 202-26. doi: [10.1016/S0891-5849\(98\)00196-8](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00196-8)
790 PMID: [9890655](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9890655/)
- 791 51. Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant
792 properties of flavonoids. Fitoterapia. 2011; 82: 513–523. doi:
793 [10.1016/j.fitote.2011.01.018](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.018) PMID: [21277359](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21277359/)
- 794 52. González-Burgos E, Gómez-Serranillos MP. Terpene Compounds in Nature: A
795 Review of Their Potential Antioxidant Activity. Curr Med Chem. 2012;19:
796 5319-5341. doi: [10.2174/092986712803833335](https://doi.org/10.2174/092986712803833335) PMID: [22963623](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22963623/)
- 797 53. Choi DY, Lee YJ, Hong JT, Lee HJ. Antioxidant properties of natural
798 polyphenols and their therapeutic potentials for Alzheimer's disease. Brain Res
799 Bull. 2012; 87: 144–153. doi: [10.1016/j.brainresbull.2011.11.014](https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.11.014) PMID:
800 [22155297](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22155297/)
- 801 54. Hatano T, Edamatsu R, Mori A, Fujita Y, Yasuhara E. Effect of interaction of
802 tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related
803 polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical. Chem Pharm
804 Bull. 1989; 37: 2016-2021.
- 805 55. Duh PD, Tu YY, Yen GC. Antioxidant Activity of Water Extract of Harnng Jyur
806 (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). Food Sci Technol. 1999; 32: 269-277. doi:
807 [10.1006/fstl.1999.0548](https://doi.org/10.1006/fstl.1999.0548)
- 808 56. Strlič M, Radovič T, Kolar J, Pihlar B. Anti- and Prooxidative Properties of
809 Gallic Acid in Fenton-Type Systems. J. Agric. Food Chem. 2002; 50: 6313-
810 6317. doi: [10.1021/jf025636j](https://doi.org/10.1021/jf025636j)
- 811 57. Yen GC, Duh PD, Tsai HL. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic
812 acid and gallic acid. Food Chem. 2002; 79: 307–313. doi: [10.1016/S0308-
813 8146\(02\)00145-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00145-0)

- 814 58. Yilmaz Y, Toledo RT. Major Flavonoids in Grape Seeds and Skins: Antioxidant
815 Capacity of Catechin, Epicatechin, and Gallic Acid. *J. Agric. Food Chem.* 2004;
816 52: 255-260. doi: [10.1021/jf030117h](https://doi.org/10.1021/jf030117h)
- 817 59. Dall'Agnol R, Ferraz A, Bernardi AP, Albring DC, Sarmento L, Lamb L, et al.
818 Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. *Phytomedicine.* 2003; 10:
819 511-516. doi: [10.1078/094471103322331476](https://doi.org/10.1078/094471103322331476) PMID: [13678236](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13678236/)
- 820 60. Ríos JL, Recio MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. *J*
821 *Ethnopharmacol.* 2005; 100: 80–84. doi: [10.1016/j.jep.2005.04.025](https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.025) PMID:
822 [15964727](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15964727/)
- 823 61. Silva CHTP, Peixoto Sobrinho TJP, Saraiva AM, Pisciotano MNC, Amorim
824 ELC. Phytochemical profile and antibacterial activity of bark and leaves of
825 *Caesalpinia pyramidalis* Tul. and *Sapium glandulosum* (L.) Morong. *J Med*
826 *Plants Res.* 2012; 6: 4766-4771. doi: [10.5897/JMPR12.830](https://doi.org/10.5897/JMPR12.830)
- 827 62. Chanwitheesuk A, Teerawutgulrag A, Kilburn JD, Rakariyatham N.
828 Antibacterial activity of Gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. *Food*
829 *Chem.* 2007;100:1044-48. doi: [10.1016/j.foodchem.2005.11.008](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.008)
- 830 63. Jayaraman P, Sakharkar MK, Lim CS, Tang TH, Sakharkar KR. Activity and
831 interactions of antibiotic and phytochemical combinations against *Pseudomonas*
832 *aeruginosa in vitro.* *Int. J. Biol. Sci.* 2010; 6: 556-68.
- 833 64. Borges A, Ferreira C, Saavedra MJ Simões M. Antibacterial Activity and Mode
834 of Action of Ferulic and Gallic Acids Against Pathogenic Bacteria. *Microb Drug*
835 *Resist.* 2013; 19: 256-65. doi: [10.1089/mdr.2012.0244](https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0244)
- 836 65. Sánchez-Maldonado AF, Schieber A, Ganzle MG. Structure-function
837 relationships of the antibacterial activity of phenolic acids and their metabolism

- 838 by lactic acid bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 2011; 111: 1176–1184. doi:
839 [10.1111/j.1365-2672.2011.05141.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05141.x). PMID: [21895894](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21895894/)
- 840 66. Vaquero MJR, Alberto MR, Manca de Nadra MC. Antibacterial effect of
841 phenolic compounds from different wines. *Food Control.* 2007; 18: 93–101. doi:
842 [10.1111/j.1365-2672.2011.05141.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05141.x).
- 843 67. Hancock REW. The bacterial outer membrane as a drug barrier. *Trends*
844 *Microbiol.* 1997; 5: 37–42. doi: [10.1016/S0966-842X\(97\)81773-8](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(97)81773-8) PMID:
845 [9025234](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9025234/)
- 846 68. Savage PB. Multidrug-resistant bacteria: overcoming antibiotic permeability
847 barriers of gram-negative bacteria. *Ann Med.* 2001; 33: 167–171. doi:
848 [10.3109/07853890109002073](https://doi.org/10.3109/07853890109002073) PMID: [11370769](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11370769/)
- 849 69. Denyer SP, Maillard JY. Cellular impermeability and uptake of biocides and
850 antibiotics in Gram-negative bacteria. *J Appl Microbiol.* 2002; 92 Suppl: 35S–
851 45S. doi: [10.1046/j.1365-2672.92.5s1.19.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.92.5s1.19.x) PMID: [12000611](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12000611/)
- 852 70. Denyer SP, Stewart GSAB. Mechanism of action of disinfectants. *Int*
853 *Biodeterior Biodegradation.* 1998; 41: 261–268. doi: [10.1016/S0964-](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(98)00023-7)
854 [8305\(98\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(98)00023-7)
- 855 71. Kotra L.P., Haddad J. and Mobashery S. Aminoglycoside: perspectives on
856 mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance.
857 *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44: 3249–3256. doi:
858 [10.1128/AAC.44.12.3249-3256.2000](https://doi.org/10.1128/AAC.44.12.3249-3256.2000)
- 859 72. Noller HF. Ribosomal RNA and translation. *Annu Rev Biochem.* 1991; 60:191–
860 227. doi: [10.1073/pnas.1402789111](https://doi.org/10.1073/pnas.1402789111)
- 861 73. Dunkle JA, Vinal K, Desai PM, Zelinskaya N, Savic M, West DM, et al.
862 Molecular recognition and modification of the 30S ribosome by the

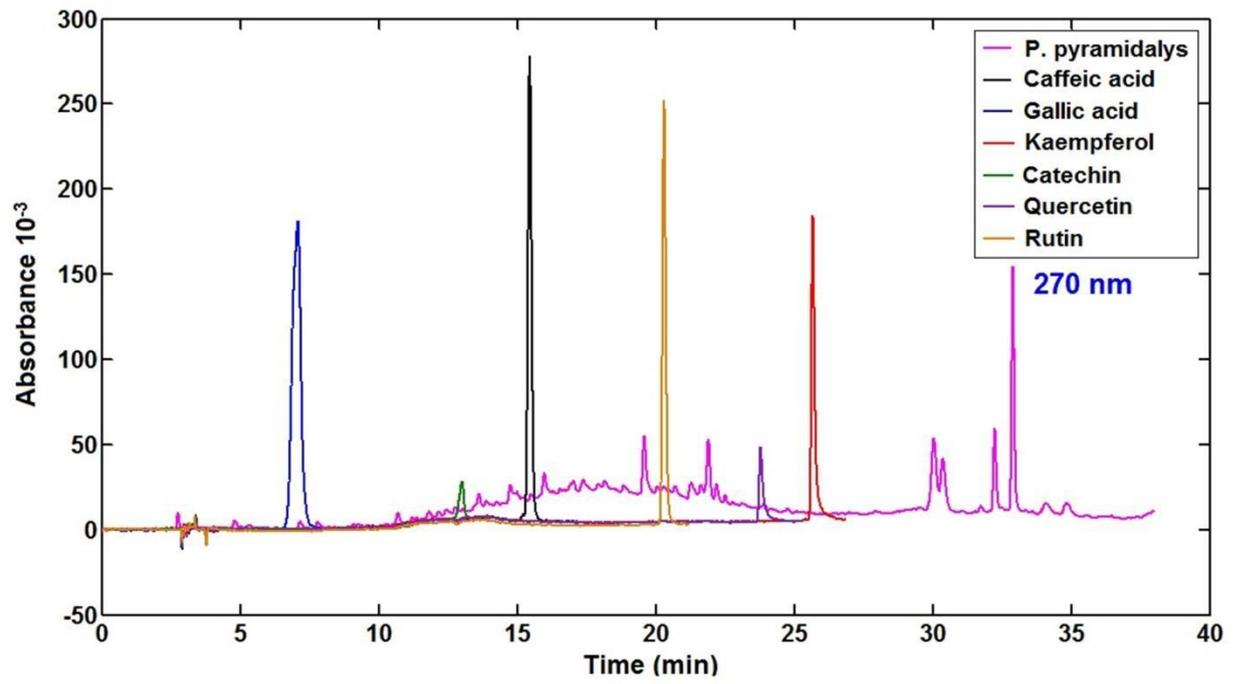
- 863 aminoglycoside-resistance methyltransferase NpmA. Proc Natl Acad Sci U S A.,
864 2014; 111: 6275-6280. doi: [10.1073/pnas.1402789111](https://doi.org/10.1073/pnas.1402789111) PMID: [24717845](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24717845/)
- 865 74. Mingeot-Leclercq MP, Glupczynski Y, Tulkens PM. Aminoglycosides: Activity
866 and Resistance. Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43: 727-737.
- 867 75. Shakil S, Khan R, Zarrilli R, Khan AU. Aminoglycosides versus bacteria – a
868 description of the action, resistance mechanism, and nosocomial battleground. J
869 Biomed Sci. 2008; 15: 5–14. doi: [10.1128/AAC.44.12.3249-3256.2000](https://doi.org/10.1128/AAC.44.12.3249-3256.2000) PMID:
870 [17657587](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17657587/)
- 871 76. Avent, M. L., Rogers, B. A., Cheng, A. C. and Paterson, D. L. Current use of
872 aminoglycosides: indications, pharmacokinetics and monitoring for toxicity. Int
873 Med J. 2011; 41: 441–449. doi: [10.1111/j.1445-5994.2011.02452.x](https://doi.org/10.1111/j.1445-5994.2011.02452.x) PMID:
874 [21309997](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21309997/)
- 875 77. Giamarellou H, Zissis NP, Tagari G, Bouzos J. In vitro synergistic activities of
876 aminoglycosides and new beta-lactams against multiresistant *Pseudomonas*
877 *aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 1984; 25:534– 536. doi:
878 [10.1128/AAC.25.4.534](https://doi.org/10.1128/AAC.25.4.534) PMID: [6428310](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6428310/)
- 879 78. Wu YL, Scott EM, Po AL, Tariq VN. 1999. Ability of azlocillin and tobramycin
880 in combination to delay or prevent resistance development in *Pseudomonas*
881 *aeruginosa*. J Antimicrob Chemoter. 44:389-392. doi: [10.1093/jac/44.3.389](https://doi.org/10.1093/jac/44.3.389)
882 PMID: [6428310](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6428310/)
- 883 79. Sousa EO, Rodrigues FFG, Campos AR, Lima SG, Costa JGM. Chemical
884 composition and synergistic interaction between aminoglycosides antibiotics and
885 essential oil of *Lantana montevidensis* Briq. Nat Prod Res. 2013; 27: 942-945.
886 doi: [10.1080/14786419.2012.678351](https://doi.org/10.1080/14786419.2012.678351) PMID: [22475025](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22475025/)

