

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

MARIA ALICE ALVES TAVARES

**ANÁLISE FITOQUÍMICA E ESTUDO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E
MODULADOR DE *Luehea paniculata* MART. & ZUCC. (MALVACEAE)**

Juazeiro do Norte – CE
2018

MARIA ALICE ALVES TAVARES

**ANÁLISE FITOQUÍMICA E ESTUDO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E
MODULADOR DE *Luehea paniculata* MART. & ZUCC. (MALVACEAE)**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Aracélio Viana Colares

MARIA ALICE ALVES TAVARES

**ANÁLISE FITOQUÍMICA E ESTUDO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E
MODULADOR DE *Luehea paniculata* MART. & ZUCC. (MALVACEAE)**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Aracélio Viana Colares

Data de aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Aracélio Viana Colares
Orientador

Prof. Esp. Cícero Roberto Nascimento
Examinador 1

Prof. Dr. Edinardo Fagner Ferreira Matias
Examinador 2

ANÁLISE FITOQUÍMICA E ESTUDO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E MODULADOR DE *Luehea paniculata* MART. & ZUCC. (MALVACEAE)

Maria Alice Alves Tavares¹, Aracélio Viana Colares².

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi analisar fitoquimicamente e investigar o potencial antimicrobiano e modulatório dos extratos etanólicos das folhas (EEFLp) e entrecasca (EEEnLp) de *L. paniculata*, frente às cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. A quantificação dos compostos fenólicos e flavonoides foi realizada por meio de HPLC e utilizou-se os métodos de microdiluição para modulação com antibióticos e determinação da atividade antimicrobiana. Os resultados deste estudo demonstraram que o ácido rosmarínico e a luteolina foram os compostos majoritários do EEFLp e do EEEEnLp, respectivamente. A concentração inibitória mínima (CIM) de ambos os extratos testados foi $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ e que os compostos presentes no EEFLp e EEEEnLp antagonizaram os efeitos dos antibióticos da classe das Quilonas (Norfloxacin), Aminoglicosídeos (Gentamicina) e Beta Lactâmicos (Ampicilina) frente às cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados indicam que a espécie *L. paniculata* não apresenta atividade antimicrobiana satisfatória e, nas condições testadas, não apresenta potencial farmacológico para inibir a resistência antibacteriana quando associado a antibióticos convencionais.

Palavras-Chave: Análise fitoquímica. *Luehea paniculata*. Plantas medicinais.

PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND STUDY OF ANTIMICROBIAL POTENTIAL AND MODULATOR OF *Luehea paniculata* MART. & ZUCC. (MALVACEAE)

ABSTRACT

The search for new therapeutic targets has been intensified, especially because of the recent increase in bacterial resistance worldwide. The species *Luehea paniculata*, popularly known as “*açoita cavalo*” is traditionally used to treat several diseases, including: dysentery, leucorrhoea, rheumatism, gonorrhea and tumors. The aim of this work was to perform a phytochemical analysis and investigate the antimicrobial and antibiotic-modulating potential of the ethanolic extracts from the leaves (EEFLp) and bast (EEEnLp) of *L. paniculata*, against multiresistant strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. The quantification of the phenolic and flavonoid compounds was performed using HPLC and the antimicrobial and antibiotic-modulating activities were evaluated by microdilution. The results obtained in this study demonstrated that rosmarinic acid and luteolin were the major compounds found in EEFLp and EEEEnLp, respectively. The minimum inhibitory concentration (MIC) of both extracts tested was $\geq 1024 \mu\text{g} / \text{mL}$ and the

compounds present in EEFLp and EEEnLp antagonized the effects of antibiotics of Quinolone (Norfloxacin), Aminoglycoside (Gentamicin) and Beta Lactam (Ampicilin) antibiotics against strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. These results indicate that *L. paniculata* do not present satisfactory antimicrobial activity and, under the present conditions, do not present pharmacological potential to inhibit bacterial resistance when associated with conventional antibiotics

Key-words: Phytochemical analysis. *Luehea paniculata*. Medicinal plants.

