



ORIGINAL ARTICLE

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THREE SPECIES OF *PHYLLANTHUS* (QUEBRA-PEDRA) AND ITS COMMERCIAL PRODUCTATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE TRÊS ESPÉCIES DE *PHYLLANTHUS* (QUEBRA-PEDRA) E DE SEU PRODUTO COMERCIALACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS TRES ESPECIES DE *PHYLLANTHUS* (QUEBRE-PEDRA) Y SUS PRODUCTOS COMERCIALES

Tássia Campos de Lima Silva¹, Jorge Veras Filho², Janete Magali Araújo³, Ulysses Paulino Albuquerque⁴, Vânia Teixeira Lima⁵, Elba Lúcia Cavalcanti Amorim⁶

ABSTRACT

Objective: to determine the antimicrobial activity of three plant species of the genus *Phyllanthus* (*P. amarus* Schum. and Thom., *P. tenellus* Roxb. and *Phyllanthus niruri* L.) and its commercial dye (phytotherapeutic), opposite the bacteria and yeasts. **Method:** we evaluated the antimicrobial activity against microorganisms by disk diffusion method, and then evaluated minimum inhibitory concentration of the best results from the microdilution method. **Results:** the medicinal species have antimicrobial activity to Gram-positive bacteria. The commercial dye showed significant antimicrobial activity. The extracts showed the best activity for *S. aureus* (*P. amarus* with MIC 0.16 mg / mL and *P. tenellus* with MIC 0.10 mg / mL), opposite to *B. subtilis* results were also satisfactory (*P. amarus* 0.25 mg / mL and *P. tenellus* 0.30 mg / mL). The commercial dye showed MIC greater than 1mg/mL only for *S. aureus* with MIC of 0.70 mg / mL, and for *B. subtilis* showed MIC 1.10 mg / mL. With respect to the yeast, all substances were less significant than for gram-positive bacteria, ranging from 0.70 to 1mg/mL for crude extracts and 1.10 to 1.20 mg / mL for the dyeing trade. **Conclusion:** this study showed the potential antibacterial and antifungal therapeutic value of these species can be better evaluated. **Descriptors:** *Phyllanthus*, MIC, antimicrobial, fungicide.

RESUMO

Objetivo: determinar a atividade antimicrobiana de três espécies de plantas do gênero *Phyllanthus* (*P. amarus* Schum e Thom., *P. tenellus* Roxb. e *Phyllanthus niruri* L.) e de sua tintura comercial (fitoterápico), frente a bactérias e leveduras. **Método:** foi avaliada a atividade antimicrobiana frente a microrganismos através do método de disco difusão, em seguida foram avaliadas as concentrações mínimas inibitórias dos melhores resultados a partir do método da microdiluição. **Resultados:** as espécies medicinais apresentam atividade antimicrobiana para bactérias Gram-positivas. A tintura comercial apresentou sensível atividade antimicrobiana. Os extratos apresentaram melhor atividade para *S. aureus* (*P. amarus* com MIC 0,16 mg/mL e *P. tenellus* com MIC 0,10 mg/mL), frente a *B. subtilis* os resultados também foram satisfatórios (*P. amarus* 0,25mg/mL e *P. tenellus* 0,30mg/mL). A tintura comercial apresentou MIC maior que 1mg/mL apenas para *S. aureus* com MIC de 0,70mg/mL, já para *B. subtilis* apresentou MIC 1,10mg/mL. Com relação as leveduras, todas as substâncias resultaram ser menos expressivos que para as bactérias gram-positivas, variando de 0,70 a 1mg/mL para os extratos brutos e 1,10 a 1,20 mg/mL para a tintura comercial. **Conclusão:** este estudo mostrou o potencial antibacteriano e antifúngicos destas espécies cujo valor terapêutico pode ser melhor avaliado. **Descritores:** *Phyllanthus*, CMI, antimicrobiana, fungicida.