- 887 80. Barreto HM, Lima IS, Coelho KMRN, Osório LR, Mourão RA, Santos BHC, et
888 al. Effect of *Lippia origanoides* H.B.K. essential oil in the resistance to
889 aminoglycosides in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Eur J Integr
890 Med. 2014; 6: 560-564. doi: [10.1016/j.eujim.2014.03.011](https://doi.org/10.1016/j.eujim.2014.03.011)
- 891 81. Coutinho HDM, Rodrigues FFG, Nascimento EMM, Costa JGM, Falcão-Silva
892 VS, Siqueira-Júnior JP. Synergism of Gentamicin and Norfloxacin with the
893 Volatile Compounds of *Lippia microphylla* Cham. (Verbenaceae). J Essent Oil
894 Res. 2011; 23: 24-28. doi: [10.1080/10412905.2011.9700443](https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700443)
- 895 82. Aqil F, Ahmad I, Owais M. Evaluation of anti-methicillin-resistant
896 *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity and synergy of some bioactive plant
897 extracts. Biotechnol J. 2006; 1: 1093-1102. doi: [10.1002/biot.200600130](https://doi.org/10.1002/biot.200600130) PMID:
898 [17004300](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17004300/)
- 899 83. Coutinho HDM, Costa JGM, Falcão-Silva VS, Siqueira-Júnior JP, Lima EO.
900 Effect of *Momordica charantia* L. in the resistance to aminoglycosides in the
901 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Comp Immunol Microbiol Infect
902 Dis. 2010a; 33: 467-471. doi: [10.1016/j.cimid.2009.08.001](https://doi.org/10.1016/j.cimid.2009.08.001) PMID: [19732954](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19732954/)
- 903 84. Coutinho HDM, Costa JG, Lima EO, Falcão-Silva VS, Siqueira-Júnior JP.
904 Potentiation of antibiotic activity by *Eugenia uniflora* and *Eugenia jambolanum*.
905 J Med Food. 2010b; 13: 1024-1026. doi: [10.1089/jmf.2009.0158](https://doi.org/10.1089/jmf.2009.0158) PMID:
906 [20482280](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20482280/)
- 907 85. Bitu VCN, Fecundo HTF, Costa JGM, Coutinho HDM, Rodrigues FFG, Santana
908 NM, et al. Chemical composition of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer
909 leaves and its potential as modulator of bacterial resistance. Nat Prod Res. 2014;
910 28: 399-402. doi: [10.1080/14786419.2013.867343](https://doi.org/10.1080/14786419.2013.867343) PMID: [24479735](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24479735/)

- 911 86. Figueiredo FG, Lucena BFF, Matias EFF, Tintino SR, Leite NF, Andrade JC, et
912 al. Chemical composition and evaluation of modulatory of the antibiotic activity
913 from extract and essential oil of *Myracrodruon urundeuva*. Pharm Biol. 2014;
914 52: 560-565. doi: [10.3109/13880209.2013.853810](https://doi.org/10.3109/13880209.2013.853810) PMID: [24251788](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24251788/)
- 915 87. Tintino SR, Souza CES, Guedes GMM, Costa JI, Duarte FM, Chaves MCO, et
916 al. Modulatory antimicrobial activity of *Piper arboretum* extracts. Acta Bot
917 Croat. 2014; 73: 281-289. doi: [10.2478/botcro-2013-0026](https://doi.org/10.2478/botcro-2013-0026)
- 918 88. Juven BJ, Kanner J, Schved F, Weisslowicz H. Factors that interact with the
919 antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. J Appl
920 Bacteriol. 1994; 76: 626–631. doi: [10.1111/j.1365-2672.1994.tb01661.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1994.tb01661.x) PMID:
921 [8027009](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8027009/)
- 922 89. Imming P, Sinning C, Meyer A. Drugs, their targets and the nature and number
923 of drug targets. Drug Discov. 2006; 5: 821–834. doi: [10.1038/nrd2132](https://doi.org/10.1038/nrd2132) PMID:
924 [17016423](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17016423/)
- 925 90. Schmidt B, Ribnicky DM, Poulev A, Logendra S, Cefalu WT, Raskin I. A
926 natural history of botanical therapeutics. Metabolism. 2008; 57 (Suppl 1): S3–
927 S9. doi: [10.1016/j.metabol.2008.03.001](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2008.03.001) PMID: [18555851](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18555851/)
- 928 91. Wagner H, Ulrich-Merzenich G. Synergy research: approaching a new
929 generation of phytopharmaceuticals. Phytomedicine. 2009; 16: 97-110. doi:
930 [10.1016/j.phymed.2008.12.018](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.12.018) PMID: [19211237](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19211237/)
- 931 92. Matias EEF, Alves EF, Santos BS, Souza CES, Ferreira JVA, Lavor AKLS, et
932 al. Biological activities and chemical characterization of *Cordia verbenacea* DC
933 as tool to validate the ethnobiological usage. Evid. Based Complement. Alternat.
934 Med. 2013, 1–7. doi: [10.1155/2013/164215](https://doi.org/10.1155/2013/164215)

- 935 93. Sustar B, Bukovec N, Bukovec P. Polymorphism and stability of Norfloxacin,
936 (1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7- (1-piperazinil)-3-quinolinocarboxylic
937 acid. *J Therm Anal.* 1993;40: 475-48. doi: [10.1007/BF02546616](https://doi.org/10.1007/BF02546616)
- 938 94. O'Neil MJ, Heckelman PE, Dobbelaar PH, Roman KJ, Kenny CM, Karaffa LS.
939 *The Merck Index*, 15th ed.; RSC Publishing, 2013.
- 940 95. Baraldi C, Tinti A, Ottanic S, Gamberinia MC. Characterization of polymorphic
941 ampicillin forms. *J Pharm Biomed Anal.* 2014; 100: 329–340. doi:
942 [10.1016/j.jpba.2014.08.021](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.08.021)
- 943 96. Otsuka M, Kaneniwa N. Effect of grinding on the crystallinity and chemical
944 stability in the solid state of cephalothin sodium. *Int J Pharm.* 1990; 62: 65-73.
945 doi: [10.1016/0378-5173\(90\)90031-X](https://doi.org/10.1016/0378-5173(90)90031-X)
- 946 97. Sadeek SA, El-Shwiniy WH, Zordok WA, El-Didamony AM. Spectroscopic,
947 structure and antimicrobial activity of new Y(III) and Zr(IV) ciprofloxacin.
948 *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2011; 78: 854–867. doi:
949 [10.1016/j.saa.2010.12.048](https://doi.org/10.1016/j.saa.2010.12.048)
- 950 98. Dorofeev VL, Arzamastsev AP, Veselova OM. Melting point determination for
951 the analysis of drugs of the fluoroquinolone group. *Pharmaceutical Chemistry*
952 *Journal.* 2004; 38: 333-335. doi: [10.1023/B:PHAC.0000048148.54165.55](https://doi.org/10.1023/B:PHAC.0000048148.54165.55)
- 953 99. Owens HM, Dash AK. Ceftriaxone sodium: comprehensive profile. *Profiles*
954 *Drug Subst Excip Relat Methodol.* 2003; 30: 21-57. doi: [10.1016/S0099-](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(03)30002-4)
955 [5428\(03\)30002-4](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(03)30002-4)
- 956 100. Masoud MS, Ali AE, Elasala GS. Synthesis, spectral, computational and
957 thermal analysis studies of metalloceftriaxone antibiotic. *J Mol Struct.* 2015;
958 1084: 259–273. doi: [10.1016/j.molstruc.2014.11.049](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.11.049)

- 959 101. Aquino RP, Auriemma G, Mencherini T, Russo P, Porta A, Adami R, et al.
960 Design and production of gentamicin/dextrans microparticles by supercritical
961 assisted atomisation for the treatment of wound bacterial infections. *Int J Pharm.*
962 2013; 440: 188– 194. doi: [10.1016/j.ijpharm.2012.07.074](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.07.074)
- 963 102. Ferdous S, Sultan Z, Bashar T, Rahman A, Islam S. *In vitro* and *In vivo*
964 Studies of Drug-Drug Interaction between Metformin and Cefepime. *Pharm*
965 *Anal Acta.* 2015; 6:348. doi: [10.4172/2153-2435.1000348](https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000348)
- 966 103. Macedo RO, Aragão CFS, Nascimento TG, Macêdo AMC. Applications of
967 Thermogravimetry in the quality control of chloramphenicol tablets. *J Therm*
968 *Anal Calorim.* 1999; 56: 1323-1327. doi: [10.1023/A:1010102422381](https://doi.org/10.1023/A:1010102422381)
- 969 104. Flörke OW, Graetsch HA, Brunk F, Benda L, Paschen S, Bergna HE, et al.
970 Silica. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Wiley Online Library,
971 2008. doi: [10.1002/14356007.a23_583.pub3](https://doi.org/10.1002/14356007.a23_583.pub3)
- 972
973
974
975
976
977
978
979
980
981
982
983



