

# Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos da casca do caule e da vagem de *Libidibia ferrea* L. frente a microrganismos da cavidade bucal

## Antimicrobial activity in vitro of extracts of the stem bark and fruit of *Libidibia ferrea* L. against microorganisms of the oral cavity

Glauber P. Oliveira\*<sup>1</sup>; Tatiane P. Souza<sup>1</sup>; Sheila K. Caetano<sup>1</sup>; Kaliny S. Farias<sup>1</sup>; Gisely N. Venancio<sup>1</sup>; Maria F. C. L. Bandeira<sup>1</sup>; Nikeila C. O. Conde<sup>1</sup>.

E-mail: glauberpoliveira@hotmail.com

<sup>1</sup>Universidade Federal do Amazonas – Faculdade de Odontologia FAO/UFAM. Avenida Waldemar Pedrosa, 1539, Centro. CEP: 69033-330 Manaus – AM Brasil.

### Resumo

No presente estudo foi avaliada a ação antimicrobiana *in vitro* do extrato da casca do caule e da vagem de jucá frente a microrganismos da cavidade bucal. Tratou-se de um estudo experimental laboratorial, no qual foi avaliada a atividade antimicrobiana dos extratos aquosos a 7,5% em diluições variando de 1:1 a 1:512, através da técnica de difusão em ágar. Foram utilizadas cepas padrão de *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073); *Streptococcus mutans* (ATCC 25175); *Streptococcus oralis* (ATCC 10557); *Lactobacillus casei* (ATCC 7469) e a *Candida albicans* (INCQS 40040). A clorexidina 0,12% foi utilizada como controle positivo. Os resultados da difusão em ágar demonstraram que quando avaliado frente ao *L. casei*, o extrato da vagem mostrou-se mais efetivo, com CIM em 9,3 mg/ml comparado à CIM da casca que foi 37,5 mg/ml. Quando o extrato da vagem foi testado frente aos *S. oralis* e *S. mutans* os valores de MIC foram iguais e o dobro, respectivamente, quando comparados com os valores obtidos com o extrato da casca do caule. Em relação a *C. albicans*, o valor de MIC para o extrato da vagem e da casca do caule foi 18,7 mg/ml. Enquanto que frente a *S. salivarius* o extrato da casca do caule teve valor de MIC 37,5 mg/ml e o extrato da vagem não apresentou atividade. Pode-se concluir que o extrato da casca do caule de jucá apresentou atividade antimicrobiana satisfatória frente aos patógenos da cavidade bucal e superior ao extrato da vagem.

**Palavras-chave:** *Libidibia ferrea* L.; Biofilme; Fitoterapia.

### Abstract

In the present study was evaluated *in vitro* antimicrobial activity of the extract of the stem bark and fruit jucá against microorganisms of the oral cavity. This was an experimental laboratory study in which was evaluated the antimicrobial activity of aqueous extracts 7.5% in dilutions ranging from 1:1 to 1:512, using the technique of agar diffusion. Standard strains used were: *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus oralis* (ATCC 10557), *Lactobacillus casei* (ATCC 7469), *Candida albicans* (INCQS 40040) and *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073). Chlorhexidine 0.12 % was used as a positive control. The results of the agar diffusion showed that when assessed against *L. casei*, extract of the fruit was more effective, and with MICs 9.3 mg/mL compared to stem bark was 37.5 mg/mL. When the fruit extract were tested against *S. oralis* and *S. mutans* MIC values were the same and twice, respectively, when compared with values obtained with the extract of the stem bark. With respect to *C. albicans*, the MIC value for the extract of the fruit and stem bark was 18.7 mg/mL. While against *S. salivarius* extract of the stem bark had MIC value of 37.5 mg/mL and the extract of the fruit was inactive. It can be concluded that the extract of the stem bark of jucá showed satisfactory antimicrobial activity against pathogens of the oral cavity and superior to the extract of the fruit.

**Key words:** *Libidibia ferrea* L.; Biofilm; Phytotherapy.

## Introdução

Na região Amazônica, existe uma grande biodiversidade de plantas medicinais utilizadas de maneira empírica, porém com indicações consolidadas por séculos de interação cultural. Dentre muitas plantas medicinais se destacam aquelas utilizadas como anti-inflamatório e antimicrobiano (Borrás, 2003).