RESUMEN

Objetivo: determinar la actividad antimicrobiana de tres especies de plantas del género *Phyllanthus* (*P. amarus* Schum y Thom., *P. tenellus* Roxb. y *Phyllanthus niruri* L.) y su tinte comercial (phytotherapeutic), frente a las bacterias y levaduras. **Método:** se evaluó la actividad antimicrobiana contra microorganismos por el método de difusión en disco y, a continuación, detectado concentración mínima inhibitoria de los mejores resultados de la microdilución método. **Resultados:** los medicamentos especies actividad antimicrobiana de las bacterias Gram-positivas. El tinte comercial mostraron un importante actividad antimicrobiana. Los extractos mostraron la mejor actividad para *S. aureus* (*P. amarus* MIC con 0,16 mg / ml y *P. tenellus* MIC con 0,10 mg / ml), frente a *B. subtilis* resultados también fueron satisfactorios (*P. amarus* 0,25 mg / ml y *P. tenellus* 0,30 mg / ml). El tinte comercial mostró superior a 1mg/mL MIC sólo para *S. aureus* con CMI de 0,70 mg / ml, y para *B. subtilis* mostró MIC 1,10 mg / mL. Con respecto a la levadura, todas las sustancias eran menos importantes que para las bacterias gram-positivas, que van desde 0,70 a 1mg/mL de extractos crudos y de 1,10 a 1,20 mg / ml de tintura para el comercio. **Conclusión:** este estudio demostró el potencial antibacteriano y antimicótico valor terapéutico de estas especies pueden ser mejor evaluadas. **Descriptores:** *Phyllanthus*, CMI, los antibióticos, fungicidas.

¹Enfermeira, professora mestra do Centro Acadêmico de Vitória/Núcleo Enfermagem/Universidade Federal de Pernambuco -Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil. Mestra pelo Departamento de Ciências Farmacêuticas – CCS/UFPE. E-mail: tassiacampos@yahoo.com.br; ²Farmacêutico. E-mail: jorge.veraspe@gmail.com; ³Bióloga. E-mail: janetemagali@yahoo.com.br; ⁴Professora Doutora do Departamento de Antibióticos – CCB/UFPE, Recife, Pernambuco, Brasil. E-mail: upa@ufpe.br; ⁵Professor doutor Departamento de Biologia/Área de Botânica/UFRPE, Recife, Pernambuco, Brasil. E-mail: biovania@uol.com.br; ⁶Professora doutora do Departamento de Ciências Farmacêuticas - CCS/UFPE, Recife, Pernambuco, Brasil. E-mail: elba@ufpe.br

INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais como matéria-prima para a síntese de substâncias bioativas, especialmente fármacos, tem sido amplamente relatado ao longo do tempo.¹ Há séculos, as plantas medicinais são utilizadas pelas comunidades indígenas e atualmente vários povos em todo mundo buscam a cura de doenças, usando-as em rituais mágicos, com fins medicinais.²

Durante os últimos anos, o uso indiscriminado de antibióticos, tem mostrado que vários microrganismos patogênicos desenvolveram resistência, sendo verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais visando obter novos compostos com propriedades antibióticas.

Nas pesquisas envolvendo o gênero *Phyllanthus* foram citadas atividade antibacteriana^{3,4,5} e fungicida^{5,6,7} para determinadas espécies. Algumas espécies são utilizadas com o nome popular de “saúde da mulher”, devido às aplicações ginecológicas, principalmente para o tratamento da candidíase.

Neste gênero encontramos *Phyllanthus amarus* Schum. & Thonn, *Phyllanthus tenellus* Roxb. e *Phyllanthus niruri* L., oriundas de regiões tropicais e subtropicais, utilizadas como medicamentos por diversos povos, principalmente pelas propriedades anticarcinogênica, antitumoral⁸, diurética, hipotensora, antibiótica⁹, além de ser uma alternativa no tratamento da infecção pelo vírus da hepatite B.¹⁰ Tratam-se de plantas de fácil disseminação, encontradas em terrenos baldios, calçadas, quintais e jardins. Estas espécies sempre se encontram em abundância nos solos com muita umidade além de bases de muros. De uma forma geral são plantas que preferem locais sombreados, com umidade e solos de preferência ricos em matéria orgânica.¹¹ As principais classes de metabólitos citados na literatura são alcalóides¹², taninos, quinonas e flavonóides¹³.