984

985

986

987

988

989

990

991

992

993

994

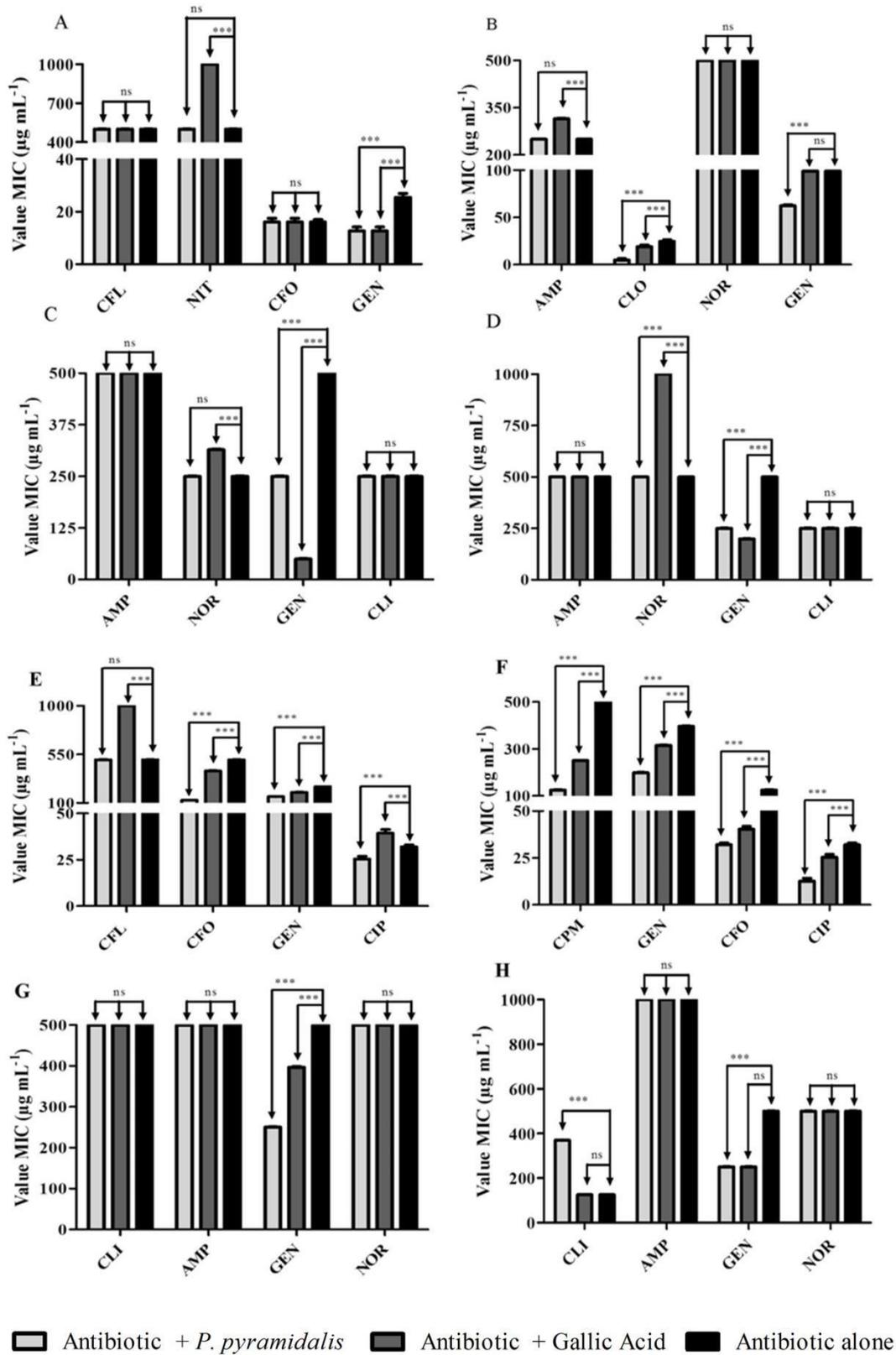
995

996

997

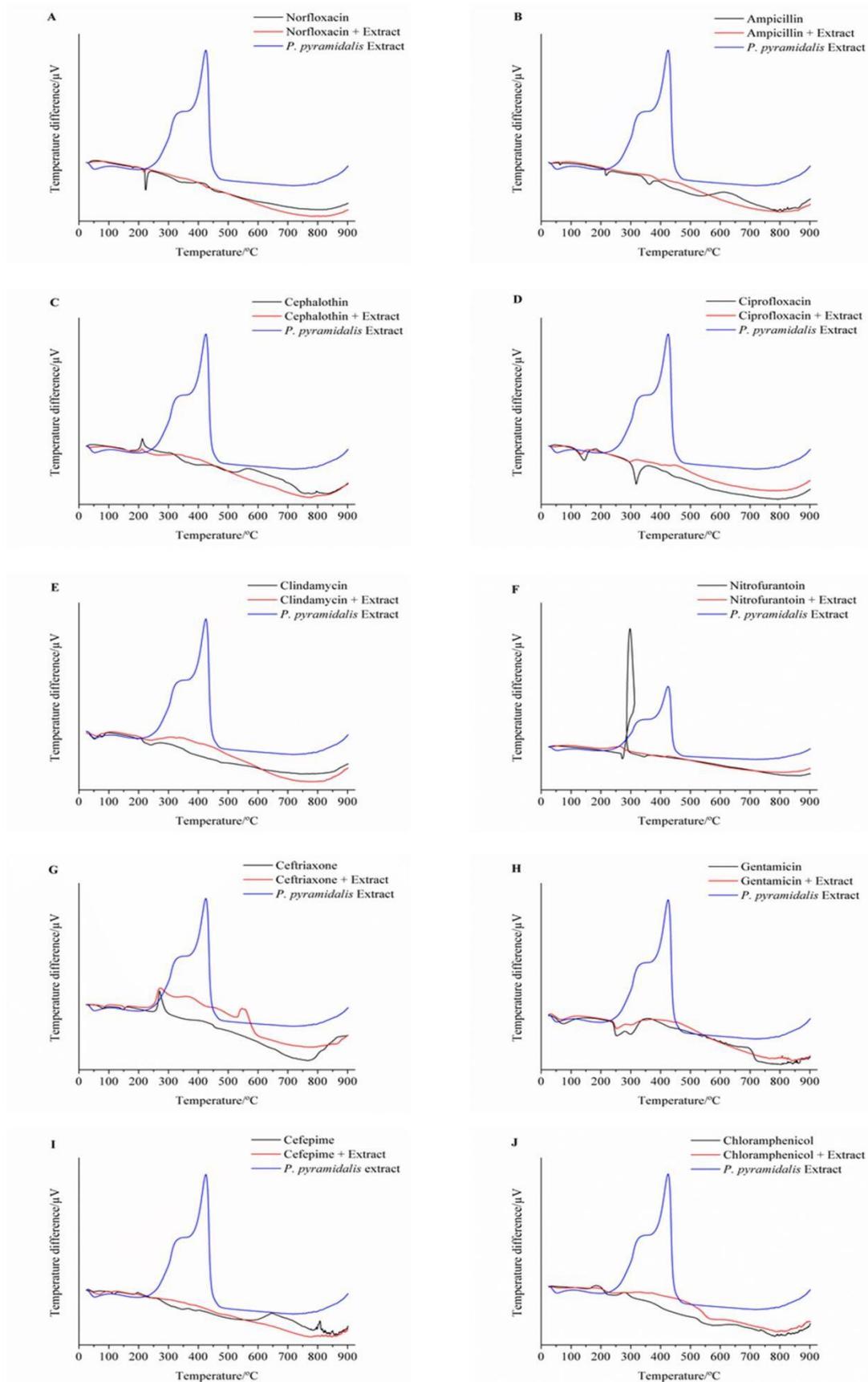
998

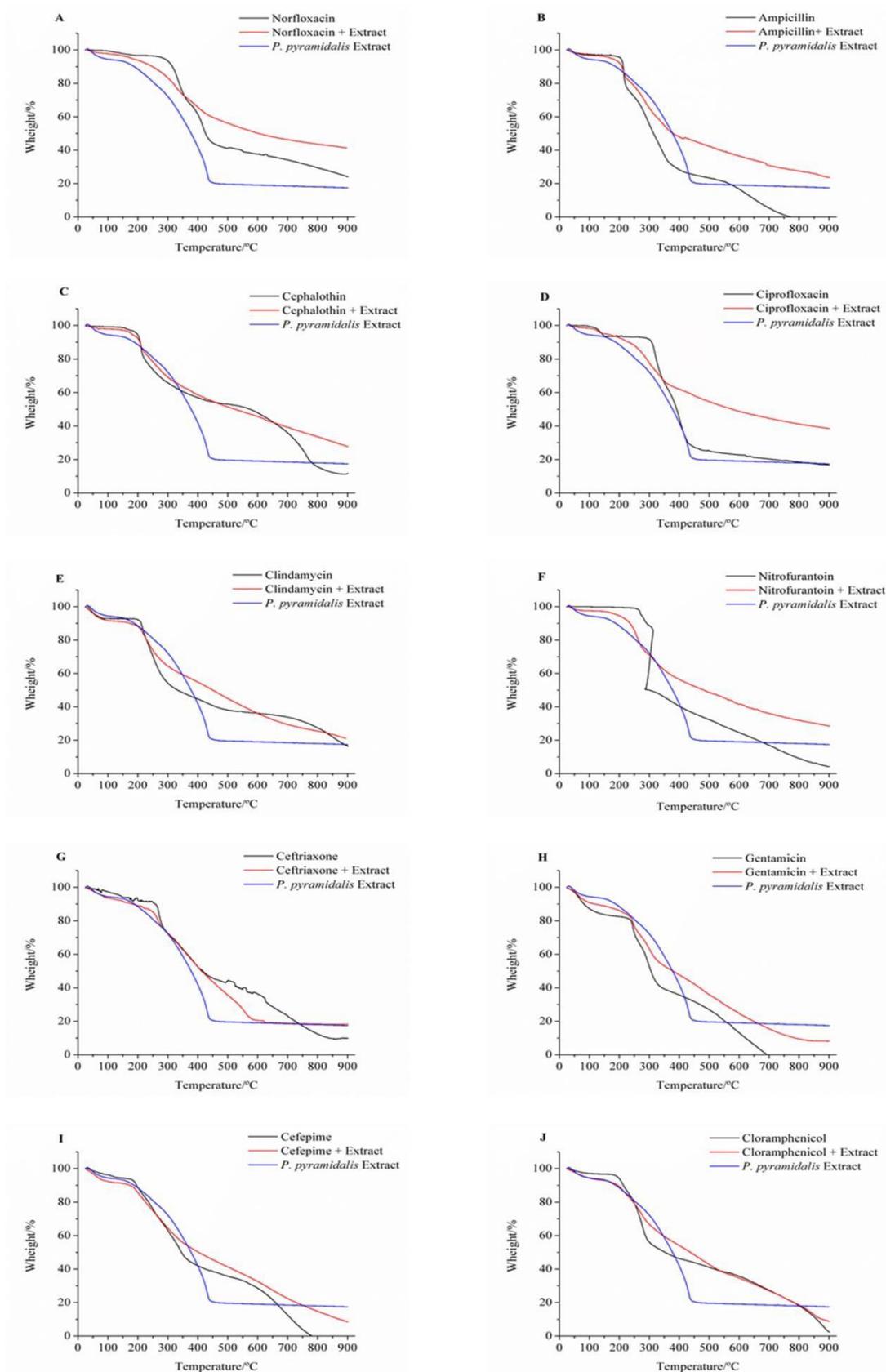
999



1000

1001





CAPÍTULO 4:

**Determinação do marcador químico e
avaliação da toxicidade e das atividades
antimicrobiana e moduladora do extrato
de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P.
Queiroz sobre bactérias Gram positivas**

Determinação do marcador químico e avaliação da mutagenicidade, citotoxicidade e das atividades antimicrobiana e moduladora do extrato de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz sobre bactérias Gram positivas

Thiago P. Chaves^{1,2}, Francinalva D. Medeiros², Jocimar S. Santos², João Marcelo C. Sousa³, Luís Augusto P. Silva⁴, Ana Cláudia D. Medeiros^{2*}

Artigo a ser submetido ao periódico “The Scientific World jornal”

Normas parapublicação no Anexo C

Determinação do marcador químico e avaliação da mutagenicidade, citotoxicidade e das atividades antimicrobiana e moduladora do extrato de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz sobre bactérias Gram positivas

Thiago P. Chaves^{1,2}, Francinalva D. Medeiros², Jocimar S. Santos², João Marcelo C. Sousa³, Luís Augusto P. Silva⁴, Ana Cláudia D. Medeiros^{2*}

¹ Departamento de Ciências da Natureza, Campus Professora Cinobelina Elvas, Universidade Federal do Piauí, 64900-000, Bom Jesus - PI, Brasil.

² Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, 58.429-500, Campina Grande - PB, Brasil.

³ Laboratório de Citogenética e Mutagênese, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros. Universidade Federal do Piauí, 64607-670 Picos - PI, Piauí, Brasil.

⁴ Laboratório de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, 58.429-500, Campina Grande - PB, Brasil.

*Autor para correspondência:

E-mail anaclaudia@uepb.edu.br

RESUMO

Este estudo teve como objetivo determinar o marcador químico e avaliar o potencial do extrato nebulizado de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz (ENPp), como antimicrobiano e modulador da resistência de patógenos orais do gênero *Streptococcus* sobre diferentes insumos ativos farmacêuticos antimicrobianos, além da toxicidade do referido extrato. O marcador químico foi determinado por HPLC-DAD. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) do ENPp e de antimicrobianos na presença e ausência do extrato sobre *S. oralis* e *S. mutans* foi avaliada por microdiluição. Para a determinação da mutagenicidade utilizou-se ensaios *in vivo* com camundongos e a citotoxicidade foi avaliada por modelos *in vitro* e *in vivo*. Detectou-se a presença do polifenol catequina no extrato, o qual pode ser utilizado como marcador químico. O extrato, apresentou atividade antimicrobiana significativa (CIM $\leq 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) sobre ambas as cepas e, ao ser associado a diversos antimicrobianos, reduziu a CIM da maioria destes de maneira

significativa ($P < 0,001$). Apesar de apresentar potencial mutagênico e citotóxico, o extrato apresenta-se promissor para utilização na terapia antimicrobiana.

Introdução

Staphylococcus aureus é um patógeno oportunista que coloniza assintomaticamente a pele humana e as membranas mucosas vivendo como comensal. Esta bactéria é responsável por uma série de doenças e está entre os principais patógenos adquiridos dentro e fora de ambientes hospitalares. *S. aureus* pode infectar todos os tecidos do corpo, causando doenças potencialmente fatais, tais como a osteomielite, endocardite, pneumonia e septicemia [1,2] (O'Riordan e Lee, 2004; Fournier e Philpott, 2005).

Streptococcus mutans e *S. oralis* são patógenos bucais que podem provocar diferentes doenças que levam à perda dos dentes. *S. mutans* é considerado o principal agente etiológico da cárie dentária, uma doença infecciosa que afeta aproximadamente 90% da população mundial. Ambas as espécies estão relacionadas com a formação de biofilme, que possui relação direta com o desenvolvimento de cárie e periodontopatias [3]. Durante o tratamento, estas bactérias podem entrar na corrente sanguínea a partir da cavidade oral e causar outras doenças como endocardite [4].

