

## **74447 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DA RESINA DA *Albizia lebbbeck***

*Elder Miguel Esperidião Silva Borges*<sup>1</sup>; *Jéssica Moreira Batista da Silva*<sup>2</sup>; *Jean César Farias de Queiroz*<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Graduando em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos. Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido – CDSA. Universidade Federal de Campina Grande – UFCG; Av. Almirante Barroso – 284, Liberdade, Campina Grande-PB (59100-000). eldermiguelborges@hotmail.com;

<sup>2</sup>Engenheira de Biotecnologia e Bioprocessos;

<sup>3</sup>Doutor em Biotecnologia. Unidade Acadêmica de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, CDSA, UFCG.

**RESUMO:** A *Albizia lebbbeck* é uma árvore, conhecida no Brasil como faveiro ou coração-de-negro, endêmica da Índia e podendo ser encontrada pela Ásia e África. Uma das maiores características dessa espécie é a sua capacidade para a produção de resina que contém compostos bioativos de interesse biotecnológico, podendo destacar o grupo dos terpenos, amplamente utilizado na indústria farmacêutica e de cosméticos. Com isso, o presente trabalho objetiva identificar a presença de metabólitos secundários presentes no extrato exsudato da *A. lebbbeck* e avaliar sua atividade antimicrobiana. A resina pulverizada sofreu extração metanólica e purificação por meio de HPLC, em coluna de fase reversa C18. Os cromatogramas gerados representaram, pelo menos, 20 diferentes substâncias. Essas substâncias foram divididas em quatro intervalos distintos do cromatograma, sendo o intervalo dois (10min a 15min de retenção) a que possui picos em maior quantidade e mais bem definidos. O estudo da atividade antibacteriana foi realizado contra as estirpes bacterianas Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativa (*Escherichia coli*), sendo o antibiótico Cloranfenicol o controle positivo. Houve inibição do crescimento bacteriano com cerca de 1mm de diâmetro, com destaque para a Área 2, com formação de halo para Gram positiva e Gram negativa. As análises fitoquímicas demonstraram que a Área 2 contém esteróides e alcalóides. O resultado para detecção de terpenóides não foi conclusivo. A partir desses resultados sugere-se estudos complementares que analisem a efetividade da atividade antimicrobiana do extrato testado.

**Descritores:** Resina Vegetal. Antibiograma. Fitofármaco. Fitoquímica.

## PHYTOCHEMICAL PROSPECTION AND PURIFICATION OF BIOACTIVE RESIN COMPOUNDS OF ALBIZIA LEBBECK

**ABSTRACT:** *Albizia lebeck* is a tree, known in Brazil as faveiro or heart-of-black, endemic to India and can be found in Asia and Africa. One of the major characteristics of this species is its capacity for the production of resin containing bioactive compounds of biotechnological interest, being able to highlight the group of terpenes, widely used in the pharmaceutical and cosmetics industry. With this, present this work to identify the presence of secondary metabolites present in the exudate extract of *A. lebeck* and to evaluate its antimicrobial activity. The pulverized resin underwent methanolic extraction and purification by means of HPLC on C18 reverse phase column. The chromatograms generated represented at least 20 different substances. These substances were divided into four distinct intervals of the chromatogram, with interval two (10min to 15min of retention) having the highest and best defined peaks. The study of antibacterial activity was carried out against the bacterial strains Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative (*Escherichia coli*), with antibiotic Cloranfenicol being the positive control. There was inhibition of bacterial growth with about 1mm in diameter, with emphasis on Area 2, with halo formation for Gram positive and Gram negative. Phytochemical analyzes showed that Area 2 contains steroids and alkaloids. From these results, we suggest complementary studies that analyze the effectiveness of the antimicrobial activity of the tested extract.