1 INTRODUÇÃO

A prática de utilizar as propriedades terapêuticas das plantas data milhares de anos, desde os mais antigos caçadores-coletores, há evidências do uso de vegetais com tratamento de doenças. O cultivo de tais plantas, pelos sábios de suas respectivas sociedades criou o que seria o precursor da medicina moderna (FEIJÓ et al., 2012). Durante muito tempo a única fonte de tratamento para enfermidades foram os produtos naturais principalmente às plantas e seus derivados. Chás, sucos, tinturas, banhos, cataplasma e unguentos, essas eram as formas nas quais as ervas poderiam ser utilizadas para manter a homeostasia do corpo (RIBEIRO et al., 2009).

Comunidades carentes, que ocupam zona rural, florestas ou que possuem contato frequente com as plantas, são detentores de grandes informações. Pelo fato do uso constante e do legado herdado de outras gerações. O conhecimento popular medicinal contribui de forma significativa para a ciência, onde através de estudos é possível expandir informações verdadeiras e importantes, com isso beneficiar diferentes culturas. Devido à resistência contra antimicrobianos ter se tornado cada vez mais perceptível causada por diferentes microrganismos, é de suma importância encontrar meios para controlar essa situação. (MIRANDA et al., 2010; PINTO; AMOROZO; FURLAN, 2006).

O uso indiscriminado de ervas é preocupante para a saúde pública, uma vez que existem muitas plantas que são tóxicas em determinadas concentrações ou quando essas ervas são combinadas com medicamentos, é capaz de haver uma interação e levar a sérios danos ao usuário. Os efeitos adversos podem ser influenciados pelas características do indivíduo como idade, sexo, características genéticas entre outros. A facilidade com que se conseguem as plantas é um forte fator para o constante uso, no qual é possível encontrar em lojas de produtos naturais, feiras livres e mercados públicos além das próprias residências (BALBINO; DIAS, 2010; RODRIGUES et al., 2011).

Luehea paniculata é uma espécie pertencente à família Malvaceae, conhecida popularmente como açoita-cavalo, cacueti, estriveira, envireira-do-campo ou ivitinga, podendo ser encontrada no Brasil, amplamente distribuída no Cerrado e Mata Atlântica. Existem relatos do uso desta planta na medicina popular no tratamento de feridas, dores estomacais, desordens urinárias, hepatite e pneumonia (TANAKA; VIDOTTI, SILVA, 2003). Além do uso medicinal, está também é empregada na marcenaria (GUIMARÃES et al., 1993).

A farmacologia do gênero *Luhea* indica potencial para produzir antibióticos e anti-inflamatórios, no entanto ainda são necessários mais estudos aprofundados com espécies deste gênero. Algumas espécies do gênero são conhecidas popularmente como açoita cavalo devido as suas semelhanças. Pesquisas mostram que produtos formados a partir das folhas secas da *Luhea* podem ser usados para tratar disenteria, leucorréia, reumatismo, gonorréia e tumores (JUNIOR et al., 2015; SILVA et al., 2012; TANAKA et al., 2005).

Ácidos fenólicos e flavonoides são frequentemente encontrados entre as espécies da família Malvaceae e na maioria das situações são os compostos majoritários, sendo esses reponsáveis pela atividade antioxidante expressada pela planta (CUNHA, 2016). Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de caracterizar fitoquimicamente, analisar o potencial antimicrobiano e modulador do extrato etanólico das folhas e entrecasca de *Luehea paniculata*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 COLETA DA PLANTA

Folhas e entrecascas de *L. paniculata* foram coletadas em área de Cerrado localizado na cidade de Lavras da Mangabeira, Sul do estado do Ceará na Região Nordeste do Brasil, nas seguintes coordenadas: 06°72'2432''S e 38°97'7396''. O material vegetal foi depositado e identificado no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará sob o número 54641.

2.3 PREPARO DOS EXTRATOS

O material vegetal foi submetido à secagem a uma temperatura de 60° C, pesado e macerado com Etanol PA por um período de sete dias. Em seguida foi filtrado e o excesso do solvente extraído em evaporador rotativo sob uma pressão reduzida (40 rpm a 60° C), obtendo-se, dessa forma, os extratos etanólicos. Os extratos foram diluídos em DMSO (dimetilsulfóxido) até uma concentração de 10 mg/mL e logo após diluído em água destilada até uma concentração de 1024 mg/mL (COUTINHO et al., 2009).