*Libidibia ferrea* é uma planta utilizada na medicina popular e seus frutos possuem ação contra diabetes e anemia (Oliveira, 2008); além de atividade anticancerígena (Nakamura et al., 2002). Por outro lado, a casca do caule é utilizada para emagrecimento, como descongestionante em casos de enterocolite e diarreia, possível benefícios no sistema cardiovascular (Oliveira, 2008) e no tratamento de feridas cutâneas (Sampaio et al., 2009).

Desde que obtido adequadamente, o extrato vegetal reduzido a pó apresenta inúmeras vantagens frente à forma fluida, tais como, menor espaço necessário para o armazenamento do produto, melhor estabilidade, facilidade de manuseio e padronização dos princípios ativos presentes (Senna et al., 1997).

Através de estudo fitoquímico preliminar do extrato hidroalcoólico da casca e das folhas de jucá foi verificada a presença de flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas, esteroides e compostos fenólicos (Silva, 2008). Taninos são os compostos majoritários do extrato e podem ser considerados os responsáveis pela atividade antidiabética (Souza et al., 2006). No caule, González, Barros e Bacchi (2004), também identificaram a presença de flavonoides, taninos, cumarinas, esteroides e derivados antracênicos.

Com relação à sua atividade, estudos comprovaram ação antimicrobiana sobre microrganismos do biofilme dental em modelo experimental com células planctônicas e multiespécie (Sampaio et al., 2009) e sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Enterobacter gergoviae* (Pereira et al., 2006).

Biofilme dental é o termo utilizado para descrever comunidades de microrganismos ligados à superfície do dente, tendo o *Streptococcus mitis* e o *Streptococcus sanguis* como bactérias pioneiras. A presença do *Streptococcus mutans* e do *Streptococcus sobrinus*, é mais prevalente nas etapas iniciais da cárie. O *Lactobacillus casei* é encontrado na evolução da cavitação (Buischi, 2000). Este biofilme é constituído de uma estrutura altamente organizada, na qual as espécies microbianas estão

unidas umas às outras, formando conglomerados em uma matriz de polissacarídeos e, assim, criando um sistema altamente protetor para as espécies que nele residem (Walker, 2004).

Neste sentido, o presente estudo avaliou a atividade antimicrobiana dos extratos aquosos da vagem e da casca do caule de *Libidibia ferrea* L. a fim de obter uma matéria-prima para formulação de um produto de uso tópico para mucosa bucal.

## Materiais e métodos

### Material vegetal

A casca do caule e a vagem da espécie vegetal *Libidibia ferrea* L. foram coletadas na cidade de Manaus em locais e datas indicados na Tabela 1. A identificação botânica foi realizada no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) recebendo o código de registro de número 228.022. Em seguida, as matérias-primas foram processadas na Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF/UFAM) de acordo com a metodologia descrita por (Melo et al. 2010).

**Tabela 1** - Regiões e tempos de coleta.

	Região 1	Região 2	Região 3	Região 4
Regiões de coleta	INPA	INPA, BR-174, KM 42	BR AM 104	INPA, BR-174, KM 42
Data	21/12/2010	27/01/2011	27/01/2011	20/09/2010

INPA = Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia.

### Preparação do extrato

O fruto e a casca do caule da espécie *Libidibia ferrea* L. foram, separadamente, submetidos à secagem, seguindo-se a preparação do extrato. Tal escolha, quanto às partes da planta utilizadas no estudo, seguiu a orientação do modo de uso da medicina popular, e a fim de eliminar a dependência da sazonalidade do fruto, a casca do caule possibilitou uma nova opção de matéria-prima disponível durante todo o ano. Para a preparação do extrato foram utilizados os princípios de assepsia para que fosse preservada a qualidade do material.

O material vegetal, após coleta, foi colocado para secar a temperatura ambiente por 48 horas, a sombra, em lugar seco e arejado. Em seguida, todo o material

foi submetido à secagem em estufa de ar circulante, à temperatura de 40 °C ± 2 °C, até estabilização da umidade residual. Após a secagem, os farmacógenos foram submetidos à moagem em moinho de facas, a fim de obter a matéria-prima vegetal (MPV).