O presente trabalho objetivou determinar a atividade antimicrobiana de *P. amarus* Schum e Thom., *P. tenellus* Roxb. e *P. niruri* L. e de uma tintura comercial a base de quebra-pedra adquirida em farmácia de fitoterápicos, na região metropolitana do Recife, frente a oito microrganismos, sendo duas bactérias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* (ATCC6538) e *Bacillus subtilis* (UFPEDA16), três bactérias Gram negativas, *Escherichia coli* (ATCC25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC25922) e *Pseudomona aeruginosa* (ATCC27853) e três leveduras, *Candida* sp.(UFPEDA720), *Candida*

albicans (UFPEDA1007) e *Candida* sp. (UFPEDA4249).

MÉTODO

• Material vegetal e fitoterápico

As espécies foram coletadas na Região Metropolitana do Recife, sendo *Phyllanthus amarus* Schum & Thom coletada no Campus da Universidade Federal de Pernambuco - Recife/PE, *Phyllanthus tenellus* Roxb. Na cidade de Paulista/PE e *Phyllanthus niruri* L. na cidade de Camaragibe/PE.

A identificação do material coletado foi confirmada pelo Laboratório de Taxonomia Vegetal da Universidade Federal Rural de Pernambuco e depositado no Herbário da Universidade Federal de Pernambuco.

As amostras coletadas apresentavam folhas e caule verde-claro, sem nenhum dano aparente de predação.

O fitoterápico (tintura de quebra-pedra), foi adquirido em uma farmácia de produtos naturais localizada no centro da cidade do Recife.

• Extrato vegetal e fitoterápico

As plantas frescas foram submetidas à secagem a temperatura ambiente, protegidas da luz. As partes aéreas foram separadas, trituradas e pesadas (350g), seguida de extração com álcool etílico (96°GL) até o esgotamento. Os extratos foram evaporados com o auxílio de Evaporador Rotativo MA120 (temperatura 45±2°C) e apresentaram um aspecto turvo, odor forte e coloração verde-escuro.

O produto fitoterápico - Tintura de quebra-pedra, também foi evaporado e apresentava coloração marrom claro e com odor semelhante aos extratos brutos obtidos.

• Microorganismos-teste da atividade antimicrobiana

Foram utilizados como microorganismos-testes as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Bacillus subtilis* (UFPEDA16), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC25922), *Pseudomona aeruginosa* (ATCC27853) e as leveduras *Candida* sp. (UFPEDA720), *Candida albicans* (UFPEDA1007) e *Candida* sp. (UFPEDA4249). Os microrganismos pertencem a coleção de microrganismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

• Avaliação antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos extratos foi determinada pelo método de difusão em disco ágar¹⁴ segundo normas do NCCLS¹⁵, utilizando

uma concentração de 1mg/ml. Como controle, foi utilizado Ampicilina na concentração de 10mg/mL. A atividade antimicrobiana foi determinada através dos halos de inibição.

● **Concentração Mínima Inibitória (CMI) - Diluição em Meio Líquido**

A determinação da CMI foi determinada pelo método da diluição em ágar Mueller-Hinton, de acordo com as recomendações do NCCLS¹⁵. Foram avaliadas concentrações de 0,05 a 2mg/ml de cada amostra. Neste teste foram utilizadas as bactérias *S. aureus* (ATCC6538), *B. subtilis* (UFPEDA16), *Candida*

sp. (UFPEDA720), *C. albicans* (UFPEDA1007) e *Candida sp.* (UFPEDA4249) que foram inoculadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

● **Avaliação da atividade antimicrobiana**

Os resultados da atividade antimicrobiana em disco de papel podem ser observados na Tabela 1 pelo diâmetro do halo de inibição que variou de 10 a 17mm para as bactérias gram-positivas. Não foi observada atividade para as bactérias gram-negativas e para *Candida spp.*

Tabela 1. Halos de inibição (mm) observados para os extratos testados e produto comercial.