2.4 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS POR HPLC

Os extratos etanólicos de *L. paniculata* foram injetados na coluna de fase reversa Phenomenex C18 (4,6 mm x 250 mm) com enchimento de 5 µM de diâmetro. A fase móvel ocorreu com água Milli-Q, com pH 2,0, 1% de ácido fosfórico e metanol. Foi utilizado uma concentração de 10 mg/mL dos extratos, a uma taxa de fluxo de 0,6 mL/min, com volume de injeção de 50 µL. A amostra e a fase móvel foram filtradas por meio de filtro de membrana de 0,45 µm e em seguida, desgaseificado por banho de ultrassons antes da utilização. As soluções stock de referências padrões foram preparadas em metanol: água (1: v/v) e em concentrações que variaram de 0,030 a 0,500 mg/mL. Os picos foram confirmados por cromatografia de comparação do seu tempo de retenção com os de padrões de referência e por espectros de DAD (200 a 600 nm). Todas as operações de cromatografias foram realizadas a temperatura ambiente e triplicata (JUNIOR et al., 2015)

2.5 MICRORGANISMOS

Foram utilizadas cepas bacterianas multirresistentes de isolados clínicos *Escherichia coli* 06, *Staphylococcus aureus* 10 e *Pseudomonas aeruginosa* 24. As linhagens foram mantidas em *Agar infusão de coração* (HIA). Em seguida suspensas em tubo de ensaio com salina 0,9% para obter uma suspensão com turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland (1×10^8 UFC/mL). Na tabela 01 está descrito o perfil de resistência das bactérias utilizadas.

Tabela 1. Origem bacteriana e perfil de resistência a antibióticos.

Bactéria	Origem	Perfil de Resistência
<i>Escherichia coli</i> 06	Urina	Cf, Ca, Clx, Amp, Nor, Lm, Cip, Lv, Of, Ampisul, Gen
<i>Staphylococcus aureus</i> 10	Ferida Cirúrgica	Ca, Clx, Cf, Oxa, Para, Amp, Amo, Mof, Cip, Lv, Cla, Az, Gen
<i>Pseudomonas aeruginosas</i> 24	Ferida Cirúrgica	Im, Cip, Ptz, Lv, Mer, Ami, Cef, Nor

Amp – Ampicilina – Amo – Amoxicilina – Ampisul – Ampicilina-sulbactam – Ami – Amicacina – Az – Azitromicina – Ca – Cefadroxil – Cef – Ceftazidima – Cf – Cefalotina – Cla – Claritromicina – Clx – Cefalexina – Cip – Ciprofloxacino – Gen – Gentamicina – Im – Imipenem – Lm – Lomefloxacina – Lv – Levofloxacina – Mer – Meropenem – Mof – Moxifloxacino – Nor – Norfloxacina – Of – Ofloxina – Oxa – Oxacilina – Ptz – Piperacilina-Tazobactam – Para – Paramomicina

2.6 ENSAIO ANTIBACTERIANO E MODULADOR

A Concentração mínima inibitória (CIM) foi determinada utilizando um ensaio de microdiluição em caldo, com um inóculo de 100 uL da suspensão bacteriana em caldo BHI (10^5 UFC / mL) foi homogeneizado em 96 poços das placas de microdiluição. Antes do inóculo bacteriano, amostras do extrato etanólico (100 uL) foram adicionados à microplaca e diluídos em série, dando concentrações finais de 512-8 mg / mL. Tubos Eppendorf foram preparados cada um contendo 1,5 mL de 10% de BHI, 150 uL do inóculo bacteriano e o produto natural a uma concentração de CIM/8. Após incubação, 25uL da solução indicadora foi adicionado em cada cavidade e as placas foram incubadas por 1 hora em temperatura ambiente. Todas as experiências foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como média geométrica. A partir dos resultados obtidos nos testes de microdiluição foi iniciado o teste de atividade moduladora. A suspensão bacteriana foi diluída em caldo BHI a 10%, foram então homogeneizados nos poços de uma placa de microdiluição acrescido de diferentes concentrações dos antibióticos gentamicina (GEN), norfloxacina (NOR) e ampicilina (AMP) e dos extratos, utilizando o valor do CIM/8 para os resultados com $CIM \leq 512 \mu\text{g/mL}$. Os antibióticos foram solubilizados inicialmente em água de forma a obter-se uma solução estoque de 1024 $\mu\text{g/mL}$. As concentrações finais dos antibióticos no meio de cultura foram de 512 a 1 $\mu\text{g/mL}$. Os testes foram efetuados em triplicata. As placas foram incubadas a 37 ± 2 °C durante 24 horas. Para a revelação dos resultados foi utilizada uma solução indicadora de resazurina sódica na concentração de 0,01%. Após a incubação, 25 μL da solução indicadora foi adicionada em cada cavidade e as placas foram incubadas por 1 hora em temperatura