O extrato da vagem foi obtido através da técnica de decocção, sob-refluxo, por um período de extração de 15 minutos em uma relação droga: solvente de 7,5% (m/V). O extrato da casca do caule, por sua vez, foi obtida por infusão a partir da MPV, por 15 minutos, numa relação droga: solvente de 7,5:100 (m/v). Ambos utilizaram água destilada como líquido extrator.

O material extraído foi resfriado e filtrado em um balão volumétrico de 1000 ml, completando-se o volume com água destilada. As soluções extrativas de jucá foram levadas para o aparelho Spray Dry para que fosse obtido o extrato seco por aspersão, visando reduzir a pó e manter a estabilidade.

### **Avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato da vagem e da casca de *Libidibia ferrea* L.**

#### **Microorganismos testes e preparação de inóculos**

Os microrganismos utilizados para a determinação da CIM foram: *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073); *Streptococcus mutans* (ATCC 25175); *Streptococcus oralis* (ATCC 10557); *Lactobacillus casei* (ATCC 7469) e a *Candida albicans* (INCQS 40040). As cepas bacterianas foram fornecidas pelo

Laboratório de Microbiologia Bucal da Universidade Federal da Paraíba e INCQS / FIOCRUZ.

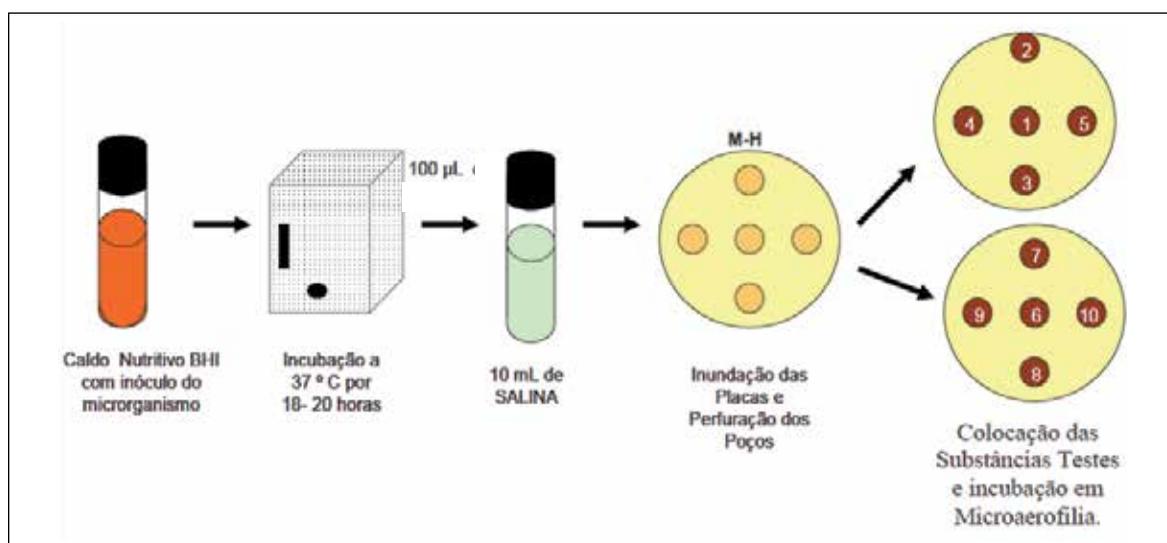
Para obtenção do inóculo os microrganismos foram reativados em caldo nutritivo de BHI (Brain Heart Infusion – DIFCO) em tubos de ensaios de 10x150mm, incubados a 37° C por 48 horas para *Streptococcus mutans* e os demais microrganismos por 24 horas, em aerofilia para o *L. casei* e em microaerofilia para os demais microrganismos. No caso da *Candida albicans*, foi reativado em caldo BHI e incubada a 37° C por 48 horas (Mattigati et al., 2012). Em condições assépticas foram retiradas alíquotas das bactérias e leveduras, inoculadas em 5 ml de caldo BHI, estéril, em tubo de ensaio de 10x150mm. As suspensões foram turbilhoadas em agitador de tubos (MARCONI, MA – 162) até se tornarem homogêneas. Os inóculos foram padronizados pela escala de McFarland (PROBAC) com turbidez compatível a 0,5, a fim de fornecer um padrão de 10<sup>8</sup> UFC/ml (Sampaio et al., 2009).