O surgimento de cepas resistentes a múltiplas drogas antimicrobianas estão entre os desafios mais árduos no ambiente hospitalar, pois ameaça a eficácia do tratamento de diversos processos infecciosos, o que pode resultar em desfechos clínicos adversos, incluindo aumento das taxas de morbidade e mortalidade [5]. Com o aumento desses problemas, os produtos de origem vegetal tem despertado interesse de pesquisadores, mostrando ser uma alternativa promissora. Universidades e centros de pesquisa ao redor do mundo têm encontrado centenas de metabólitos secundários vegetais com significativos efeitos inibitórios a diversos tipos de micro-organismos [6].

Outra abordagem para o tratamento de infecções por bactérias multirresistentes é a utilização de fármacos auxiliares ao antimicrobiano, que possam inverter os mecanismos de resistência, sejam intrínsecos ou adquiridos, aumentando a atividade de dos mesmos [7]. Produtos de origem vegetal também tem se mostrado promissores nessa perspectiva. Extratos podem atuar sobre as atividades vitais da bactéria por múltiplas vias simultaneamente, como através da inibição da síntese da parede celular e da síntese de DNA e alteração do sistema de efluxo, como constatado por Kim et al. [8].

Poincianella pyramidalis (Tul.) LP Queiroz (= *Caesalpinia pyramidalis*) (Fabaceae) é uma espécie arbórea, endêmica da Caatinga, amplamente distribuída na região semiárida brasileira. Esta planta é utilizada na medicina tradicional para o tratamento de diversos tipos de doenças com destaque para os sistemas respiratório, digestório e circulatório, especialmente as doenças relacionadas a processos infecciosos e inflamatórios [9,10]. Diversos metabólitos secundários foram isolados de *P. pyramidalis* como flavonoides, biflavonoides e flavonas das folhas, chalconas e compostos fenólicos da casca [11-13]. Estudos revelaram diferentes atividades biológicas de estratos de *P. pyramidalis* como antimicrobiana, antioxidante, gastroprotetora, anti-inflamatória, antinociceptiva e anti-helmíntica [14-20].

Assim, neste trabalho determinamos o marcador químico, além de avaliarmos as atividades antimicrobiana, moduladora e toxicológica do extrato seco de *P. pyramidalis* sobre patógenos Gram-positivos.

Material e Métodos

Material vegetal

Foram coletadas cascas de indivíduos adultos de *P. pyramidalis* localizados na fazenda Farinha, município de Pocinhos, PB, Brasil (7°07'54.53''S e 36°07'14.51''O) em janeiro de 2014. Uma exsicata (CSTR 5036) foi depositada no herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande.

Preparação do extrato

O material vegetal foi limpo e submetido à secagem em estufa de circulação de ar a 40 °C. Posteriormente foi triturado em moinho de facas com tamanho de partícula de 10 mesh. O extrato hidroalcoólico foi obtido por extração assistida por ultrassom a 40 °C durante 60 min, utilizando como solvente etanol:água 50% (v/v). Em seguida foi submetido à secagem por aspersão em um Mini *Spray Dryer* Labmaq PS-1, com temperatura de entrada de 120°C, fluxo de ar 40 L min⁻¹, vazão de ar de secagem 3 mL min⁻¹. O extrato nebulizado (ENPp) foi seco com utilizando como adjuvante dióxido de silício coloidal (Aerosil 200[®]) em 20%, em relação ao resíduo seco.

Determinação do composto químico majoritário

Utilizou-se um Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (UPLC), marca Shimadzu, equipado com duas bombas modelo LC-20AD, injetor automático SIL-20-

AHT, forno para coluna CTO-20A, detector com comprimento de onda variável UV/Vis, modelo SPD-20A, controlador CBM-20A, integrador automático computadorizado com software LC Solution[®]. A fase estacionária foi composta por uma coluna Gemini - NX C18 (250 x 4,60 mm, 5 µm). A fase móvel foi constituída de uma mistura isocrática de ácido acético 0,1% : metanol (90:10, v/v). As análises foram realizadas em temperatura controlada (30°C), utilizando um fluxo de 1 mL min⁻¹ e volume de injeção de 20µL. Todas as amostras foram filtradas com filtros de seringa 0,45µm de diâmetro.

Ensaio Microbiológicos

Foram utilizadas cepas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) e isolados clínicos de *Streptococcus oralis* e *S. mutans*, cujo perfil de resistência está descrito na Tabela 1. As cepas foram mantidas em tubos com caldo BHI, sendo, antes dos ensaios, cultivadas a 37 °C por 24 horas, em placas com Ágar Mueller-Hinton suplementado com 5% de sangue de carneiro desfibrinado.

Tabela 1. Perfil fenotípico de resistência das cepas utilizadas

Cepas	Resistência
<i>S. aureus</i> ATCC	-
<i>S. aureus</i> 109	OXA, PEN, AZT, SFM, CFX, NOR, AMP, GEN
<i>S. oralis</i> ATCC	-
<i>S. oralis</i> 112	CTX, PEN, CLO, CFO, CLI, CPM
<i>S. mutans</i> ATCC	-
<i>S. mutans</i> 137	CTX, PEN, CLO, CFO, CLI, CPM

OXA = Oxacilina; PEN = Penicilina; AZT = Azitromicina; CFX = Cefoxitina; CPM = Cefepima; NOR = Norfloxacino; AMP = Ampicilina; CFO = Ceftriaxona; GEN = Gentamicina; CLI = Clindamicina; CTX = Cefotaxima; CLO = Cloranfenicol.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC)

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em placas de 96 cavidades [21]. Colônias dos micro-organismos foram suspensas em solução salina 0,9%, sendo a suspensão ajustada em espectrofotômetro a 625 nm a uma concentração final de 5×10^6 UFC mL⁻¹. Foram realizadas diluições

seriadas do extrato e da catequina em um intervalo de concentrações entre 1000 e 3,9 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As placas foram incubadas a $37 \pm 0,5$ °C durante 24 h. O crescimento bacteriano foi indicado pela adição de 20 μL de solução aquosa de resazurina (Sigma-Aldrich) a 0,01 %, com nova incubação a $37 \pm 0,5$ °C durante 2 h. A CIM foi definida como a menor concentração onde não houve crescimento microbiano visível. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Modulação da resistência antimicrobiana

A avaliação dos extratos como moduladores da resistência a antibióticos foi realizada de acordo com Coutinho et al., [22]. A CIM dos antibióticos (AMP, AZT, CFO, CLI, CLO, CPM, GEN, OXA e CLX) e da catequina foi determinada na presença e na ausência do extrato e da catequina em concentrações subinibitórias (CIM/8). A concentração dos antibióticos variou entre 1000 e 0,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As placas foram incubadas como descrito anteriormente e cada ensaio foi realizado em triplicata.

Avaliação da Mutagenicidade e Citotoxicidade

Animais e Tratamento

Os camundongos Swiss (*Mus musculus*) foram obtidos junto a Universidade Federal da Paraíba e mantidos em grupo de três animais por gaiola sob condições ambientais padronizadas (ciclo 12h claro / escuro e temperatura entre 23 ± 2 °C) e alimentados com ração e água potável à vontade. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande (protocolo número 5618092015).

Três grupos de 3 camundongos cada, foram doseados por via oral uma vez por dia durante 7 dias consecutivos, com solução do extrato nas concentrações 100, 200 e 500 mg Kg^{-1} . Dois outros grupos foram tratados com água (controle negativo) ou ciclofosfamida 50 mg kg^{-1} (controle positivo). Os animais foram sacrificados após 168 horas do início do experimento através da inalação de éter.

Teste de Micronúcleos

O teste de micronúcleos (MN) utilizando células sanguíneas periféricas foi realizado de acordo com metodologia descrita previamente [23]. Para a determinação da frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN), foram observados 2000 eritrócitos policromáticos (EPC) por animal em cada amostra de sangue,

totalizando 6000 células por tratamento para os tempos de exposição de 48, 72 e 168hs. Para esta análise foi utilizado microscópio óptico com objetiva de aumento de 100 x. Para determinar a citotoxicidade do extrato, foi estabelecida a relação entre o número de eritrócitos policromáticos/normocromáticos (ENC) em 1000 células em amostras do sangue periférico, enquanto que, para amostras da medula óssea foi contabilizado um total de 400 eritrócitos (EPC+ENC) por animal (200/lâmina) e a frequência de PCEs foi calculado (EPC/PCE+NCE).

Análise estatística

Os resultados dos ensaios microbiológicos foram expressos em média geométrica. Foi aplicada à análise de variância two-way seguida pelo pós-teste de Bonferroni utilizando o software GraphPad Prism 5.0. A análise estatística dos estudos *in vivo* utilizou o método de Análise de Variância (ANOVA) e o teste a posteriori de Tukey, com $p < 0,05$ (5%) para as diferenças estatísticas significativas. Foi utilizado o programa estatístico STATISTIC 7.0 para a realização das análises.

Resultados e Discussão

A determinação de marcadores químicos é indispensável no processo de produção de um fitoterápico. Compostos ou classes de compostos, usualmente um ou dois, que preferencialmente tenham relação com a atividade farmacológica são empregados como marcadores químicos, sendo utilizados para avaliar a qualidade e autenticidade do Insumo farmacêutico ativo e do medicamento fitoterápico [24].

Neste estudo, utilizou-se cromatografia líquida de alta eficiência para analisar o extrato nebulizado de *P. pyramidalis*, baseado no parâmetro tempo de retenção (TR) para identificar o composto químico majoritário. Ao comparar os valores TR obtidos a partir de outros compostos fenólicos, observou-se a presença de catequina, a qual pode ser utilizado como marcador químico da planta. Estes resultados contrastam com o de Santana et al., [25] que buscou identificar os componentes do extrato etanólico de *P. pyramidalis* de maneira similar à deste trabalho. Os autores determinaram a presença apenas do flavonoide rutina.

Quanto à CIM, o extrato apresentou atividade significativa ($CIM \leq 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) sobre todas as cepas testadas. As cepas ATCC de *S. oralis* e *S. mutans* foram suscetíveis ao extrato na concentração de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto as multirresistentes foram a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$. Para *S. aureus* os valores de CIM foram os mesmos para ambas

as cepas ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$). A catequina não apresentou valores de CIM significativos ($\text{CIM} > 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) sobre as cepas testadas. Rios e Recio [24] definem extratos ativos sobre determinado micro-organismo quando apresentar $\text{CIM} \leq 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto os que apresentaram $\text{CIM} < 100 \mu\text{g mL}^{-1}$ são considerados muito ativos. Para substâncias isoladas esses valores são $\text{CIM} < 100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $\text{CIM} < 10 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Estes resultados são melhores que os obtidos previamente onde cepa de *S. aureus* foi submetida a ensaios com extratos de diferentes partes de *P. pyramidalis*, não obtendo-se atividade significativa [27]. Alviano et al., [17] avaliaram a atividade do extrato aquoso de *P. pyramidalis* sobre *S. mutans* obtendo valores de $\text{CIM} = 8000 \mu\text{g mL}^{-1}$. Há registros na literatura que confirmam a atividade antimicrobiana desta planta sobre diversas bactérias dentre as quais podemos destacar *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella* spp, sendo os melhores resultados exibidos contra as cepas gram positivas [14,15,27]. Resultados negativos quanto à atividade antimicrobiana da catequina estão contidos na literatura. Park et al., [28] avaliando a atividade antimicrobiana de catequina não obteve resultados significativos ($\text{CIM} > 128 \mu\text{g mL}^{-1}$) sobre diversas cepas, incluindo *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae*. No estudo realizado por Taguri et al., [29], diversos compostos polifenólicos foram avaliados quanto à atividade antimicrobiana sobre 26 cepas bacterianas Gram positivas e Gram negativas. Destas, os valores de CIM da catequina foram $> 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ sobre nove cepas e $> 500 \mu\text{g mL}^{-1}$ sobre 10 cepas. O menor valor de CIM encontrado foi $167 \mu\text{g mL}^{-1}$ obtido nos ensaios com *Clostridium perfringens*.