ambiente. A modulação determina o efeito sinérgico e/ou antagônico do óleo essencial frente aos antibióticos. A leitura dos resultados para determinação da modulação foi considerada como positivo para os poços que permaneceram com a coloração azul e negativa para os que obtiveram coloração vermelha. (SOBRAL et al., 2016).

2.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

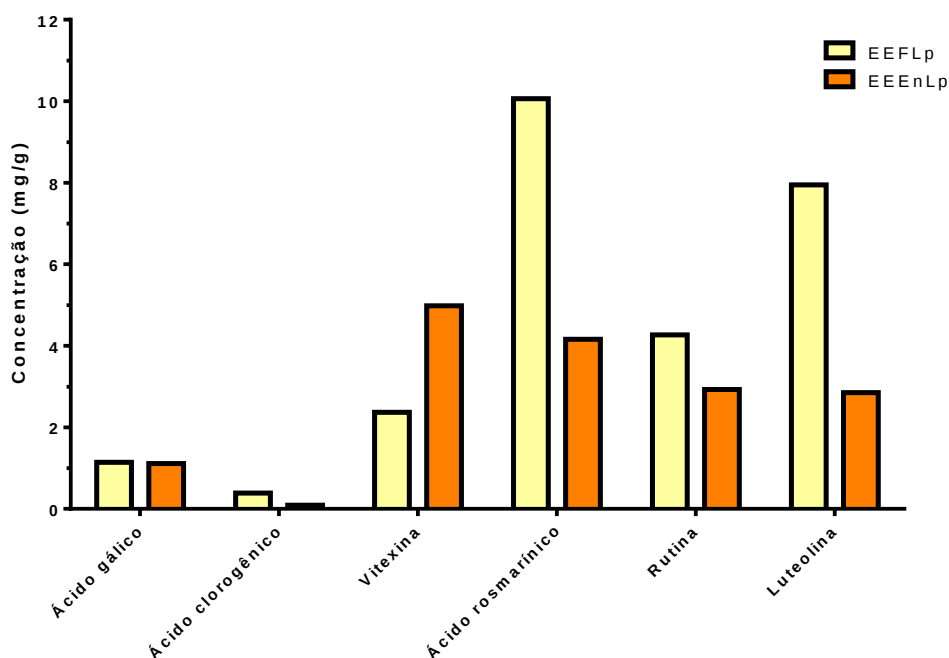
Os resultados foram expressos em média aritmética $\pm$ desvio padrão, avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) seguido pelo pos-test Bonferroni utilizando o software GraphPad Prism. Onde as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A descoberta de novas formas de tratamento para patógenos oportunistas tem se intensificado cada vez mais, devido a isso se faz necessário estudos científicos que possam comprovar a atividade antimicrobiana de produtos naturais (COLARES et al., 2017).

De acordo com a quantificação química identificou-se o ácido fenólico, ácido rosmarínico (38,42 %) e o flavonoide, vitexina (30,89 %), como constituintes majoritários do extrato etanólico das folhas e entrecasca de *L. paniculata*, respectivamente (gráfico 1).

Gráfico 1 – Comparação da quantidade de compostos fenólicos e flavonoides do extrato etanólico das folhas (EEFLp) e da entrecasca (EEEnLp) de *Luhea paniculata*.