#### **Solução teste**

Para a obtenção da solução teste 0,2 g de extrato em pó do fruto e da casca de jucá foram diluídos em 20 ml de água destilada. Foi levada ao agitador magnético (MARCONI – MA 085) a fim de obter soluções homogêneas.

#### **Determinação da atividade antimicrobiana do extrato da vagem e da casca de *Libidibia ferrea* L. em meio sólido**

A atividade antimicrobiana foi determinada, inicialmente, segundo metodologia proposta por Bauer



**Figura 1** - Representação Esquemática da CIM.

e colaboradores (1966) modificados, através da difusão em meio sólido (Figura 1). Para tanto, as linhagens foram cultivadas em caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion – DIFCO®), incubadas a 37°C por 24 horas.

Os meios para crescimento dos microrganismos foram preparados 24 horas antes do procedimento. Para melhor crescimento de *S. mutans* foram preparadas placas de Ágar Brain Heart Infusion (BHI – DIFCO®) suplementadas com 10% de sacarose; para *C. albicans* foram preparadas placas de Sabouraud Dextrose (DIFCO®) e placas de Agar Mueller Hinton (DIFCO®) para as demais bactérias. Após o controle de esterilidade, as placas foram inundadas com 10 ml solução salina inoculada com seus respectivos microrganismos do overnight, padronizados com a escala 0,5 de Mc Farland, em uma concentração de 10<sup>-1</sup> ml e no intervalo de 30 minutos de secagem em estufa, foram confeccionados orifícios padronizados de aproximadamente 6 mm de diâmetro.

Em cada placa foram confeccionados cinco orifícios que receberam numerações que variaram de 1 a 10, correspondendo a duas placas por ensaio de cada microrganismo. As numerações corresponderam ao número da diluição da substância teste em água destilada (1:1 até 1:512) como representada na Tabela 2, sendo o extrato puro a 75 mg/ml.

Após a colocação de 50µL dos extratos nos poços confeccionados, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas para *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* e 24 horas para os demais microrganismos, a fim de permitir o crescimento microbiano e verificar a ação do extrato testado por meio da formação de halos de inibição. Cada ensaio foi realizado em duplicata frente a cada linhagem selecionada. O mesmo procedimento foi utilizado para o controle positivo, o digluconato de clorexidina de 0,12% (Periogard®).

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi a menor concentração da substância capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano, ou seja, presença de halo maior ou igual de 12 mm (Bauer et al., 1969).

## Resultados e discussões

O uso de fitoterápicos tornou-se crescente nos últimos tempos devido à adesão da população aos produtos de origem natural e à insatisfação com relação ao custo e à segurança da medicina convencional (Marques, 1992). Desta forma, novas pesquisas objetivando o desenvolvimento de formulações farmacêuticas a partir de matérias-primas vegetais que tenham eficácia e segurança comprovadas, têm sido desenvolvidas por vários pesquisadores (Gil, 2007).

A árvore adulta de jucá é descrita como vegetação pequena a mediana de até 10 metros de altura, muito predominante na vegetação da caatinga, sertão nordestino com abundância nos estados do Ceará e Bahia e introduzida na região amazônica a partir de imigrantes (Prance e Silva, 1975). Seus frutos são verdes enquanto imaturos e marrom após maturação, medindo em média 8,3 x 1,8 x 0,8 cm ele é de formato longo, levemente achatado e sinuoso com sutura ventral saliente, além de possuir base arredondada a curvada e ápice arredondado (Galdino, Mesquita e Kossmann, 2007).

A frutificação ocorre no final da estação seca e se prolonga por toda a estação chuvosa, possuindo flores amarelas e em cachos, o jucá apresenta alta produção de frutos em determinada época do ano (Galdino, Mesquita e Kossmann, 2007). A casca do caule, por sua vez, apresenta-se como matéria-prima disponível pra coleta durante todo o ano, eliminando uma fator crítico de sazonalidade inerente ao processo de frutificação da espécie *Libidibia ferrea* L.