Os resultados da atividade moduladora do extrato de *P. pyramidalis* sobre a resistência de *S. aureus*, *S. oralis* e *S. mutans* a diferentes antimicrobianos estão mostrados na figura 1. Ao ser adicionado ao meio de cultura na concentração de $125 \mu\text{g mL}^{-1}$ o extrato foi capaz de reduzir significativamente ($P < 0,001$) os valores de CIM da ceftriaxona, cefepima e cloranfenicol sobre as cepas de *Streptococcus*. Os valores de CIM da gentamicina, ampicilina e oxacilina foram reduzidos significativamente nos ensaios com *S. aureus*. A catequina, possível marcador químico da planta teve um comportamento semelhante, reduzindo de maneira significativa os valores de CIM dos mesmos antimicrobianos citados, além da azitromicina, cuja associação com o extrato não houve efeito positivo. Por outro lado, na combinação do extrato com a clorexidina a CIM deste antimicrobiano sobre os *Streptococcus* foi elevada significativamente, enquanto a combinação com a catequina não provocou alteração nos valores de CIM.

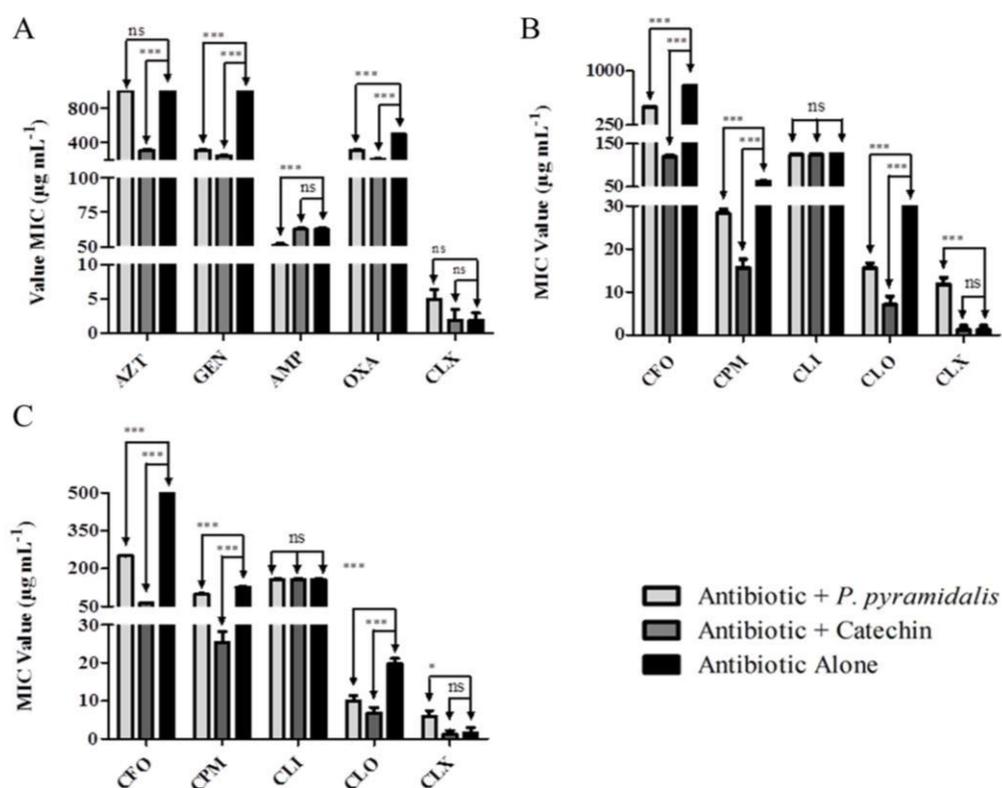


Figura 1. Atividade moduladora do extrato de *P. pyramidalis* sobre a resistência de bactérias do gênero Gram positivas a diferentes antimicrobianos. A- *S. aureus*; B- *S. mutans*; C- *S. oralis* *** - diferença estatística significativa ($P < 0,001$); ns – não houve diferença estatisticamente significativa. AZT = Azitromicina; GEN = Gentamicina; AMP = Ampicilina; OXA = Oxacilina; CFO = Ceftriaxona, CPM = Cefepima, CLI = Clindamicina, CLO = Cloranfenicol; CLX = Clorexidina.

A ampicilina, a oxacilina, a ceftriaxona e a cefepima são antimicrobianos β -lactâmicos, sendo, os dois primeiros, pertencentes à classe das penicilinas, enquanto os outros dois são classificados como cefalosporinas. Esses fármacos atuam através da inibição da síntese da parede celular, inativando enzimas necessárias para a síntese da camada de peptidoglicano [30]. O principal mecanismo de resistência a estes antimicrobianos é a desativação hidrolítica do anel β -lactâmico pelas enzimas β -lactamase. Uma vez hidrolisado, o anel β -lactâmico se torna não funcional e inútil como um antimicrobiano. As bactérias capazes de produzir tais enzimas, a secretam para o periplasma a fim de destruir os anéis β -lactâmicos antes que eles possam alcançar as PBP (Penicillin binding Protein) na membrana citoplasmática [31].

A gentamicina, a azitromicina e o cloranfenicol pertencem às classes dos aminoglicosídeos, macrolídeos e dos anfenicóis, respectivamente, que atuam

interferindo na síntese protéica bacteriana. A gentamicina se liga a porções do RNAr da subunidade 30S do ribossomo bacteriano, enquanto a azitromicina e o cloranfenicol interagem com a subunidade 50S, todos inibindo a biossíntese de proteínas [32-34]. As bactérias apresentam diversos mecanismos que lhes permitam resistir aos efeitos inibitórios do cloranfenicol. O mais frequente é inativação enzimática por acetilação do fármaco através de diferentes tipos de cloranfenicol acetiltransferases (CATs) [35]. Podem-se destacar outros mecanismos de resistência, como sistemas de efluxo, alterações do sítio alvo e barreiras de permeabilidade [36].

A clorexidina é um antimicrobiano de amplo espectro que atua interagindo com as membranas celulares bacterianas, promovendo um aumento da permeabilidade e o extravazamento de componentes celulares [37]. Em concentrações elevadas, pode ainda provocar a precipitação de proteínas e ácidos nucleicos presentes no citoplasma [38]. Na literatura há relatos de mecanismos que provocam resistência à clorexidina, como adaptação da membrana e sistemas de efluxo [39,40].

Uma estratégia eficaz para interromper os mecanismos de resistência é a combinação de drogas a fim de potencializar o efeito antimicrobiano. Um exemplo é o uso de β -lactâmicos associados a inibidores de β -lactamase, como o ácido Clavulânico, que vem apresentando resultados positivos, porém, o uso contínuo pode provocar o surgimento de cepas resistentes [41].

A utilização de produtos naturais de origem vegetal na terapia antimicrobiana é uma estratégia bastante promissora. Os extratos de plantas medicinais possuem diversos componentes que geralmente atuam sinergicamente sendo responsáveis pelo efeito terapêutico, o que pode não ocorrer com o composto isolado [42]. As diversas substâncias ativas, além de atuarem em diversos alvos simultaneamente, promovem maiores dificuldades para a adaptabilidade microbiana que uma única substância, proporcionando um baixo risco dos micro-organismos adquirirem resistência [43].

Kim et al., [8] investigaram a atividade antimicrobiana de *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm) Benth. et Hook contra *E. coli*, avaliando seu mecanismo de ação a nível molecular. Os autores constataram que a planta atua na síntese da parede celular, na biossíntese do folato e replicação do DNA simultaneamente.

Uma abordagem também promissora é a associação e produtos de origem vegetal com antimicrobianos sintéticos, a fim de se modificar os mecanismos de resistência bacteriana. Há diversos relatos na literatura sobre a associação entre extratos vegetais e fármacos antimicrobianos, a qual promoveu uma intensificação da atividade

destes últimos sobre micro-organismos multirresistentes. Isto foi verificado em ensaios com diversas plantas sobre cepas bacterianas multirresistentes como *S. aureus*, *E. coli*, *Bacillus cereus*, *P. aeruginosa*, MRSA [22, 44-46].

Apesar de apresentar atividade bactericida ou bacteriostática apenas moderada, as catequinas oriundas de espécies vegetais podem exercer efeitos indiretos em bactérias, incluindo a capacidade de modificar a resistência aos antimicrobianos e para alterar a expressão de fatores de virulência bacteriana [47]. Estudos sugerem que as catequinas podem atuar nas membranas celulares das bactérias [48].

Yam et al., [49] determinaram o sinergismo entre antimicrobianos β -lactâmicos e um extrato obtido a partir das folhas de *Camellia sinensis* L., cujas atividades biológicas são atribuídas às catequinas. O extrato mostrou capacidade de reverter a resistência à metilina em MRSA e, em menor proporção, a resistência à penicilina em *S. aureus* produtora de β -lactamase. O extrato interferiu na produção de PBP2, que é análoga à PBP, os alvos dos β -lactâmicos. Essas enzimas catalisam a inserção de precursores de peptidoglicano recentemente sintetizados à parede celular e a PBP2 apresenta menor afinidade com os β -lactâmicos [47]. O referido extrato de *C. sinensis* ainda atuou na prevenção da liberação de β -lactamase para o espaço periplasmático, as quais permaneceram, em grande parte ligadas às células.

Gibbons et al. [50] ao avaliar a atividade antimicrobiana de catequinas sobre *S. aureus* multirresistentes, constataram fraca atividade antimicrobiana, porém, ao serem adicionadas ao meio de cultura em concentração subinibitória, potencializaram a atividade do norfloxacino contra uma cepa resistente a este antimicrobiano. Esta cepa superexpressa o gene *norA*, que codifica a proteína NorA relacionada com o efluxo de fluoroquinolonas, sugerindo que tais produtos naturais atuaram no mecanismo bacteriano de efluxo.

Mutagenicidade e Citotoxicidade

O teste de micronúcleo *in vivo* utilizando roedores tem sido amplamente utilizado para detectar genotoxicidade. Dentre os diversos testes de genotoxicidade esse teste é um dos primordiais, sendo recomendado por órgãos reguladores em todo o mundo como importante etapa da avaliação de segurança de produtos. Avaliar o potencial genotóxico de novas drogas é de fundamental importância, visto que agentes com este potencial podem induzir danos ao material genético direta ou indiretamente

por diversos mecanismos, podendo se tornar agente carcinogênico e/ou provocar mutações hereditárias [51].

A frequência de EPCMN e a relação EPC/ENC de amostras obtidas do sangue periférico e da medula óssea dos camundongos tratados com o ENPp estão contidas nas tabelas 2 e 3. A genotoxicidade é indicada pelo aumento significativo na frequência de micronúcleos, enquanto a citotoxicidade é indicada pela redução significativa de EPC. O extrato apresentou citotoxicidade para sangue periférico nas duas concentrações mais elevadas nos tempos de exposição (TE) de 48 e 168hs. Em relação à mutagenicidade, o extrato promoveu efeitos mutagênicos apenas na concentração de 100 mg kg⁻¹ nos TE de 72 e 168hs. Nas lâminas preparadas com a medula óssea no TE de 168hs, o extrato apresentou efeito citotóxico na concentração mais elevada. Nenhum efeito mutagênico foi observado para o extrato na medula.

Tabela 2: Frequência de micronúcleos (MN) em eritrócitos policromáticos (EPC) do sangue periférico de camundongos e a relação EPC/ENC após, 24, 48 e 168 horas de tratamento com extrato de *P. pyramidalis* em diferentes concentrações.