**Keywords:** Plant Resin. Antibioqram. Phytopharmaceutical. Phytochemistry.

### 1. INTRODUÇÃO

Devido aos avanços das pesquisas em fitoquímica na biotecnologia, são notáveis os amplos avanços que possibilitam novas oportunidades para o segmento dos medicamentos. Há um grande número de gêneros que sintetizam substâncias de interesse humano, algumas das mais utilizadas são produzidas pelo gênero *Albizia*. O gênero *Albizia* abrange cerca de 150 espécies predominante de regiões tropicais e subtropicais. A espécie *Albizia lebeck* é de origem Asiática, sendo encontrada na Índia, África do Sul e Austrália. É mais conhecida no Brasil como coração-de-negro, sendo muito utilizada como fitoterápico, mais precisamente na atividade antialérgica (1). Praticamente toda ela é utilizada: folhas são utilizadas na alimentação, a resina para a fabricação de cosméticos e suas sementes possui grande utilização como fitoterápicos.

As resinas naturais são secreções sintetizadas a partir de plantas específicas, sendo formadas basicamente de uma mistura de terpenos, óleos essenciais e ácido carboxílico. A utilização de resinas na indústria vem tomando grande proporção nos últimos tempos, uma vez que a mesma possui grande aplicabilidade e utilidade em diversas áreas devido as ações de seus metabólitos secundários (2).

Os metabólitos secundários sintetizados nas plantas podem ser divididos em três grupos, os compostos fenólicos, terpênicos e os alcalóides. Terpenóides podem ser descritos como terpenos modificados onde grupos metila são rearranjados ou removidos, ou são adicionados átomos de oxigênio, oxidados. Inversamente, alguns autores usam o termo “terpenos” mais amplamente para incluir os terpenóides (3).

Existem trabalhos demonstrando que a toxicidade de alguns componentes dos óleos voláteis constitui uma proteção contra predadores e infestantes. Também existem evidências de que alguns insetos utilizam óleos voláteis sequestrados de plantas para defenderem-se de seus predadores. Olhando para o cenário atual, compostos bioativos obtidos a partir de vegetais, como os flavonóides, alcalóides, saponinas, terpenóides, glicosídeos, e cumarinas, são uma excelente fonte para a síntese de alguns medicamentos (4). A espécie *A. lebeck* é conhecido por possuir uma grande variedade desses compostos citados.

Há uma gama de espécies que sintetizam resinas para fins farmacológicos, mais precisamente para atividade antimicrobiana, sendo a *A. lebeck* é uma delas. Diante do exposto, o presente trabalho objetiva purificar e identificar alguns compostos bioativos obtidos da resina extraída da *Albizia lebeck* por meio de prospecção fitoquímica, que possuam atividade antimicrobiana, assim como realizar a extração da resina proveniente da *A. lebeck*; isolar os terpenos presentes na resina da planta utilizando extração por solventes; purificar os componentes da *A. lebeck* por meio de técnicas cromatográfica, identificar por meio de antibiograma a atividade antimicrobiana dos compostos extraídos e avaliar por testes fitoquímicos alguns metabólitos secundários presentes na resina.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **COLETA DO MATERIAL VEGETAL**

O material vegetal utilizado na pesquisa foi coletado em árvores de *A. lebeck* plantadas no Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido – CDSA, as quais já possuem estrias de onde a resina é evertida constantemente, acumulando-se na

superfície da árvore. O trabalho de coleta consistiu apenas da retirada manual desta resina acumulada.

### **MOAGEM DA RESINA VEGETAL NO MOINHO DE FACAS**

O moinho de facas é um equipamento através do qual um motor impulsiona, por meio de correias ligadas a um eixo rotativo, que possui facas removíveis, com o objetivo de particular as amostras ali inseridas. O objetivo da utilização desse tipo de moinho foi pulverizar o material desejado, nesse caso, a resina proveniente da *A. lebeck*, para facilitar a extração subsequente, por meio de solventes. A resina seca foi fragmentada e inserida no moinho de facas, com peneira de poro de 1mm e o pó produzido foi coletado e armazenado em frascos com tampa até o momento do uso.

### **EXTRAÇÃO POR SOLVENTES**

Na preparação do extrato metanólico, a resina proveniente da *A. lebeck*, foi submetida a uma extração na proporção de 1mL de metanol/g da resina durante um período de 48 horas, agitado em shaker na temperatura de 35°C. Em seguida, o extrato metanólico foi filtrado e armazenado a - 50°C, em tubos cônicos de polietileno com capacidade total de 50mL.