O estudo utilizou o extrato aquoso da vagem e da casca do caule de jucá obtidos a partir do método de decocção e infusão, respectivamente. A metodologia diferente daquela descrita por Marreiro (2011), que utilizou a solução extratora de etanol (96°C) através da técnica de decocção e relata que a escolha do etanol foi pelo fato de não se tratar de um álcool tóxico (Carvalho, 2001). Difere também da metodologia descrita por Conde (2006), na qual a extração dos marcadores químicos foi feita através de percolação a temperatura ambiente e utilizando o metanol (80%v/v) como extrator. Porém ao comparar os

**Tabela 2** - Concentração dos extratos da vagem e da casca do caule de jucá em diluição logarítmica.

Concentração do Extrato (mg/ml)									
Extrato Puro (75)	1:2 (37,5)	1:4 (18,7)	1:8 (9,3)	1:16 (4,6)	1:32 (2,3)	1:64 (1,1)	1:128 (0,5)	1:256 (0,2)	1:512 (0,1)

líquidos de extração, (Spagolla et al. 2009) relataram que o metanol é mais eficiente na extração de compostos fenólicos.

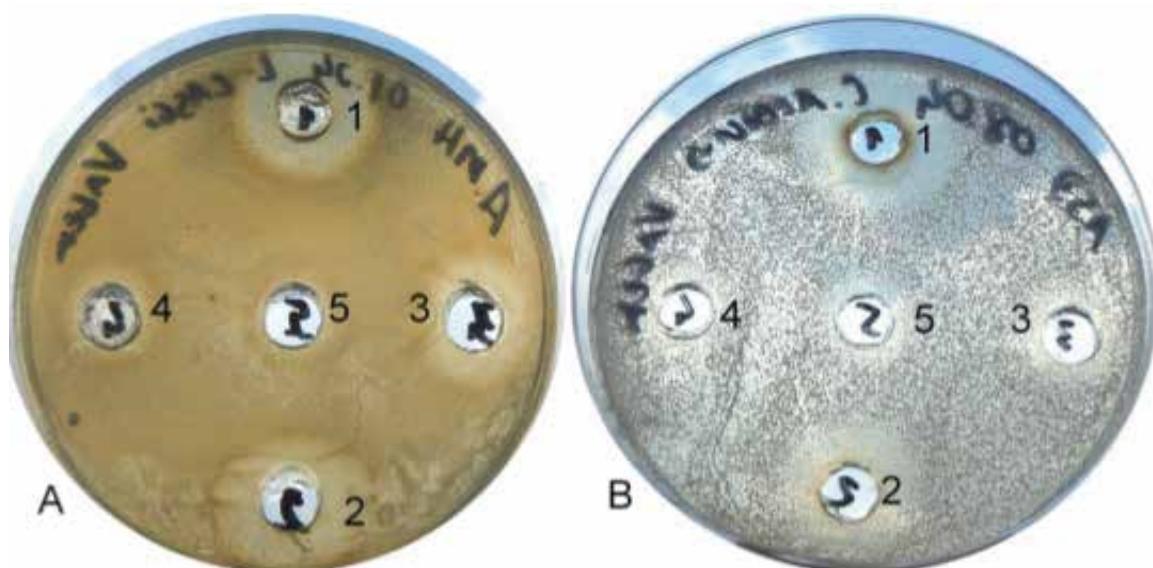
Dessa forma, os extratos aquosos da vagem e da casca do caule de jucá foram testados contra patógenos orais através do método de difusão em ágar. Os resultados com extratos da vagem, da casca do caule e clorexidina estão apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5 e Figuras 2, 3 e 4, respectivamente. Quando avaliada a atividade frente ao *L. casei*, o extrato da vagem mostrou-se mais efetivo, com CIM em 9,3 mg/ml comparado à CIM da casca que foi 37,5 mg/ml (Figuras 2A e 3B). Quando o extrato da vagem foi testado frente aos *S. oralis* e *S. mutans* os valores

de MIC foi igual e o dobro, respectivamente, quando comparados com os valores obtidos com o extrato da casca do caule. Em relação a *C. albicans*, o valor de MIC para o extrato da vagem e da casca do caule foi 18,7 mg/ml. Enquanto que frente a *S. salivarius* o extrato da casca do caule teve valor de MIC 37,5 mg/ml e o extrato da vagem não apresentou atividade (Tabelas 3 e 4).