A presença em maior quantidade de fenóis totais e flavonoides no extrato da folha de *L. paniculata* pode estar relacionado a fatores como temperatura, nutrição, maior intensidade da radiação solar uma vez que as folhas são estruturas mais expostas as alterações ambientais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007)

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) de ambos os extratos foi ≥ 1024 ug/mL. Os testes da modulação foram realizados utilizando antibióticos da classe Quinolonas (Norfloxacin), Beta Lactâmicos (Ampicilina) e Aminoglicosídeos (Gentamicina) que são frequentemente usados por possuir uma eficácia comprovada contra bacilos Gram-negativos, por exemplo (GOMES et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2006). Os extratos das folhas (gráfico 2) e entrecasca (gráfico 3) apresentaram resultados antagônicos para ampicilina e norfloxacin frente *Staphylococcus aureus*, gentamicina e norfloxacin frente *Escherichia coli* e Gentamicina e norfloxacin frente *Pseudomonas aeruginosa*, para o restante dos testes modulatórios o resultado foi estatisticamente não significativo ($p < 0,001$).

Gráfico 2. Modulação do extrato etanólico das folhas de *L. paniculata* (EEFLp) com antibióticos comerciais norfloxacina, gentamicina e ampicilina frente a cepas de bactérias multirresistentes.

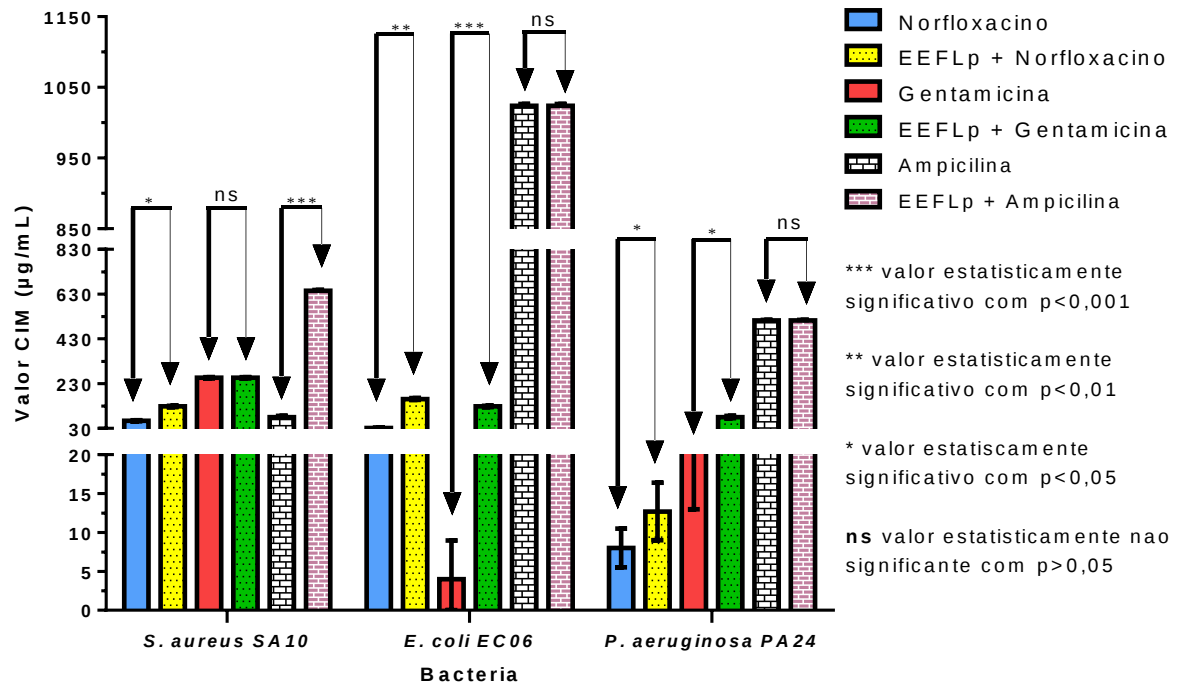
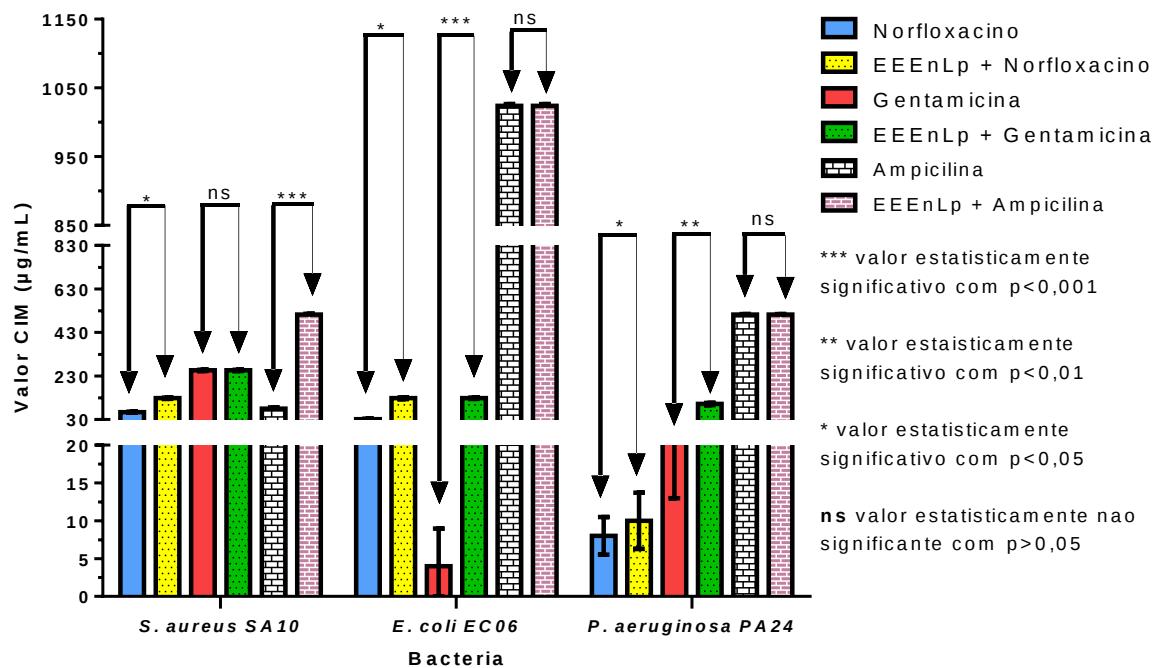