Microorganismos	Phyllanthus amarus		Phyllantus tenellus		Phyllantus niruri		Tintura Comercial		Ampicilina (10mg/mL)	
	AN	MH	AN	MH	AN	MH	AN	MH	AN	MH
<i>S. aureus</i> (ATCC6538)	14	16	15	17	12	12	12	12	57	52
<i>B. subtilis</i> (UFPEDA16)	10	11	11	13	13	13	10	10	40	37
<i>E. coli</i> (ATCC25922)	—	—	—	—	—	—	—	—	45	37
<i>K. pneumoniae</i> (ATCC25922)	—	—	—	—	—	—	—	—	07	—
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC27853)	—	—	—	—	—	—	—	—	15	16

Legenda: Meio Ágar Nutriente (AN), Meio Muller Hinton (MH), não houve inibição (-).

Os extratos brutos de *Phyllanthus amarus* e *Phyllanthus tenellus* apresentaram atividade apenas para as bactérias Gram positivas, merecendo destaque *P. tenellus* com halos de inibição de 17 e 13mm, seguido dos halos para *P. amarus* de 16 e 11mm, respectivamente para *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*. A tintura comercial apresentou pequena atividade para *S. aureus* com halo de 11mm. Não foi observada atividade antimicrobiana para as bactérias Gram-negativas e as leveduras.

Em analogia aos resultados, estudos com outras espécies de *Phyllanthus* mostram que *P. acidus* (L.) Skeels apresentou ação antibacteriana frente a bactérias Gram-positivas (*S. aureus*) e Gram-negativas (*E. coli*) com halos de inibição de 20 e 11mm, respectivamente³, mostrando que o gênero *Phyllanthus* apresenta promissores fármacos antimicrobianos. Em teste realizado com a espécie *P. singampattiana* frente a 11 bactérias Gram-negativas, 2 Gram-positivas e 3 espécies de fungos, este não apresentou atividade, reafirmando os resultados descritos anteriormente.¹⁶

Contrapondo-se, testes de atividade antifúngica mostraram que a espécie *Phyllanthus sellowianus* possui atividade frente a diferentes espécies de cândida (*C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*) com halos que variavam de 10 a 20mm.¹⁷ Além disso, Kloucek (2005)⁴ refere que *P. amarus* apresenta halo de 16mm frente a *E. coli*.

Plantas deste gênero têm sido empregadas na medicina popular para o tratamento de cálculos renais, infecções intestinais, infecções urinárias e ginecológicas, sendo conhecidas popularmente como “saúde da mulher” devido a esta utilização ginecológica. Levando em consideração o uso popular, foi realizado o teste de CMI não só para as bactérias Gram-positivas como também para os fungos, apesar de não ter sido observado halos de inibição neste ensaio qualitativo.

● **Concentração Mínima Inibitória (MIC)**

Tabela 2. Concentração Mínima Inibitória (MIC) em µg/mL para *Phyllanthus amarus*, *Phyllanthus tenellus* e tintura comercial frente a bactérias Gram positivas e leveduras.

MICROORGANISMOS	<i>Phyllanthus amarus</i>	<i>Phyllanthus tenellus</i>	Tintura Comercial
<i>S. aureus</i> (ATCC6538)	0,16 mg/mL	0,10 mg/mL	0,70 mg/mL
<i>B. subtilis</i> (UFPEDA16)	0,25 mg/mL	0,30 mg/mL	1,10 mg/mL
<i>Candida</i> sp. (UFPEDA720)	0,70 mg/mL	0,70 mg/mL	1,20 mg/mL
<i>C. albicans</i> (UFPEDA1007)	0,70 mg/mL	0,70 mg/mL	1,10 mg/mL
<i>Candida</i> sp. (UFPEDA4249)	1 mg/mL	0,70 mg/mL	1,10 mg/mL

Foi observado uma forte atividade antimicrobiana e antifúngica para as plantas testadas, tendo resultado mais expressivo os extratos brutos. *P. tenellus* apresentou melhor resultado frente a *S. aureus* (ATCC6538) apresentando CMI 0,10mg/mL, seguido por *P. amarus* com CMI 0,16mg/mL. Frente a *B. subtilis* (UFPEDA16), comparando as espécies, *P. amarus* apresentou melhor atividade com CMI 0,25mg/mL, seguido por *P. tenellus* com CMI 0,30mg/mL. A tintura comercial não apresentou atividade importante frente a este patógeno (CMI 1,10mg/mL) comparando com os resultados dos extratos, apenas para *S. aureus* com CMI 0,70mg/mL.