### **LIOFILIZAÇÃO**

Após a extração por solventes, as amostras obtidas foram levadas ao liofilizador, em uma temperatura de -90°C sob vácuo, durante 24h ou até que todo o líquido fosse sublimado. Em seguida todo o liofilizado foi ressuspenso em pequena quantidade de água destilada, congelado e levado ao liofilizador novamente, sob as mesmas condições citadas anteriormente, a fim de concentrar ao máximo as amostras.

### **FILTRAÇÃO**

As amostras foram passadas por um processo de filtração por membrana de Nylon, com poro de 0,22µm, acoplada a uma seringa, onde foi exercida uma pressão positiva na mesma, fazendo com que o fluido passasse pela membrana e fosse depositada em tubos cônicos de 1,5mL.

## **PURIFICAÇÃO DOS EXTRATOS POR CLAE**

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em coluna de Fase Reversa (CLAE-FR), foi realizada no Laboratório de Biotecnologia do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido UFCG – CDSA.

Para purificação das amostras provenientes dos extratos metanólicos foi utilizada uma Coluna C18 (150mm X 4,5 mm, com partícula de 5µm) ShimPack - Shimadzu, em um cromatógrafo Perkim-Elmer, no Laboratório de Biotecnologia do CDSA. Foi programado um gradiente de água deionizada (Tampão A) e Acetonitrila (Tampão D), a um fluxo de 1mL/min, onde foi passado um Volume de Coluna (5 min) em 0% de acetonitrila, seguido de um gradiente de 0% a 100%, em 25 min, seguido de uma lavagem da coluna com 100% de acetonitrila, por 5min. O cromatograma gerado, com o detector ajustado em 280 nm, foi registrado em um microcomputador interligado ao cromatógrafo.

Após ajuste da técnica para separação dos picos cromatográficos, a coleta do material purificado foi realizada manualmente, com a coleta diferencial do solvente eluído da coluna, nos tempos de retenção referentes as áreas cromatográficas de interesse.

## **LIOFILIZAÇÃO DAS AMOSTRAS PURIFICADAS**

Após as amostras terem sido purificadas e armazenadas em recipientes devidamente identificados e esterelizados, elas passaram por outro processo de liofilização, a fim de que ficasse concentrada apenas a biomolécula de interesse. Em seguida, foi realizada a suspensão utilizando clorofórmio, para que facilitasse a evaporação na etapa seguinte.

## **ENSAIO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

O teste de antibiograma é comumente utilizado para identificar compostos com ação antimicrobiana. Para a realização do teste foi preparado o meio de cultura ágar-dextrose-caseína-malte (ADCM). Para o preparo dos discos os quais continham os metabólitos secundários purificados a serem testado como antibiótico, foram utilizados 10µL da solução de cada composto, em disco de papel de filtro, os quais foram posicionados sobre a placa contendo os microrganismos em crescimento. Posteriormente as placas foram identificadas e incubadas em estufa bacteriológica, à 37°C por 24h (05).

## MEIO DE CULTURA

O meio de cultura utilizado no teste antibiograma foi o ADCM conforme descrito na Tabela 1.

**Tabela 1:** Composição do meio de cultura Ágar, Dextrose, Caseína, Malte (ADCM).

COMPONENTE	QUANTIDADE
Ágar caseína	32,5g
Dextrose	20g
Extrato de Malte	10g
Água Destilada Esterilizada	q.s.p.* 1L

(\*) q.s.p.= quantidade suficiente para. Fonte: Dados da Pesquisa.

O meio foi fundido, distribuído em *Erlenmeyers* (250mL) e autoclavados por 15min, a 121°C, 1 atm, em seguida vertido cerca de 20 ml em placas de Petri.

## PREPARO DOS DISCOS DE PAPEL

Os discos de papel foram preparados conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (05), com algumas adaptações. Foi adicionado em cada disco de papel de filtro de 13 mm, 10 µL do extrato obtido, esperando a absorção e repetindo o processo novamente. A fim de comparar o potencial antibacteriano dos metabólitos presentes no extrato, foram preparados discos contendo cloranfenicol na concentração de 0,3mg/L, como controle positivo e discos contendo apenas clorofórmio PA (99,8%), como controle negativo.