Ao analisar os resultados do método de difusão em ágar, observa-se que houve sensibilidade dos microrganismos testados frente aos extratos da casca do caule e dos frutos de *L. ferrea*, exceto em relação ao *S. salivarius*, o qual não apresentou halo de inibição superior a 12 mm com o extrato do fruto.

**Tabela 3** - Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) do extrato da vagem de *Libidibia ferrea*.

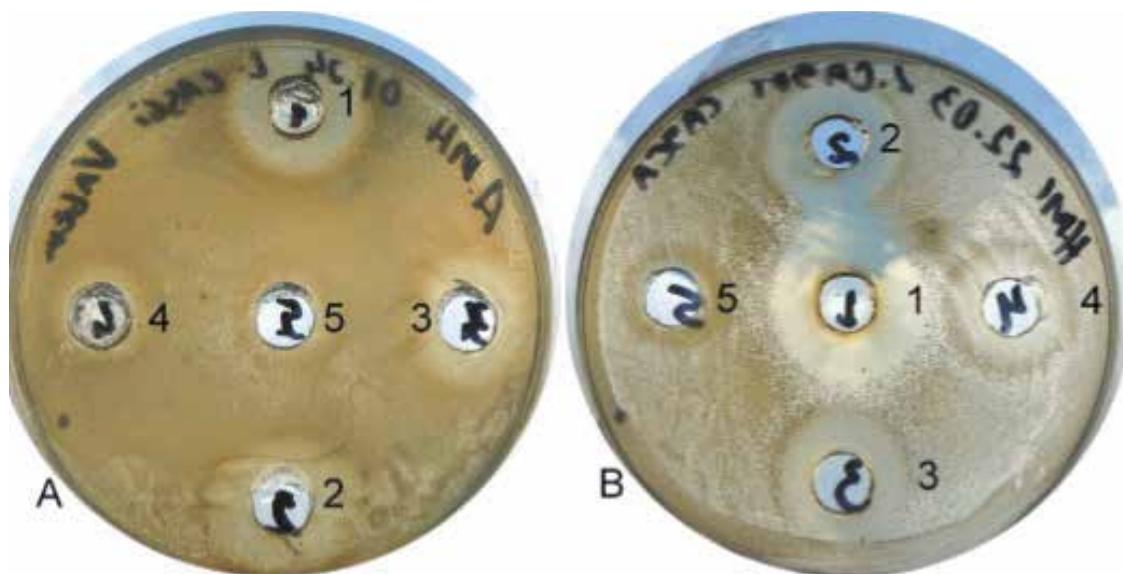
MICROORGANISMOS	Extrato da Vagem (mg/ml)				
	EP (75)	1:2 (37,5)	1:4 (18,7)	1:8 (9,3)	1:16 (4,6)
<i>Streptococcus oralis</i>	13,5	11,5	11	0	0
<i>Streptococcus salivarius</i>	11	10	9,5	0	0
<i>Lactobacillus casei</i>	18,5	17	15,5	13	10,5
<i>Candida albicans</i>	21	19,5	18,5	0	0
<i>Streptococcus mutans</i>	12	10	0	0	0



**Figura 2** - Halos de inibição do extrato da vagem de *Libidibia ferrea* (Jucá) frente ao *Lactobacillus casei* (A) e *Candida albicans* (B).

**Tabela 4** - Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) do extrato da casca do caule de *Libidibia ferrea*.

MICROORGANISMOS	Extrato da casca do caule (mg/ml)				
	EP (75)	1:2 (37,5)	1:4 (18,7)	1:8 (9,3)	1:16 (4,6)
<i>Streptococcus oralis</i>	14,5	13,5	10,5	0	0
<i>Streptococcus salivarius</i>	13,5	12	10,5	0	0
<i>Lactobacillus casei</i>	24,5	13	10	9,5	0
<i>Candida albicans</i>	21,5	17	14,5	0	0
<i>Streptococcus mutans</i>	13	11	9	0	0



**Figura 3** - Halos de inibição do extrato da casca do caule de *Libidibia ferrea* (Jucá) frente ao *Streptococcus oralis* (A) e *Lactobacillus casei* (B).

O controle positivo de clorexidina a 0,12% apresentou atividade frente aos microrganismos testados (Tabela 5; Figura 4). Tal resultado sugere a atividade antimicrobiana de jucá frente a diversas cepas de microrganismos.