Gráfico 3. Modulação do extrato etanólico das entrecascas de *L. paniculata* (EEEnLp) com antibióticos comerciais norfloxacina, gentamicina e ampicilina frente a cepas de bactérias multirresistentes.



Na literatura é relatado e comprovado que os fenólicos possuem capacidade antioxidante, uma vez que esses compostos apresentam uma atividade significativa de inibição de metais (ATOUI et al., 2005). Entretanto, compostos quelantes encontrados nos princípios ativos dos extratos podem ser responsáveis por ação antagônica, ou seja, quando um antimicrobiano minimiza a atividade do outro (CRUZ et al, 2015). O mesmo aconteceu no estudo de Veras et al (2011) quando o flavonoide isoquercetina restringiu a atividade do aminoglicosídeo contra a cepa multirresistente de *Escherichia coli*.

Flavonoides e fenólicos podem também atuar com efeito antagônico, o que acarretará interferências na permeabilidade da membrana das bactérias, dificultando o influxo dos antibióticos e consequentemente não inibindo a bomba de efluxo (TINTINO et al, 2013). Dessa forma, a presença de uma estrutura externa formando um envelope nas bactérias Gram-negativas, por exemplo, pode dificultar a ação de produtos naturais bem como a de fármacos antimicrobianos (HOLLEY; PATEL, 2005).

Nesse sentido, é provável que as atividades antagônicas de *L. paniculata* sejam devido a possíveis interações dos compostos presente nos extratos bruto com os antibióticos utilizados. No entanto, a realização de novos estudos pode elucidar essas interações e, dessa forma, possivelmente, demonstrar a diminuição da atividade antimicrobiana dos fármacos testados.

4 CONCLUSÃO

A análise fitoquímica demonstrou presença de compostos fenólicos e flavonoides como constituintes majoritários dos extratos de *L. paniculata*. Além disso, os resultados sugerem que o extrato etanólico das folhas e entrecasca de *Luehea paniculata* não apresenta atividade antibacteriana e moduladora quando associados aos antibióticos utilizados. Desta forma, convém ressaltar que, como as plantas medicinais são bastante utilizadas pela população, há necessidade de mais estudos que visem elucidar os efeitos prejudiciais que possam ocorrer com o uso concomitante de antimicrobianos, podendo verificar mais especificamente quais metabólitos em associação estão atuando em ação antagônica.