## PREPARO DO INÓCULO BACTERIANO

Foi retirada com uma alça de platina, previamente flambada, uma pequena quantidade de bactérias, estas foram inseridas em solução salina (0,9%) e as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foram identificadas por meio de uma diluição seriada na ordem de  $10^{-6}$ . Inoculou em meio ADCM (Ágar-Dextrose-Caseína-Malte) todas as diluições e incubou em estufa de cultura bacteriológica, a 37°C, em seguida foi observado quais diluições foram melhor distribuídas nas placas e conseqüentemente estariam aptas para serem realizadas no antibiograma (5).

## TESTE ANTIBIOGRAMA

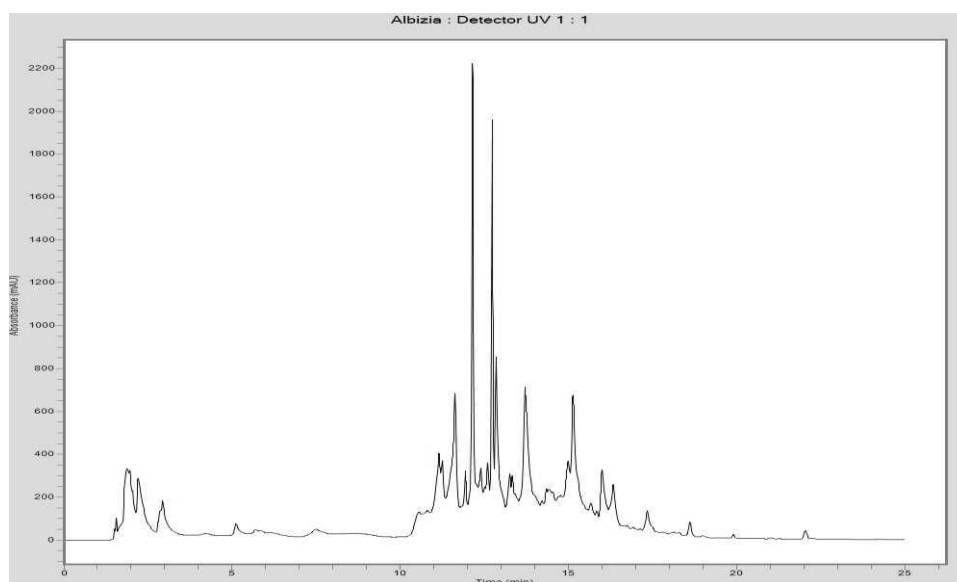
Foi semeado 1 mL da solução de bactérias em placas de Petri contendo meio ADCM aguardando secar, conseguinte os discos contendo o extrato obtido foram dispersos sobre as bactérias com o auxílio de uma pinça. As placas foram identificadas e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, por 24 horas (5)

## IDENTIFICAÇÃO DOS METABÓLITOS

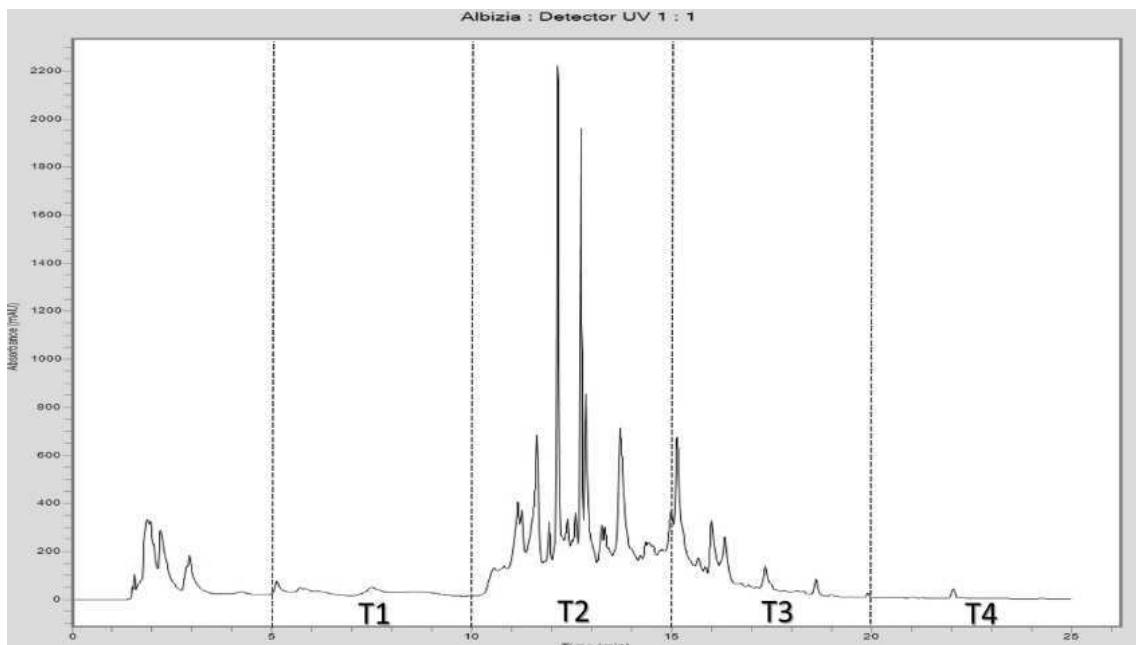
O extrato foi testado quanto a presença de alcalóides, saponinas, flavonóides e terpenóides utilizando os métodos já descritos na literatura, com algumas adaptações (6).