Comparando com resultados anteriores, poucos foram encontrados em relação ao CMI de outras espécies frente aos patógenos estudados. Foram encontrado resultados negativos descritos quanto a atividade antibacteriana para as seguintes espécies: *Phyllanthus acidus*, *P. amarus*, *P. debilis*, *P. pulcher*, *P. reticulatus*, *P. urinaria*.¹⁸ Já, Kloucek (2005)⁴ mostra a atividade do *Phyllanthus amarus* frente a *Bacillus cereus* (CMI16mg/ml.), *E. coli* (CMI 16mg/ml.) e *Pseudomonas aeruginosa* CMI 8mg/ml.), considerando os resultados atuais satisfatórios.

Com relação às leveduras, a CMI apresentou valores maiores em comparação as bactérias. A espécie *P. tenellus* apresentou os mesmos resultados para as três espécies de leveduras (0,70mg/mL) sendo o melhor resultado. A espécies *P. amarus* também apresentou CMI de 0,70mg/mL frente a *Candida* sp. (UFPEDA720) e *C. albicans* (UFPEDA1007), necessitando uma concentração maior para *Candida* sp. (UFPEDA4249) (1mg/mL).

Mesmo com resultados da ação fungicida considerados inferiores a bacteriana, ao comparar com estudos anteriores de outras espécies de *Phyllanthus*, observa-se uma superioridade nos resultados obtidos. A espécie *P. emblica* possui ação anti-cândida, entretanto com CMI de 7mg/mL.⁶ Já os extratos de *Phyllanthus piscatorum* apresentaram diferentes resultados para os

fungos: *Aspergillus fumigatus* (CMI ≥ 1µg/mL), *Aspergillus flavus* (CMI ≥12 µg/mL) e *Candida albicans* (CMI ≥ 4µg/mL).⁷ Observando assim a alta atividade fungicida em comparação com outras espécies.

CONCLUSÃO

Os extratos brutos possuem uma atividade maior para as bactérias Gram-positivas e há divergências químicas entre as duas espécies, o que resulta em diferentes resultados antimicrobianos.

Comparando os resultados da Tintura comercial com os extratos brutos, pode-se atribuído esta atividade do fitoterápico as condições de coleta da planta, tipo de solo, armazenagem, extração, e controle de qualidade do produto.

Quanto a ação dos extratos frente às leveduras, observamos valores elevados de CMI o que representa uma baixa atividade, principalmente se compararmos com os antibióticos comercializados. Entretanto, como o estudo foi realizado empregando os extratos brutos, o potencial antimicrobiano dos extratos destas plantas precisa ser purificado e realizados novos ensaios antimicrobianos para caracterizar a potencial atividade do produto purificado. Estes resultados mostraram o potencial biológico de duas espécies de *Phyllanthus* cujo valor terapêutico poderá ser melhor estudado.

AGRADECIMENTO

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/PIBIC/CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS

1. Barreiro EJ, Fraga CAM, Araújo Jr JX. O uso de matérias-primas vegetais para a síntese de fármacos. In: Simões CMO. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3ª ed. rev. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. DA UFSC; 2001. p.125.

2. Rodrigues E, Romanus PC, Giorgetti M, Otsuka RD. A investigação de plantas medicinais a partir da etnofarmacologia. In:

Alves, A.G.C., organizador. Atualidades em etnobiologia e etnoecologia. Recife: NUPEEA/Sociedade Brasileira de Etnobiologia e Etnoecologia; 2005;(2):107-20.

3. Meléndez PA, Capriles VA. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. *Phytomed*. 2006 Mar;13(4):272-276.

4. Kloucek P, Polesny Z, Svobodova B, Vlkova E, Kokoska L. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Calleria District. *J Ethnopharmacol*. 2005 Jun; 99(2): 309-12.