Tratamento	TE	EPC-MN/6000	EPC/ENC
CN	48hs	3.8 ± 1.5	0.01 ± 0.01
	72hs	3.0 ± 2.3	0.025 ± 0.0
	168hs	3.0 ± 2.0	0.02 ± 0.0
100 mg kg ⁻¹	48hs	4.0 ± 1.66	0.04 ± 0.03
	72hs	15 ± 7.66*	0.02 ± 0.01
	168hs	14.3 ± 6.4*	0.01 ± 0.01
200 mg kg ⁻¹	48hs	3.0 ± 1.0	0.08 ± 0.03*
	72hs	8.2 ± 2.1	0.03 ± 0.01
	168hs	6.0 ± 3.3	0.08 ± 0.01*
500 mg kg ⁻¹	48hs	5.5 ± 4.3	0.06 ± 0.02*
	72hs	2.5 ± 1.16	0.17 ± 0.24
	168hs	2.8 ± 2.44	0.05 ± 0.02*
CP	48hs	9.5 ± 2.1*	0.01 ± 0.0
	72hs	9.2 ± 2.5*	0.009 ± 0.0
	168hs	9.2 ± 2.7*	0.02 ± 0.01

TE: tempo de exposição; CN – Controle negativo; CP: controle positivo; * médias diferem do CN no mesmo TE analisado para p < 0,05 utilizando o teste de RM-MANOVA seguido de Tukey.

Tabela 3: Frequência de micronúcleo (MN) em eritrócitos policromáticos (EPC) da medula óssea de camundongos e a relação EPC/ENC após o TE de 168 horas de tratamento com extrato de *P. pyramidalis* em diferentes concentrações.

Tratamento	TE	EPC-MN/1200	EPC/ENC
CN	168hs	1.0 ± 0.0	0.53 ± 0.08
100 mg kg ⁻¹	168hs	0.66 ± 0.44	0.69 ± 0.07
200 mg kg ⁻¹	168hs	1.16 ± 1.22	0.63 ± 0.17
500 mg kg ⁻¹	168hs	1.0 ± 1.33	0.74 ± 0.18*
CP	168hs	19.16 ± 4.1*	0.81 ± 0.08*

TE: tempo de exposição; CN – Controle negativo; CP: controle positivo; * médias diferem do CN no mesmo TE analisado para $p < 0,05$ utilizando o teste de RM-MANOVA seguido de Tukey.

Poucas são as informações acerca do potencial tóxico de *P. pyramidalis*. Luna et al., [52] e Oliveira [53] verificaram toxicidade do extrato etanólico da casca e frações acetato de etila, metanólica e butanólica. Índícios de citotoxicidade de extratos desta planta foram encontrados por Silva et al., [54], utilizando o teste de *Allium cepa*. O extrato aquoso da entrecasca de *P. pyramidalis* apresentou potencial antiproliferativo estatisticamente significativo em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* nas concentrações de 1000 e 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Por outro lado, foram encontrados indícios de atividade antimutagênica dessa planta, visto que as mesmas proporcionaram a redução do número de alterações cromossômicas induzidas pelo paracetamol.

Preparações à base de plantas podem conter substâncias conhecidas por sua toxicidade. Substâncias de origem vegetal como alguns flavonoides e compostos aromáticos como estragol, safrol e metileugenol apresentam potencial mutagênico e carcinogênico [55]. Van den Berg et al. [56] listam compostos de origem vegetal que possuem as características citadas, dentre eles, além dos citados, estão monoterpenos, cumarina, polifenóis, alcaloides e antraquinonas.

Entretanto, outros metabólitos secundários vegetais atuam de maneira inversa aos referidos compostos. Ensaio realizados com espécies da mesma família de *P. pyramidalis* (Fabaceae) revelaram ausência de mutagenicidade através de diversos testes, a exemplo de *Libidibia ferrea* (= *Caesalpinia ferrea*) pelo teste *Salmonella/microsome assay* [57]; *Hymenaea courbaril* pelos testes SMART em *Drosophila melanogaster* e micronúcleo em camundongos [58]; e *Mimosa tenuiflora* pelos testes *Salmonella/microsome assay* e micronúcleo em camundongos. Ahmad et al. [59] avaliaram o potencial antimutagênico de *Caesalpinia bonducella* contra

genotoxicidade em linfócitos humanos e medula óssea de camundongos induzida por metil metano sulfonato. O extrato etanólico da planta reduziu significativamente as aberrações cromossômicas em até 51.75%, assim como o número de aberrações por célula *in vitro*.

Estudos conduzidos com catequina revelaram seu potencial antimutagênico contra agentes mutagênicos ambientais, através do teste com *Salmonella typhimurium* [60]. A catequina também apresentou capacidade de prevenir a atividade mutagênica de 1-nitropireno and 1,3-dinitropireno, substâncias presentes no vapor do óleo de cozinha [61].

Conclusão

A análise cromatográfica do extrato nebulizado de *P. pyramidalis* revelou a presença de catequina, um polifenol que pode ser utilizado como marcador químico do extrato. O ENPp apresentou atividade antimicrobiana significativa sobre cepas padrão e multirresistentes de *S. oralis* e *S. mutans*. Ao ser associado a drogas antimicrobianas de diferentes classes, proporcionou uma potencialização de sua atividade, reduzindo significativamente suas CIM's. Os ensaios de mutagenicidade *in vivo*, mostraram efeito mutagênico no sangue periférico na concentração 100 mg kg^{-1} em um tempo maior de administração. O extrato apresentou efeito citotóxico em ensaios *in vitro* através da hemólise de eritrócitos humanos e *in vivo* no sangue periférico e medula óssea de roedores, o que sugere investigação do potencial antiproliferativo da planta.

Conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

Referências

1. K. O'Riordan, J. C. Lee, "Staphylococcus aureus Capsular Polysaccharides", *Clinical microbiology reviews*. vol. 17, no 1, pp. 218–234, 2004.
2. B. Fournier, D. J. Philpott, "Recognition of *Staphylococcus aureus* by the innate immune system", *Clinical microbiology reviews*, vol. 18, no. 3, pp. 521-540, 2005.
3. J. A. Aas, B. J. Paster, L. N. Stokes et al., "Defining the normal bacterial flora of the oral cavity", *Journal of clinical microbiology*, vol. 43, no. 11, pp. 5721-5732, 2005.

4. S. M. Daboor, F. S. S. Masood, M. S. Al-Azab, E. E. Nori, "A review on *Streptococcus mutans* with its diseases dental caries, dental plaque and endocarditis," *Indian Journal of Microbiology Research*, vol. 2, no. 2, 76-82, 2015.
5. A. Teillant, S. Gandra, D. Barter, D. J. Morgan and R. Laxminarayan, "Potential burden of antibiotic resistance on surgery and cancer chemotherapy antibiotic prophylaxis in the USA: a systematic review and modelling study," *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 15, no. 2, pp. 1429-1437, 2015.
6. M. M. Cowan, "Plant products as antimicrobial agents," *Clinical microbiology reviews*, vol. 12, no 4, pp. 564-582, 1999.
7. P. Bernal, C. Molina-Santiago, A. Daddaoua, M. A. Llamas, "Antibiotic adjuvants: identification and clinical use," *Microbial biotechnology*, vol. 6, no. 5, pp. 445-449, 2013.
8. K. S. Kim, H. J. Yang, E. K. Choi, Y. J. Park, D. H. Cho, K. S. Ahn, K. S., H. J. Jang, "The multi-target antibiotic efficacy of *Angelica dahurica* Bentham et Hooker extract exposed to the *Escherichia coli* O157: H7," *BioChip Journal*, vol. 5, no. 4, pp. 333-342, 2011.
9. U. P. Albuquerque, P. M. Medeiros, A. L. S. Almeida, J. M. Monteiro, E. M. F. Lins Neto, J. G. Melo, J. P. Santos, "Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach". *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 114, no. 3, pp. 325-354, 2007.
10. S. L. Cartaxo, M. M. A. Souza, U. P. Albuquerque, "Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil," *Journal of Ethnopharmacology*, vol.131, no. 2, pp. 326-342, 2010.
11. C. C. Mendes, M. V. Bahia, J. M. David, J. P. David, "Constituents of *Caesalpinia pyramidalis*," *Fitoterapia*, vol. 71, no. 2, pp. 205-207, 2000.
12. M. V. Bahia, J. B. Santos, J. P. David, J. M. David, "Biflavonoids and other phenolics of *Caesalpinia pyramidalis* (Fabaceae)," *Journal of The Brazilian Chemical Society*, vol. 16, no. 6b, pp. 1402-1405, 2005.
13. M. V. Bahia, J. P. David, J. M. David, "Occurrence of biflavones in leaves of *Caesalpinia pyramidalis* specimens," *Química Nova*, vol. 33, no. 6, pp. 1297-300, 2010.
14. M. R. F. Lima, J. S. Luna, A. F. Santos, M C. C. Andrade, A. E. G. Santana, J. P. Genet et al. "Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 105: pp. 137-147, 2006.

15. A. M. Saraiva, C. L. Saraiva, A. M. Gonçalves, R. R. Soares, F. O. Mendes, R. P. Cordeiro, H. S. Xavier, M. N. C. Pisciotano, "Antimicrobial activity and bioautographic study of antistaphylococcal components from *Caesalpinia pyramidalis* Tull," *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 48, no. 1, pp.147-154, 2012.
16. M. C. S. Cruz, P. O. Santos, J. R. A. M. Barbosa, D. L. F. M. Melo, C. S. Alviano, A. R. Antonioli et al. "Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses," *Journal of Ethnopharmacology*. vol. 111, pp. 409–412. 2007.
17. W. S. Alviano, D. S. Alviano, C. G. Diniz, A. R. Antonioli, C. Alviano, L. M. Farias et al. "In vitro antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine," *Archives of Oral Biology*, vol. 53, pp. 545–552, 2008.
18. A. R. Ribeiro, P. F. Diniz, C. S. Estevam, M. Pinheiro, R. L. C. Albuquerque-Jr, S. Thomazzi, "Gastroprotective activity of the ethanol extract from the inner bark of *Caesalpinia pyramidalis* in rats". *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 147, no 2, pp. 383–388, 2013.
19. A. C. Santos, M. P. R. Ailane, F. C. A. Passos, E. A. Camargo, C. S. Estevam, M. R. V. Santos, "Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Caesalpinia pyramidalis* in rodents," *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, vol. 21, no. 6, pp. 1077-1083, 2011.
20. R. R. Borges-dos-Santos, J. L. L. Santos, Z. Farouk, J. M. David, J. P. David, J. W. M. Lima, "Biological Effect of Leaf Aqueous Extract of *Caesalpinia pyramidalis* in Goats Naturally Infected with Gastrointestinal Nematodes," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2012, 2012.
21. CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Twenty Second Informational Supplement, ninth ed. Document M100–S22. Pensilvania, USA: NIH.
22. H. D. M. Coutinho, J. G. M. Costa, V. S. Falcão-Silva, J. P. Siqueira-Júnior, E. O. Lima, "In vitro additive effect of *Hyptis martiusii* in the resistance to aminoglycosides of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*," *Pharmaceutical Biology*, vol. 48, pp. 1002-1006, 2010.
23. G. Krishna, M. Hayashi, "In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation," *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 455, no. 1, pp. 155-166, 2000.

24. H. A. Gad, S. H. El-Ahmady, M. I. Abou-Shoer, M. M. Al-Azizi, "Application of chemometrics in authentication of herbal medicines: a review," *Phytochemical Analysis*, vol. 24, no. 1, pp. 1-24, 2013.
25. D. G. Santana, C. A. Santos, A. D. C., Santos, P. C. L., Nogueira, S. M. Thomazzi, C. H. Estevam, A. R. Antonioli, E. A. Camargo, "Beneficial effects of the ethanol extract of *Caesalpinia pyramidalis* on the inflammatory response and abdominal hyperalgesia in rats with acute pancreatitis," *Journal of Ethnopharmacol*, vol.142, no. 2, pp. 445–455, 2012.
26. J. L. Ríos, M. C. Recio, "Medicinal plants and antimicrobial activity," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 100, no.1, pp. 80–84, 2005.
27. A. M. Saraiva, M. G. Saraiva, A. M. Gonçalves, J. G. Sena Filho, H. S. Xavier, M. N. C. Pisciotano, "Avaliação da atividade antimicrobiana e perfil fitoquímico de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabaceae)," *Biofar*, vol. 7, no. 2, pp. 52-60, 2012.
28. K. D. Park, S. J. Cho, "Synthesis and antimicrobial activities of 3-O-alkyl analogues of (+)-catechin: improvement of stability and proposed action mechanism," *European journal of medicinal chemistry*, vol. 45, no. 3, pp. 1028-1033, 2010.
29. T. Taguri, T. Tanaka, I. Kouno, "Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure," *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 29, n. 11, p. 2226-2235, 2006.
30. F. C. Tenover, "Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria," *The American journal of medicine*, vol. 119, no. 6, pp. S3-S10, 2006.
31. Y. Pfeifer, A. Cullik, W. Witte, "Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens," *International Journal of Medical Microbiology*, vol. 300, no. 6, pp. 371-379, 2010.
32. M. Fernández, S. Conde, J. de la Torre, C. Molina-Santiago, J. L. Ramos, E. Duque, "Mechanisms of resistance to chloramphenicol by *Pseudomonas putida* KT2440," *Antimicrobial agents and chemotherapy*, AAC. p.05398-11, 2011.
33. L. P. Kotra, J. Haddad, S. Mobashery, "Aminoglycosides: perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance", *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 44, n. 12, p. 3249-3256, 2000.
34. J. Retsema, W. Fu, "Macrolides: structures and microbial targets", *International journal of antimicrobial agents*, v. 18, p. 3-10, 2001.