## 3. RESULTADOS

O resultado da Cromatografia Líquida operando de modo analítico mostrou que o composto obtido através dos estratos mostrou aproximadamente vinte possíveis substâncias responsáveis por possuir atividade antimicrobiana, representados nas Figuras 1 e 2.



**Figura 1:** Cromatograma gerado a partir da cromatografia dos extratos provenientes da resina da *A. lebbbeck*. O eixo Y representa miliabsorbância (magnitude da absorbância da amostra neste comprimento de onda) e o eixo X, o tempo de cromatografia. Fonte: Dados da Pesquisa.



**Figura 2:** Cromatograma gerado a partir da cromatografia dos extratos provenientes da resina da *A. lebbeck*. As condições cromatográficas são semelhantes a Figura 1. Fonte: Dados da Pesquisa.

A partir dos cromatogramas gerados é possível observar a presença de compostos nas amostras por meio dos picos formados. Além disso, a similaridade entre os dois gráficos acima mostra que maior parte das corridas possuem mesmo comportamento. Por outro lado, o fato de ter muitos picos próximos um ao outro, dificulta o estudo de cada pico de modo individual. As amostras (T1, T2, T3 e T4) foram analisadas em triplicata e medidos os halos de inibição. A média de cada amostra foi calculada e representada na Tabela 2.

**Tabela 2:** Resultados referentes ao antibiograma. Utilizando uma cepa de bactéria Gram-Positiva (*S. aureus*) e Gram-Negativa (*E. coli*).

	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>C+</b>	<b>C-</b>
<b><i>E. coli</i></b>	0,33 mm	0,33 mm	1,16 mm	-	2,0 mm	-
<b><i>S. aureus</i></b>	1,0 mm	1,5 mm	-	0,33 mm	4,0mm	-

Fonte: Dados da Pesquisa.

T1, T2, T3 e T4, são os tempos referentes a cada coleta (05 a 10 min, 10 a 15 min, 15 a 20 min e 20 a 25 min, respectivamente, representados na Figura 2) e C+ e C- os controles positivo e negativo, respectivamente. De acordo com as Figuras 1 e 2 e



com a Tabela 1, identificamos que a amostra T2, é a que possuiu maior atividade antibacteriana, diferentemente das outras amostras que possuem quantidade inferior. No teste do antibiograma, foi comprovada a afirmação anterior, ou seja, o extrato purificado em T2 possui atividade antimicrobiana tanto para Gram Positiva quanto para Gram Negativa.

A Tabela 1 ainda mostra a eficiência dos compostos em relação à sua atividade antimicrobiana nas bactérias utilizadas em T2. Em Gram Negativas (*E. coli*) o composto se tornou um pouco mais eficiente que em Gram Positiva (*S. aureus*), isso possivelmente devido as diferenças nas paredes celulares destas bactérias. T2 mostrou-se mais eficiente tanto para a *S. aureus* como para *E. coli*.