5. Goun E, Cunningham G, Chu D, Nguyen C, Miles D. Antibacterial and antifungal activity of Indonesian ethnomedical plants. *Fitoterapia*. 2003 Sep;74(6):592-96.

6. Mehmood Z, Ahmad I, Mohammad F, Ahmad S. Indian Medicinal Plants: A Potential Source for Anticandidal Drugs. *Pharmaceutical Biology (Formerly International Journal of Pharmacognosy)*. 1999 Jul;37(3):237-42.

7. Gertsch J, Tobler RT, Brun R, Sticher O, Heilmann J. Antifungal, Antiprotozoal, Cytotoxic and Piscicidal Properties of Justicidin B and a New Arylnaphthalide Lignan from *Phyllanthus piscatorum*. *Planta Med*. 2003;69:420-24.

8. Rajeshkumar NV, Joy KL, Kuttan G, Ramsewak RS, Nair MG, Kuttan R. Antitumour and anticarcinogenic activity of *Phyllanthus amarus* extract. *J Ethnopharmacol*. 2002 Jun; 81(1):17-22.

9. Calixto JB, Santos AR, Cechinel Filho V, Yunes RA. A review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. *Med Res Rev*. 1998 Jul;18(4):225-58.

10. Yeh SF, Hong CY, Huang YL, Liu TY, Choo KB, Chou CK. Effect of an extract from *Phyllanthus amarus* on hepatitis B surface antigen gene expression in human hepatoma cells. *Antiviral Res*. 1993 Mar;20(3):185-92.

11. Silva TCL, Souza IA, Araújo EC, Amorim ELC, Gomes TLB, Veras Filho J. Estudo da toxicidade subcrônica de *Phyllanthus tenellus* roxb.: avaliação comportamental. *Rev de enferm UFPE on line* [periódico na internet]. 2008 Out/Dez [acesso em 2009 Set 01];2(1):17-22. Disponível em: <http://www.ufpe.br/revistaenfermagem/index.php/revista/issue/view/21>

12. Huang RL, Huang YL, Oujc-Chen CC, Hsu FL, Chang C. Screening of 25 compounds isolated from *Phyllanthus* species for anti-human hepatitis B virus in vitro. *Phytother Res*. 2003 May;17(5):449-53.

13. Santiago LJM, Louro RP, Oliveira DE. Compartmentation of phenolic compounds and

phenylalanine ammonia-lyase in leaves of *phyllanthus tenellus* Roxb. and their Induction by Copper Sulphate. *Annals of Botany*. 2000 Nov; 86(5):1023-032.

14. Bauer AW, Kyrby WM. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966; (45):493-99.

15. NCCLS. National Committee for Clinical Lab. Stand. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. Doc. M31-T; 1997. p.64.

16. Ramesh N, Viswanathan MB, Selvi VT, Lakshmanaperumalsamy P. Antimicrobial and phytochemical studies on the leaves of *Phyllanthus singampattiana* (Sebastine & AN Henry) Kumari & Chandrabose from India *Med Chem Res*. 2004; 13(6-7):348-60.

17. Dantas ZMR, Lima EO, Vasconcelos Filho PA, Cechinel-Filho V. Susceptibilidade *in vitro* de espécies de *Candida* à maleimidaz, naftalimidaz e succimidaz. *Rev Bras Farm*. 2000;81(1/2):31-35.

18. Direkbusarakom S, Ezura Y, Yoshimizu M, Herunsalee A. Efficacy of Thai traditional herb extracts against fish and shrimp pathogenic bacteria. *Fish Pathology*. 1998 Oct;33(4):437-41.

Sources of funding: CNPq

Conflict of interest: No

Date of first submission: 2009/09/09

Last received: 2009/10/25

Accepted: 2009/10/26

Publishing: 2010/01/01

Address for correspondence

Tássia Campos de Lima Silva

Dep. de Ciências Farmacêuticas – CCS/UFPE

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n

CEP: 50670-901 – Recife, Pernambuco, Brasil