35. I. A. Murray, W. Shaw, "O-Acetyltransferases for chloramphenicol and other natural products," *Antimicrobial agents and chemotherapy*, vol. 41, no. 1, pp. 1-6, 1997.
36. S. Schwarz, C. Kehrenberg, B. Doublet, A. Cloeckaert, "Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol," *FEMS microbiology reviews*, vol. 28, no. 5, pp. 519-542, 2004.
37. P. Stapleton, P. J. Wu, A. King, K. Shannon, G. French, I. Phillips, "Incidence and mechanisms of resistance to the combination of amoxicillin and clavulanic acid in *Escherichia coli*". *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 39, n. 11, pp. 2478-2483, 1995.
38. C. G. Jones, "Chlorhexidine: is it still the gold standard?", *Periodontology 2000*, vol. 15, p. 55-62, 1997.
39. A. D. Russell, F. R. C. Path, "Chlorhexidine: antibacterial action and bacterial resistance" *Infection*, v. 14, n. 5, p. 212-215, 1986.
40. L. Thomas, J. Y. Maillard, R. J. W. Lambert, A. D. Russell, "Development of resistance to chlorhexidine diacetate in *Pseudomonas aeruginosa* and the effect of a "residual" concentration", *Journal of Hospital Infection*, vol. 46, p. 297-303, 2000.
41. C. Horner, D. Mawer, M. Wilcox, "Reduced susceptibility to chlorhexidine in staphylococci: is it increasing and does it matter?" *Journal of antimicrobial chemotherapy*, p. dks284, 2012.
42. Y. Z. Liang, P. Xie, K. Chan, "Quality control of herbal medicines," *Journal of chromatography B*, vol. 812, no. 1, pp. 53-70, 2004.
43. D. J. Daferera, B. N. Ziogas, M. G. Polissiou, "The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*," *Crop protection*, v. 22, n. 1, p. 39-44, 2003.
44. C. Fernandes, S. Tintino, M. F. Morais-Braga, A. Araújo, H. D. M. Coutinho, I. R. A. Menezes, M. Kerntopf, "Phytochemical prospecting, modulator and antibacterial activity of aminoglycosides of the extract and fractions of the *Annona squamosa*" *Ethnobiology And Conservation* vol. 2: 1-8.
45. K. M. A. Silva, T. P. Chaves, R. L. Santos, D. O. Brandão, F. H. A. Fernandes, F. J. L. Ramos Júnior, V. L. Santos, D. C. Felismino A. C. D. Medeiros, "Modulation of the erythromycin resistance in *Staphylococcus aureus* by ethanolic extracts of *Ximenia americana* L and *Schinopsis brasiliensis* Engl." *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 14, no. 2, pp. 92 – 98, 2015.

46. T. P. Chaves, A. S. Barbosa, L. E. Nunes, K. M. A. Silva, M. O. S. Simões, R. L. Santos, R. M. R. Catão, V. L. Santos, A. C. D. Medeiros, "Evaluation of the potential modulator of bacterial resistance, acute toxicity and chemical composition of *Schinopsis brasiliensis* Engl," *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 9, no. 33, pp. 843-849, 2015.
47. P. W. Taylor, J. M. T. Hamilton-Miller, P. D. Stapleton, "Antimicrobial properties of green tea catechins," *Food science and technology bulletin*, v. 2, p. 71-78, 2005.
48. H. Ikigai, T. Nakae, Y. Hara, T. Shimamura, "Bactericidal catechins damage the lipid bilayer," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, vol. 1147, no. 1, pp. 132-136, 1993.
49. T. S. Yam, J. M. Hamilton-Miller, S. Shah, "The effect of a component of tea (*Camellia sinensis*) on methicillin resistance, PBP2'synthesis, and beta-lactamase production in *Staphylococcus aureus*," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 42, no. 2, pp. 211-216, 1998.
50. S. Gibbons, E. Moser, G. W. Kaatz, "Catechin gallates inhibit multidrug resistance (MDR) in *Staphylococcus aureus*" *Planta Medica*, vol. 70, no. 12, pp. 1240-1242, 2004.
51. ICH Guideline (1997). *ICH2B: Genotoxicity: A standard battery for genotoxicity testing of pharmaceuticals*. ICH.
52. J. S. Luna, A. F. Santos, M. R. F. Lima, M. C. Omena, F. A. C. Mendonça, L. W. Bieber, A. E. G. Sant'Ana, "A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil" *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 97, no. 2, pp. 199-206, 2005.
53. J. C. S. Oliveira. *Estudo químico e avaliação biológica do extrato das cascas das raízes de Caesalpinia pyramidalis Tul. (Leguminosae)*. Dissertação. Universidade Federal da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Química. 2010.
54. F. D. B. Silva, M. A. G. Sales, O. R. M. Sá, M. D. S. M. de Deus, J. M. de Castro, A. P. Peron, P. M. P. Ferreira, "Potencial citotóxico, genotóxico e citoprotetor de extratos aquosos de *Caesalpinia pyramidalis* Tul., *Caesalpinia ferrea* Mart. e *Caesalpinia pulcherrima* Sw," *Revista Brasileira de Biociências*, vol. 13, no. 2, pp.101-109, 2015.
55. I. M. Rietjens, M. G. Boersma, H. van der Woude, S. M. Jeurissen, M. E. Schutte, G. M. Alink, "Flavonoids and alkenylbenzenes: mechanisms of mutagenic action and carcinogenic risk," *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 574, no 1, pp. 124-138, 2005.

56. S. J. Van den Berg, P. Restani, M. G. Boersma, L. Delmulle, and I. M. Rietjens, "Levels of genotoxic and carcinogenic ingredients in plant food supplements and associated risk assessment," *Food and Nutrition Sciences*, vol. 2, no. 9, pp. 989-1010, 2011.
57. C. C. Wyrepkowski, D. L. Costa, A. P. Sinhorin, W. Vilegas, R. A. de Grandis, F. A. Resende, E. A. Varanda, and L. C. Santos, "Characterization and quantification of the compounds of the ethanolic extract from *Caesalpinia ferrea* stem bark and evaluation of their mutagenic activity," *Molecules*, vol. 19, no. 10, pp. 16039-16057, 2014.
58. C. R. Vale, C. R. Silva, C. M. A. Oliveira, A. L. Silva, S. Carvalho and L. Chen-Chen, "Assessment of toxic, genotoxic, antigenotoxic, and recombinogenic activities of *Hymenaea courbaril* (Fabaceae) in *Drosophila melanogaster* and mice," *Genetics and molecular research: GMR*, vol. 12, no. 3, p. 2712, 2013.
59. M. S. Ahmad, S. Ahmad, A. Ali, M. Afzal, "Does *Caesalpinia bonducella* ameliorate genotoxicity? An in vitro study in human lymphocyte culture and in vivo study in Albino mice," *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, vol. 14, no. 3, pp. 247-257, 2013.
60. M. Nagabhushan, S. V. Bhide, "Anti-mutagenicity of catechin against environmental mutagens," *Mutagenesis*, vol. 3, no. 4, p. 293-296, 1988.
61. P. FP Wu, T. A. Chiang, L. F. Wang, C. S. Chang, and Y. C. Ko, "Nitro-polycyclic aromatic hydrocarbon contents of fumes from heated cooking oils and prevention of mutagenicity by catechin" *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 403, n. 1, p. 29-34, 1998.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato seco de *P. pyramidalis* é rico em compostos fenólicos, dos quais dois tiveram a presença confirmada, ácido gálico e catequina. Estes compostos podem ser utilizados como marcadores químicos em um processo de controle da qualidade de um ingrediente farmacêutico ativo vegetal ou medicamento fitoterápico obtido com o referido extrato.

Nos ensaios microbiológicos, o extrato exibiu atividade antimicrobiana significativa contra cepas Gram positivas. Entretanto, ao ser associado a fármacos antimicrobianos, apresentaram potencial modificador da resistência de cepas Gram positivas e Gram negativas a antimicrobianos de diferentes classes.

A avaliação de uma possível interação entre esses fármacos e o extrato por análise térmica diferencial e termogravimetria sugeriu uma possível interação química entre as moléculas do extrato e de alguns antimicrobianos. Estes resultados corroboram, em quase sua totalidade, os encontrados nos ensaios microbiológicos, indicando que análise térmica pode ser uma ferramenta útil na avaliação da interação entre fármacos antimicrobianos e produtos naturais de origem vegetal.

Nos ensaios *in vivo* com roedores o extrato não apresentou toxicidade aguda, porém, exibiu potencial mutagênico e citotóxico em concentrações mais elevadas.

Os resultados encontrados foram bastante promissores, tendo em vista o desenvolvimento de um insumo farmacêutico ativo vegetal a partir de *P. pyramidalis*. Recomenda-se a execução de estudos complementares para determinar as condições seguras e eficazes de utilização do extrato.

ANEXOS

ANEXO A Comprovante de Aprovação do Comitê de Ética

**PARECER**

NÚMERO DO PROJETO/ PROTOCOLO : 5618092015

CIAEP/CONCEA Nº: 01.001.2012

DATA DO PARECER: 18/09/2015

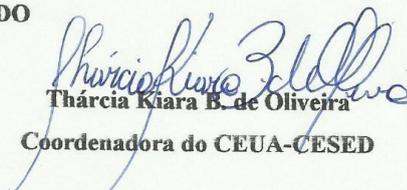
1. Pesquisador Responsável: **Thiago Pereira Chaves**

Título do Projeto: AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E MODULADORA DA RESISTENCIA BACTERIANA E TOXICIDADE DO EXTRATO SECO DE POINCIANELLA PYRAMIDALIS (TUL.) L.P. QUEIROZ

2. Considerações: Este projeto envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794 de 08 de outubro de 2008, do decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do CESED, com algumas recomendações (abaixo) que não interferem na sua aprovação em reunião de 18/09/2015.

Vigência do Projeto	15 de outubro de 2015 à 15 de novembro de 2015
Espécie / linhagem	Ratos Wistar albinos (<i>Rattus norvegicus</i>) / Camundongos albinos Swiss (<i>Mus musculus</i>)
Nº de animais	24 / 25
Peso / idade	250 a 350 g – 7 a 12 semanas / 25 a 30 g – 7 a 12 semanas
Sexo	Feminino e masculino / Masculino
Origem	Biotério Universidade Federal da Paraíba(UFPB)

Parecer Final: APROVADO


Thárcia Kiara B. de Oliveira
 Coordenadora do CEUA-CESED



ANEXO B Normas para publicação no periódico Plos One



Submission Instructions

These are step-by-step instructions for submitting a manuscript to our online submission system.

Tip: Keep this page open for your reference as you move through the submission process.

Do not follow these instructions if you are resubmitting a revised manuscript, are responding to a technical check inquiry, or have otherwise already submitted this manuscript to PLOS ONE.

Begin

Go to Editorial Manager and log in.

Submit new manuscript

Click on the “Submit New Manuscript” link under the “New Submissions” heading.