Bactérias Gram-negativa possuem membrana externa, diferente das bactérias Gram-positivas na qual essa membrana se mostra ausente (7). Em bactérias Gram-negativas, a superfície da membrana extra é rica em lipopolissacarídeos, proporcionando barreira contra antibióticos e são capazes de eliminar moléculas em seu exterior (8,9). Bactérias Gram-positivas não têm membrana protetora e parede celular. As substâncias antibacterianas causam a destruição da membrana e decorrente coagulação (8,10,11).

A atividade antibacteriana das diferentes partes da *A. lebbeck* foi mencionada em diferentes trabalhos (12,13). Estudos comprovaram a presença de alcalóides, saponinas, flavonóides e taninos em extrato de metanol de *A. lebbeck* (14). No entanto, os terpenóides foram encontrados em diferentes partes da planta (15). Diversos estudos encontrados mostram que os metabolitos secundários encontrados nos óleos essenciais purificados de plantas possuem atividade antibacteriana.

Extrato aquoso de *Tamarindus indica* (*Fabaceae*) foi testado contra atividade antibacteriana contra *E. coli* e *S. aureus*. Estudos fitoquímicos do extrato revelou que os principais constituintes encontrados em maiores concentrações foram alcalóides (16). Além disso, a partir de mesma análise foi revelado que os extratos de metanol que tinha um potencial de atividade antibacteriana, alcalóides estavam presentes em elevadas concentrações (17).

Em estudo semelhante, o extrato de metanol de *S. multiflorus* exibiu atividade contra *S. aureus*, após análise fitoquímica, verificou-se que este extrato metanólico apresentava elevadas concentrações de flavonóides. Portanto, estes flavonóides contribuem para diferentes atividades antibacterianas (17).

*Aspilia mossambicensis* (*Compositae*) foi examinada para atividade antibacteriana contra *S. aureus* resistente à metilicina e o extrato etanólico apresentou altas

concentrações de terpenóides. Estes metabolitos secundários, juntamente com outros fitoquímicos poderiam estar envolvidos na **atividade antibacteriana** (18).

Os taninos podem ter diferentes atividades biológicas, incluindo antibacteriano (19,20,21). Analisando a atividade antibacteriana do extrato aquoso de ***Psidium guajava*** (Myrtaceae) obteve atividade contra *S. aureus* e *E. coli*. Uma análise fitoquímica comprovaram altas concentrações de taninos (22).

Os picos encontrados na purificação da resina exsudada de *A. lebeck*, que se encontra em Sumé, situada no Cariri Paraibano, indicando a presença de diversos compostos e os inúmeros trabalhos mencionados, corroboram a eficácia da planta no teste realizado.

A detecção de alcalóides, terpenóides e esteróides no extrato indica que estes são alguns dos possíveis metabolitos secundários encontrados no extrato de *A. lebeck*, uma vez que em nossos estudos encontramos 20 substâncias, ou seja, temos para cada pico um composto diferente. Estes compostos da Tabela 3 são conhecidos por exibirem propriedades bioativas como propriedades analgésicas e anticancerígenas (13). Assim, estes metabolitos secundários contribuem para o uso potente em indústrias farmacológicas.

**Tabela 3:** Análise fitoquímica qualitativa do extrato da resina exsudada de *Albizia lebeck*

<b>FITOQUÍMICOS</b>	<b>INFERÊNCIA</b>
<b>Terpenóides</b>	≠
<b>Alcalóides</b>	+
<b>Esteróides</b>	+
<b>Saponinas</b>	-

≠ : Significa que com a metodologia utilizada não foi possível a visualização do resultado.

+ : Indica presença.

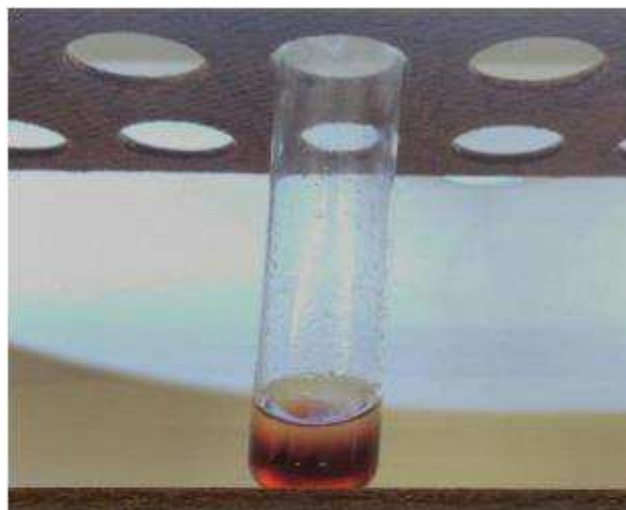
-- : Indica ausência.