Quanto à avaliação da atividade antibacteriana, Marreiro (2011) utilizaram o extrato hidroetanólico e um enxaguatório de *Libidibia ferrea* L. frente a cepas do meio oral, tais como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* e *Lactobacillus casei* e avaliou sua ação antibacteriana através do método de micro diluição em microplacas para determinação da CIM (CLSI, 2002; Andrews et al., 2001; Sampaio et al., 2009). Seu estudo mostrou que o extrato de *Libidibia ferrea* L. a 0,6% apresentou atividade antibacteriana frente

a *S. mutans*, *S. oralis* e *L. casei* nas concentrações de 4,375 µg/ml; 3,750 µg/ml; 4,375 µg/ml, respectivamente. Tanto o extrato quanto o enxaguatório foram eficazes frente a *L. casei*, *S. oralis* e *S. mutans*. Entretanto, frente a *S. salivarius* nem o extrato nem o enxaguatório de jucá apresentaram atividade antimicrobiana.

Tais resultados corroboram com os resultados do presente estudo, onde o extrato aquoso dos frutos de *Libidibia ferrea* L. não apresentou atividade frente a *S. salivarius* no método de difusão em ágar. Tal resultado direcionou o foco para o extrato aquoso da casca do caule, uma vez que o *S. salivarius* representa um dos microrganismos de colonização inicial em mucosa e tem participação na formação de biofilme (Marsh e Martins, 2005).

Por outro lado, Sampaio e colaboradores (2009) ao avaliarem a atividade antimicrobiana de extrato metanólico de frutos de *L. ferrea* contra patógenos orais, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis* e *Lactobacillus casei* através do método de micro diluição para células planctônicas e em um modelo de biofilme *in vitro*, obtiveram atividade antimicrobiana. E frente a *S. salivarius* o valor de MIC encontrado foi 100 µg/ml.

De acordo com os resultados obtidos nos ensaios realizados, foi possível concluir que o extrato da casca do caule de jucá apresentou atividade antimicrobiana satisfatória frente aos patógenos da cavidade bucal e superior ao extrato da vagem quando testados através do método de difusão em ágar. Dessa forma, o extrato da casca do caule tornou-se o mais indicado para a formulação de uso tópico em mucosa oral.

## Referências

Andrews, J.M., 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 48, p. 5–16.

Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, p. 493-496.

Borrás, M.R.L. 2003. *Plantas da Amazônia: Mediciniais ou mágica? – Plantas comercializadas no mercado Adolpho Lisboa*. Manaus: Valer/Governo do Estado do Amazonas, 322p.

Buischi, Y.P. 2000. *Promoção de saúde bucal na clínica odontológica*. São Paulo: Artes Médicas.

**Tabela 5** - Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) de clorexidina – controle positivo.

MICROORGANISMOS	Clorexidina 012% (mg/ml)									
	SP (1,2)	1:2 (0,6)	1:4 (0,3)	1:8 (0,15)	1:16 (0,07)	1:32 (0,03)	1:64 (0,01)	1:128 (0,005)	1:256 (0,002)	1:512 (0,001)
<i>Streptococcus oralis</i>	26,5	23,5	23,5	21,5	21	21	16	15	8,5	7
<i>Streptococcus salivarius</i>	21	20,5	20,5	19	14,5	13,5	12,5	9	10	9
<i>Lactobacillus casei</i>	29	28	24	23,5	21	18	17	16	16	15
<i>Candida albicans</i>	22,5	20,5	20	18,5	10	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus mutans</i>	38	36,5	35	34,5	34	30	27	23	21	19



**Figura 4** - Halos de inibição de clorexidina frente ao *Streptococcus mutans* nas diluições de 1:1 a 1:16 (A) e nas diluições de 1:32 a 1:512 (B).

Carvalho, L.C.C. 2001. Álcool do Brasil: energia limpa e renovável. *Agroanalysis*, FGV, v. 21, n. 9, São Paulo.

CLSI, 2002. Manual Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard. NCCLS document M27-A2, Wayne, PA.