This will take you to a new screen.

Article type

Next, select your article type. Most submissions will be either a Research Article or a Clinical Trial.

Title

Enter the title and short title of your manuscript. Please do not enter your titles in all capital letters.

Contributors

Next you will be asked to enter the names, email addresses, and institutional affiliations for each author. Each author should have made real and concrete contributions to the manuscript; you will have the opportunity to describe each author’s contribution in a further step. Each author should also be aware of the submission and approve the manuscript submitted. PLOS does not condone or accept guest authorship.

Read our authorship policy.

Corresponding author

Additionally, you will be asked to designate one author to act as corresponding author.

Note that this is the person who will receive correspondence from the PLOS ONE

editorial office, but does not need to be the person who will appear as corresponding author on the paper if accepted.

The corresponding author is responsible for ensuring that the author list and author contributions are accurate and complete. The person noted as the corresponding author should be the person who is actually responsible for ensuring that all the proper forms are submitted and accurate, and should be readily available for correspondence if PLOS ONE editors have questions or concerns.

If a corresponding author will not be available for an extended period of time, please inform PLOS ONE at plosone@plos.org.

Category

Next, you'll receive a prompt about your paper's Section/Category. If your paper describes primary research on human subjects, indicate that here by selecting the category Clinical; if not, select Other.

Abstract

This should exactly match the text of the Abstract in your manuscript file.

Keywords

These will help expedite the internal processing of your manuscript. You will not have another opportunity to edit these, so please make sure to add concise, accurate keywords at this point.

Competing interests

Please declare any affiliations or relationships that could be viewed as potentially competing interests. This information will be published with the final manuscript, if accepted, so please make sure that this is accurate and as detailed as possible.

Read our policy on declaring competing interests.

Financial disclosure

Please disclose your funders and the role they played in your manuscript. This information will be published with the final manuscript, if accepted, so please make sure that this is accurate and as detailed as possible.

Please include relevant grant numbers and the URL of any funder's website. Please also state whether any individuals employed or contracted by the funders (other than the named authors) played any role in: study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. If so, please name the individual and describe their role. If no individuals employed or contracted by the funder(s), other than the authors, were involved in these tasks and the authors had unrestricted access to the

data, please state, “The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.”

Ethics statement

You must provide an ethics statement if your study made use of human or vertebrate animal subjects and/or tissue. The text in this field should exactly match the text of the ethics statement in the body of your paper; we recommend that you cut and paste your paper’s ethics statement into this field. The information submitted here will be evaluated by the PLOS ONE editors to ensure that it meets our standards, so please include as much information as possible. See the PLOS ONE Criteria for Publication for more information about ethics requirements.

Previous interactions

If you are submitting your manuscript following a recommendation from another PLOS journal, or if you have had a previous interaction with PLOS ONE about the manuscript or closely related manuscripts, please indicate the extent of your previous interaction here.

Suggest Academic Editors

Please recommend 2-5 Academic Editors from our board who you feel are qualified to handle your submission based on their areas of expertise.

Collections submission

Please indicate if you are submitting your paper as a part of a collection. More information about collections can be found [here](#).

New taxon

If your paper describes a new taxon, please give its name. Read the guidelines for describing a new taxon.

Dual publications

Please explain whether any of the elements of your paper have ever been published anywhere before. If so, we may have to consider copyright issues, so it is very important that you provide this information in full.

US Government employee

If you are an employee of the US Government, please indicate that here.

Author contributions

This is a series of questions that will enable you to state the contributions of each author. Each author listed on the manuscript should have made a real and concrete contribution to the submission, and each person who contributed to the manuscript

should be listed. More information about authorship can be found in the Editorial Policies.

Required statements

Next you must enter your initials to indicate your agreement with four required statements regarding PLOS Editorial and Publishing Policies.

Direct billing to institutions and funders

If your institution has a direct billing relationship with PLOS, please indicate this here.

Publication fees

Select the country that provided the primary funding for the research in the submission.

For questions about publication fees, you must contact the Author Billing department.

Do not email the journal about publication fees.

Enter comments

You may enter comments for the editorial office here.

Oppose reviewers

If there are people you think should not be invited to review your paper, please provide their information here, as well as the reason for opposition. If there are any Academic Editors you think should not be invited to review your paper, please also provide their information here, making clear that they are an editor, not a reviewer. You must also provide an explanation for your opposition. The editorial team will respect these requests so long as this does not interfere with the objective and thorough assessment of the submission.

Attach files

Now you will upload your cover letter and each of the files to be included in your manuscript. For each file you upload to the system, you will select the file type from the “Item” drop down menu. Enter or amend the autofill description for each file in the Description box. When you are done uploading files, you will have an opportunity to review your file inventory before finalizing your submission.

Review file inventory

When you are satisfied, click “Next” at the bottom of this page. If you experience any issues with your figures, please watch this short video.

Create a PDF

In this step, the system will merge all of your files into a PDF for your approval. When you are ready, approve the PDF to finalize your submission.

Revised Manuscripts

Are you submitting a revision? Read the guidelines for revised manuscripts.

Help

Please contact plosone@plos.org if you have any questions

ANEXO C Normas para publicação no periódico The Scientific World Journal**The Scientific World Journal****Author Guidelines****Submission**

Manuscripts should be submitted by one of the authors of the manuscript through the online Manuscript Tracking System. Regardless of the source of the word-processing tool, only electronic PDF (.pdf) or Word (.doc, .docx, .rtf) files can be submitted through the MTS. There is no page limit. Only online submissions are accepted to facilitate rapid publication and minimize administrative costs. Submissions by anyone other than one of the authors will not be accepted. The submitting author takes responsibility for the paper during submission and peer review. If for some technical reason submission through the MTS is not possible, the author can contact tswj@hindawi.com for support.

Terms of Submission

Papers must be submitted on the understanding that they have not been published elsewhere and are not currently under consideration by another journal published by Hindawi or any other publisher. The submitting author is responsible for ensuring that the article's publication has been approved by all the other coauthors. It is also the authors' responsibility to ensure that the articles emanating from a particular institution are submitted with the approval of the necessary institution. Only an acknowledgment from the editorial office officially establishes the date of receipt. Further correspondence and proofs will be sent to the author(s) before publication unless otherwise indicated. It is a condition of submission of a paper that the authors permit editing of the paper for readability. All inquiries concerning the publication of accepted papers should be addressed to tswj@hindawi.com.

Peer Review

All manuscripts are subject to peer review and are expected to meet standards of academic excellence. If approved by the editor, submissions will be considered by peer-reviewers, whose identities will remain anonymous to the authors.

Microarray Data Submission

For any article that includes microarray data, this data should be deposited in an appropriate database such as Gene Expression Omnibus (GEO) or Array Express, and an entry name or accession number must be included in the manuscript prior to its publication. Microarray data should be MIAME compliant. During the reviewing process, submitting authors are committed to provide the editor and the reviewers handling his/her manuscript with the login information by which they can access this information in the database.

Concurrent Submissions

In order to ensure sufficient diversity within the authorship of the journal, authors will be limited to having two manuscripts under review at any point in time. If an author already has two manuscripts under review in the journal, he or she will need to wait until the review process of at least one of these manuscripts is complete before submitting another manuscript for consideration. This policy does not apply to Editorials or other non-peer reviewed manuscript types.

Article Processing Charges

The Scientific World Journal is an open access journal. Open access charges allow publishers to make the published material available for free to all interested online visitors. For more details about the article processing charges of The Scientific World Journal, please visit the Article Processing Charges information page.

Units of Measurement

Units of measurement should be presented simply and concisely using System International (SI) units.

Title and Authorship Information

The following information should be included

- Paper title
- Full author names
- Full institutional mailing addresses
- Email addresses

Abstract

The manuscript should contain an abstract. The abstract should be self-contained and citation-free and should not exceed 200 words.

Introduction

This section should be succinct, with no subheadings.

Materials and Methods

This part should contain sufficient detail so that all procedures can be repeated. It can be divided into subsections if several methods are described.

Results and Discussion

This section may each be divided by subheadings or may be combined.

Conclusions

This should clearly explain the main conclusions of the work highlighting its importance and relevance.

Acknowledgments

All acknowledgments (if any) should be included at the very end of the paper before the references and may include supporting grants, presentations, and so forth.

References

Authors are responsible for ensuring that the information in each reference is complete and accurate. All references must be numbered consecutively and citations of references in text should be identified using numbers in square brackets (e.g., “as discussed by Smith [9]”; “as discussed elsewhere [9, 10]”). All references should be cited within the text; otherwise, these references will be automatically removed.

Preparation of Figures

Upon submission of an article, authors are supposed to include all figures and tables in the PDF file of the manuscript. Figures and tables should not be submitted in separate files. If the article is accepted, authors will be asked to provide the source files of the figures. Each figure should be supplied in a separate electronic file. All figures should be cited in the paper in a consecutive order. Figures should be supplied in either vector art formats (Illustrator, EPS, WMF, FreeHand, CorelDraw, PowerPoint, Excel, etc.) or bitmap formats (Photoshop, TIFF, GIF, JPEG, etc.). Bitmap images should be of 300 dpi resolution at least unless the resolution is intentionally set to a lower level for scientific reasons. If a bitmap image has labels, the image and labels should be embedded in separate layers.

Preparation of Tables

Tables should be cited consecutively in the text. Every table must have a descriptive title and if numerical measurements are given, the units should be included in the column heading. Vertical rules should not be used.

Proofs

Corrected proofs must be returned to the publisher within 2-3 days of receipt. The publisher will do everything possible to ensure prompt publication. It will therefore be appreciated if the manuscripts and figures conform from the outset to the style of the journal.

Copyright

Open Access authors retain the copyrights of their papers, and all open access articles are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided that the original work is properly cited.

The use of general descriptive names, trade names, trademarks, and so forth in this publication, even if not specifically identified, does not imply that these names are not protected by the relevant laws and regulations.

While the advice and information in this journal are believed to be true and accurate on the date of its going to press, neither the authors, the editors, nor the publisher can accept any legal responsibility for any errors or omissions that may be made. The publisher makes no warranty, express or implied, with respect to the material contained herein.

Disclosure Policy

A competing interest exists when professional judgment concerning the validity of research is influenced by a secondary interest, such as financial gain. We require that our authors reveal any possible conflict of interest in their submitted manuscripts.

If there is no conflict of interest, authors should state that “The author(s) declare(s) that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.”

Clinical Study

When publishing clinical studies, Hindawi aims to comply with the recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) on trials registration. Therefore, authors are requested to register the clinical trial presented in the manuscript in a public trials registry and include the trial registration number at the end of the abstract. Trials initiated after July 1, 2005 must be registered prospectively before patient recruitment has begun. For trials initiated before July 1, 2005, the trial must be registered before submission. International Commission on Zoological Nomenclature.

When publishing papers which describe a new zoological taxon name, Hindawi aims to comply with the requirements of the International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN). Therefore, for all papers that include the naming of a new zoological taxon, authors are requested to contact Zoobank, the online registration system for the International Commission on Zoological Nomenclature, to obtain a Life Science Identifier (LSID). Moreover, authors are requested to insert the following text in the “Materials and Methods” section, in a subsection to be called “Nomenclatural Acts”:

The new names contained in this article are available under the International Code of Zoological Nomenclature. This work and the nomenclatural acts it contains have been registered in ZooBank. Zoobank Life Science Identifier (LSID) for this publication is: urn:lsid:zoobank.org:pub:XXXXXXXX. The LSID registration and any associated information can be viewed in a web browser by adding the LSID to the prefix “<http://zoobank.org/>.”

Ethical Guidelines

In any studies that involve experiments on human or animal subjects, the following ethical guidelines must be observed. For any experiments on humans, all work must be conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (1964). Papers describing experimental work which carries a risk of harm to human subjects must include a statement that the experiment was conducted with the human subjects’ understanding and consent, as well as a statement that the responsible Ethical Committee has approved the experiments. In the case of any

animal experiments, the authors must provide a full description of any anesthetic or surgical procedure used, as well as evidence that all possible steps were taken to avoid animal suffering at each stage of the experiment.