Para o teste de esteróides, uma cor vermelha produzida na camada inferior do clorofórmio indica a presença de esteróides. Uma leve coloração avermelhada na interface do clorofórmio na Figura 3 indica a presença de esteróides (6).



**Figura 3:** Resultado do teste fitoquímico para esteroides. Fonte: Dados da Pesquisa.

Testes fitoquímicos de diferentes espécies pertencentes ao gênero *A. lebeck* identificou diferentes classes de metabólitos secundários tais como saponinas, terpenos, alcalóides e flavonóides. Alcalóides apresentaram atividades biológicas, como antitumorais e atividade bactericidas (23). Estudos preliminares sobre *A. inopinata* indicaram possível farmacológica sobre o sistema nervoso central devido à presença de alcalóides (24).



**Figura 4:** Solução de Erdmann reagindo com o extrato exsudato purificado de *A. lebeck*. Fonte: Dados da Pesquisa.

Existem vários reagentes colorimétricos para a identificação qualitativa de alcalóides, um deles é o Reagente de Erdmann, que reage com o analito de interesse produzindo uma cor característica para cada tipo de alcalóide presente na amostra, que pode ser vista na Figura 4. Esta solução reage gerando substâncias coloridas de acordo com a seguinte relação:

**Tabela 4:** Relação entre alcalóides e indicadores de cor.

Morfina	<b>Avermelhado</b>
Brucina	<b>Vermelho que passa a amarelo</b>
Tebaina	<b>Vermelho sangue</b>
Digitalina	<b>Marrom que passa a vermelho</b>
Papaverina	<b>Violeta</b>

Fonte: Manual de Soluções, Reagentes e Solventes 2ª Edição.

Na triagem fitoquímica realizada em pesquisa semelhante revelou a presença de alcalóides, flavonóides, fenóis, saponinas, terpenos e fitoesteróides em *A. lebbbeck*, utilizando extração etanólica e concentração em evaporador rotativo. A maneira com que chegamos ao nosso analito pode ter alterado o desenvolvimento de tal análise (25).

A investigação fitoquímica de diferentes espécies de *Albizia* revelou a presença de diferentes classes de metabólitos secundários, tais como saponinas, terpenos, alcalóides e flavonóides (26).

O extrato foi testado para a presença de terpenóides. Uma cor acinzentada deve indicar a presença de terpenóides, no entanto, não foi possível a análise. Um segundo teste foi realizado com concentração do extrato muito inferior a utilizada e também não se obteve resultado conclusivo. A metodologia utilizada é realizada com extrato bruto na presença de clorofórmio. O analito testado nesse trabalho foi extraído com metanol, hexano e foi tratado, por fim, com clorofórmio para a realização da análise fitoquímica de terpenóides.

No teste fitoquímico para saponinas, não foi possível identificar a presença de saponinas.

A metodologia de purificação e concentração dos metabólitos do extrato pode ter influenciado no resultado final, dificultando a identificação de terpenóides no método utilizado.

#### 4. CONCLUSÃO

O extrato estudado possui potencial para ser utilizado para o desenvolvimento de novos medicamentos, por possuir atividade antibacteriana. O composto obtido (T2) apresentou boa atividade contra bactéria Gram-negativa. A partir de testes fitoquímicos, foi possível identificar a presença de alcalóides e esteróides. O teste para a identificação de terpenóides não foi conclusivo.