Conde, N.C.O. 2006. *Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas da Amazônia sobre bactérias do biofilme dental*. Tese (Doutorado em Estomatologia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

Galdino, G.; Mesquita, M.R.; Kossmann, I.D.F. 2007. Descrição morfológica da plântula e diásporos de *Caesalpinia ferrea* Mart. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, supl. 2, p. 747-749.

Gil, E.S. 2007. *Controle físico-químico de qualidade de medicamentos*. 2. ed., 293 p.

Gonzalez, F.G.; Barros, S.B.M.; Bacchi, E.M. 2004. Atividade Antioxidante e perfil fitoquímico de *Caesalpinia ferrea* Mart. In: Semana da Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 9, São Paulo. Anais. São Paulo: *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 40 p. 79.

Marques, L.C. 1992. *Produção e comercialização de fitoterápicos no Paraná: uma abordagem de vigilância sanitária*. 232 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná - UFPR, Curitiba.

Marreiro, R.O. 2011. *Caesalpinia ferrea L.: avaliação da atividade antimicrobiana, controle de qualidade e compatibilidade biológica de uma formulação de enxaguatório bucal*. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa Saúde Sociedade e Endemias da Amazônia – UFAM.

Marsh, P.D.; Martin, M.V. 2005. *Microbiologia oral*. 4. ed. Livraria e Editora Santos, 192 p. São Paulo.

Mattigati, S., Ratnakar, P., Moturi, S., Varma, S., Rairam, S. 2012. Antimicrobial effect of conventional root canal medicaments vs propolis against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Journal of Contemporary Dental Practice*, v.13, n. 3, p. 305–309.

Melo, Y.; Córdula, E.; Machado, S.R.; Alves, M. 2010. Morfologia de nectários em Leguminosae *senso lato* em áreas de caatinga no Brasil. *Acta botânica brasileira*, v. 24, n. 4, p. 1034-1045.

Nakamura, E.S., Kurosaki, F., Arisawa, M., Mukainaka, T., Okuda, M., Tokuda, H., Nishino, H., Pastore, F. 2002. Cancer chemopreventive effects of constituents of *Caesalpinia ferrea* and related compounds. *Cancer Letters*, v.177, p. 119–124.

Oliveira, A.F. 2008. *Avaliação da atividade cicatrizante da caesalpinia ferrea (tul.) Martius (jucá) em lesões cutâneas de caprinos*. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal Rural do Semiárido – UFRSA, Mossoró – RN.

Pereira, M.S.V., Rodrigues, O.G., Feijó, F.M.C., Athayde, A.C.R., Lima, E.Q., Sousa, M.R.Q. 2006. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas no Semiárido Paraibano. *Agropecuária Científica no Semiárido*, v.2, n.1, p. 37-43.

Prance, G.T.; SILVA, M.F. 1975. *Árvores de Manaus*. INPA, Manaus, 312 p.

Sampaio, F.C.; Pereira, M.S.V.; Dias, C.S.; Costa, V.C.O.; Conde, N.C.O.; Buzalaf, M.A.R. 2009. *In vitro* antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Martius fruits against oral pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, v.124, p.289–294.

Senna, E.L.; Petrovick, P.R.; Ortega, G.G.; Bassani, V.L. 1997. Preparation and characterization of spray dried powders from *Achyrocline satureioides* (Lam) DC extracts. *Phytotherapy Research*, v. 11 (2), p. 123-127.

Silva, A.C.C. 2008. *Avaliação das atividades citotóxica, antitumoral, anti-inflamatória e analgésica do extrato bruto e de uma fração parcialmente purificada da vagem de Caesalpinia ferrea Mart. ex Tul. Var. ferrea*. 87f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Souza; A.B., Souza, L.M.S., Carvalho, J.C.T., Maistro, E.L. 2006. Non clastogenic activity of *Caesalpinia ferrea* Mart. (Leguminosae) extract on bone marrow cells of Wistar rats. *Genetics and Molecular Biology*, v. 29, n. 2, p. 380-383.

Spagolla, L.C., Santos, M.M., Passos, L.M.L, Aguiar, C.L. 2009. Extração alcoólica de fenólicos e flavonoides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 30, n. 2, p. 59-64.

Walker, C.B. 2004. Chemotherapeutics: antibiotics and other antimicrobials. *Periodontology 2000*, v. 36, p. 146-165.