REFERÊNCIAS

ATOUI, A. K. et al., Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**. v. 89, n. 1, p. 27-36, 2005.

BALBINO, E. E. et al., Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de Plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 20, n. 6, 2010.

COLARES, A.V. et al., Avaliação da Atividade Antibacteriana das Frações da Entrecasca de *Guapira Graciliflora* (Mart. Ex Schmidt) Lundell (Nyctaginaceae). **Revista Interfaces**, v.5, n.14, 2017.

COUTINHO, H.D.M. et al., Herbal therapy associated with antibiotic therapy: potentiation of the antibiotic activity against methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* by *Turnera ulmifolia* L. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.9, n.13 p.1-4, 2009.

CRUZ, A.J.F. et al., Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora dos extratos metanólico e hexânico da folha de *Allium cepa*. **Revista Ciencias de la Salud**. v. 14, n. 2, 2015.

CUNHA, S. B. Investigação de Componentes Químicos da Casca do Caule de *Luehea divaricata* Martius – (Malvaceae) e suas Potenciais Atividades Biológicas . 2016. Dissertação (Pós-graduação em Química) – Universidade Federal de Santa Maria Centro de Ciências Naturais e Exatas, Santa Maria, 2016.

FEIJÓ, A. M. et al., Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de Diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 14, n. 1, 2012.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**. v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.

GOMES, G.C.; LOPES, C.C.; MARONA, H.R.N. Quinolonas: aplicações clínicas, **Grupo Editorial Moreira Jr**, 2003.

GUIMARÃES, E. F. et al., **Árvores do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: Ed. Lidador, p. 234, 1993.

HOLLEY, R.A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food and Nutrition Sciences**. v. 22, n. 4, p. 273-292, 2005.

JUNIOR, J. T.C. et al., Phytochemical Analysis and Modulation of Antibiotic Activity by *Luehea paniculata* Mart. & Zucc. (Malvaceae) in Multiresistant Clinical Isolates of *Candida Spp*. **BioMed Research International**. v. 2015, s/n, 2015.

MIRANDA, G. S. et al., Avaliação da atividade antibacteriana das plantas *Gossypium hirsutum* L. (Algodão) e *Phyllanthus niruri* L. (Quebra-pedra) frente a *Staphylococcus aureus*. Anais II SIMPAC. Viçosa, v. 2, n. 1, 2010.

OLIVEIRA, J. F.P.; CIPULLO, J.P.; BURDMANN, E.A. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 21, n. 4, 2006.

PINTO, E. P. P.; AMOROZO, M. C. M.; FURLAN, A. Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica – Itacaré, BA, Brasil. Sociedade Botânica do Brasil, v. 20, n.4, 2006.

RIBEIRO, C. M. et al., Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia. **Infarma**. Brasília, v. 21, n. 1/2, 2009.

RODRIGUES, H. G. et al., Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Botucatu, v. 13, n. 3, 2011.

SILVA, D. A. et al., Antiproliferative activity of *Luehea candicans* Mart. et Zucc. (Tiliaceae), Natural Product Research, v. 26, n. 4, 2012.

SOBRAL, M. A. F. et al., Atividade antibacteriana e moduladora in vitro de extrato metanólico e hexânico de *Beta vulgaris* spp. (Linnaeus). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. v. 21, n. 1, 2016.

TANAKA, J. C. A. et al., Chemical constituents of *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). **Química Nova**. São Paulo, v. 28, n. 5, 2005.

TANAKA, J. C. A.; VIDOTTI, G.J.; SILVA, C.C. A New tormentic acid derivative from *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. São Paulo, v. 14, n. 3, 2003.

TINTINO, S.R. et al., Avaliação in vitro da Atividade Antimicrobiana e Moduladora Dos Extratos Metanólico e Hexânico De *Bulbo Costus arabicus*. **Bioscience Journal**. v. 29, n.3, 2013.

VERAS, H.N.H. et al., Comparative evaluation of antibiotic and antibiotic modifying activity of quercetin and isoquercetin in vitro. **Current Topics in Nutraceutical Research**. v. 1, n.2, 2011.