#### REFERÊNCIAS

- 1 Carneiro DM 2007. *Ayurveda. Saúde e Longevidade*. Goiânia: Editora UFG.
- 2 FUSATTO, A. L. M.; CASTRO, P. R. C.; CATO, S. C.; BRITO, J. O. Pastas estimulantes em sistemas de resinação de *Pinus elliottii* var. *elliottii*. **Ciência Florestal**. Santa Maria, V. 23, n. 3, p. 483-488, 2013.
- 3 SAMUEL PHILIP SADTLER, Chemistry: **A Text-Book of Chemistry Intended for the Use of Pharmaceutical and Medical Students**, Ed. Cornell University Library, 1918.
- 4 MESHARAM, G. G.; KUMAR, A.; RIZVI, W.; TRIPATHI, C. D.; KHAN, R. A. Evaluation of the anti-inflammatory activity of the aqueous and ethanolic extracts of the leaves of *Albizia lebeck* in rats. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**. V. 6, n. 2, p. 172-175, 2015.
- 5 CLEMENTINO, Leandro da Costa. **Bioprospeção de Antibióticos Produzidos por Fungos da Caatinga**. 2014. 52 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos) – Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande. 2014.
- 6 KOKATE CK., et al. **Pharmacognosy**. Nirali Prakashan. 2009
- 7 ZAIKA LL. **Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination**. J Food Nutr, 1988.
- 8 NIKAIDO H.. et al. **Escherichia coli and Salmonella typhimurium: Cellular and Molecular Biology**. In: Neidhardt FC, editor. Washington, D.C: American Society for Microbiology Press; 1996.
- 9 DUFFY CF, Power RF. **Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts**. Int J Antimicrob Agents, 2001
- 10 RUSSELL AD. **Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: Food additives and food and pharmaceutical preservatives**. J Appl Bacteriol. 1991.
- 11 GAO Y., et al. **The outer membrane of gram-negative bacteria inhibits antibacterial activity of brochocin-C**. Appl Environ Microbiol, 1999.

- 12 SHAHID, S.A., Firdous, N. **Antimicrobial screening of Albizia lebbeck (L) Benth. and Acacia leucophloea (Roxb.)**. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2012.
- 13 BOBBY, M.N. et al. **In vitro antibacterial activity of leaves extracts of Albizia lebbeck Benth against some selected pathogens**. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012.
- 14 PADAMANABHAN V. et al., **Preliminary phytochemical and anti-bacterial studies on flowers and pods of Albizia lebbeck (Benth)**. International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering, 2013.
- 15 ROBERTS SC. **Production and engineering of terpenoids in plant cell culture**. Nature Chemical Biology, 2007.
- 16 ABUKAKAR et al., **Phytochemical screening and antibacterial activity of Tamarindus indica pulp extract**. Asian J. Biochem, 2008.
- 17 MARIITA RM. Et al., **Methanol extracts of three medicinal plants from Samburu in northern Kenya show significant antimycobacterial, antibacterial and antifungal properties**. Res. J. Med. Plant, 2011.
- 18 MUNYENDO et al., **Bacteriostatic and bacteriocidal activities of *Aspilia mossambicensis*, *Ocimum gratissimum* and *Toddolia asiatica* extracts on selected pathogenic bacteria** Research Journal of Medicinal Plants, 2011.
- 19 RAMAWAT, K.G., Secondary Plant Products in Nature. In: **Biotechnology: Secondary Metabolites; Plants and Microbes**. K.G. and Merillon (Ed.). Science Publishers, 2007.
- 20 CARSON, C.F. HAMMER K. A. **Chemistry and Bioactivity of Essential Oils**. In: Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents. New York, USA., 2010.
- 21 SAVOIA, D. **Plant-derived Antimicrobial compounds: Alternatives to antibiotics**. Future Microbiol., 2012.
- 22 ABDULHAMID A., et al., **Preliminary phytochemical and antibacterial activity of ethanolic and aqueous stem bark extracts of *Psidium guajava***. Am. J. Drug Discovery Dev., 2014.
- 23 GANGULI, N B, BHATT, R M. Indian .J. Exp Biol. 1993.
- 24 ASSIS TS et al. **Two New Macrocyclic Alkaloids from *Albizia inopinata***. Lat Am J Pharm 1999.
- 25 KALIA, S. et al. **Antimalarial Efficacy of *Albizia Lebbeck* (Leguminosae) against *Plasmodium Falciparum* in Vitro & *P. Berghei* in Vivo**. The Indian Journal of Medical Research, 2015.
- 26 CHEOK C, et al. **Extraction and quantification of saponins: A review**. Food Research International, 2014.