

INTERAÇÃO SINÉRGICA ENTRE O EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Cochlospermum regium* E O COMPOSTO HIDRATO DE PENTA-O-GALOIL- β -D-GLUCOSE NO CONTROLE DE *Staphylococcus aureus*

Data de aceite: 02/01/2024

Flávia Duarte Rodrigues

Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais.
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/8381287953354369>

Fernanda Galvão

Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD - Faculdade de Ciências da Saúde.
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/5467407206548408>

Diana Liz Jimenez Rolão

Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais.
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/8994898565098176>

João Vítor de Andrade dos Santos

Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD - Faculdade de Ciências da Saúde.
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/2771209341375012>

Fabiana Gomes da Silva Dantas

Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais.
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/0697584778581034>

Kelly Mari Pires de Oliveira

Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais.
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/57375745884149214>

RESUMO: *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilg., conhecido como “algodãozinho” ou “algodão-do-campo”, é uma planta nativa do Cerrado. Pesquisas recentes destacaram a eficácia do extrato etanólico das folhas de *C. regium* frente *Staphylococcus aureus* e identificaram os compostos de maior detectabilidade do extrato, sendo eles, galato de metila, quercitrina e 1,2,3,4,6-pentagalloyl-glucose que apresentam na literatura atividade antimicrobiana. Desta forma, levando em consideração a efetividade do extrato de *C. regium* frente *S. aureus* e as possíveis interações com compostos isolados que podem potencializar a atividade antibacteriana, o presente estudo teve como objetivo avaliar o sinergismo do extrato etanólico das folhas de *C. regium* e seus principais componentes fitoquímicos. Foram adquiridos comercialmente os compostos metil-3,4,5-trihidroxibenzoato (similaridade

estrutural com galato de metila) hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose (similaridade estrutural com 1,2,3,4,6-pentagalloyl-glucose) e quercitrina. O extrato foi obtido por extração etanólica das folhas de *C. regium*. A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato e dos compostos foi avaliada frente *S. aureus* fornecido pela *American Type Culture Collection* (ATCC 25923) por meio do teste microdiluição em caldo com concentrações de 0,24 $\mu\text{g/mL}$ a 250 $\mu\text{g/mL}$. Os compostos sem resultados de CIM foram excluídos da avaliação sinérgica. O sinergismo foi determinado pelo ensaio de *checkerboard* com concentrações de 0,97 a 125 $\mu\text{g/mL}$ e de 3,90 a 500 $\mu\text{g/mL}$ para hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose e extrato de *C. regium*, respectivamente, frente *S. aureus*. Os resultados indicaram que hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose apresentou CIM de 31,25 $\mu\text{g/mL}$ contra *S. aureus*, apresentando também atividade bactericida de 250 $\mu\text{g/mL}$. O ensaio de *checkerboard* demonstrou uma interação sinérgica entre o extrato e o hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose, apresentando uma redução de 130 vezes da CIM do hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose, indicando aumento da atividade antibacteriana quando combinados. Os resultados obtidos neste trabalho, além de inéditos, são promissores para futuras perspectivas de tratamento de infecções por *S. aureus*.

PALAVRAS-CHAVE: *Cochlospermum regium*, compostos fitoquímicos, sinergismo, bioatividades.

SYNERGISTIC INTERACTION BETWEEN THE ETHANOLIC EXTRACT OF *Cochlospermum regium* LEAVES AND THE COMPOUND PENTA-O-GALLOYL- β -D-GLUCOSE HYDRATE IN THE CONTROL OF *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT: *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilg., known as “algodãozinho” or “algodão-do-campo”, is a plant native to the Cerrado. Recent research has highlighted the effectiveness of the ethanolic extract of *C. regium* leaves against *Staphylococcus aureus* and identified the compounds with the highest detectability in the extract, namely methyl gallate, quercitrin and 1,2,3,4,6-pentagalloyl-glucose that present antimicrobial activity in the literature. Thus, taking into account the effectiveness of the *C. regium* extract against *S. aureus* and the possible interactions with isolated compounds that can enhance the antibacterial activity, the present study aimed to evaluate the synergism of the ethanolic extract of *C. regium* leaves and its main phytochemical components. The compounds methyl-3,4,5-trihydroxybenzoate (structural similarity with methyl gallate), penta-O-galloyl- β -D-glucose hydrate (structural similarity with 1,2,3,4,6-pentagalloyl-glucose) and quercitrin were commercially acquired. The extract was obtained by ethanolic extraction from *C. regium* leaves. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the extract and compounds was evaluated against *S. aureus* supplied by the American Type Culture Collection (ATCC 25923) using the broth microdilution test with concentrations from 0.24 $\mu\text{g/mL}$ to 250 $\mu\text{g/mL}$. Compounds without MIC results were excluded from synergistic evaluation. Synergism was determined by the checkerboard assay with concentrations of 0.97 to 125 $\mu\text{g/mL}$ and 3.90 to 500 $\mu\text{g/mL}$ for penta-O-galloyl- β -D-glucose hydrate and *C. regium* extract, respectively, against *S. aureus*. The results indicated that penta-O-galloyl- β -D-glucose hydrate presented an MIC of 31.25 $\mu\text{g/mL}$ against *S. aureus*, also presenting bactericidal activity of 250 $\mu\text{g/mL}$. The checkerboard assay demonstrated a synergistic interaction between the extract and penta-O-galloyl- β -D-glucose hydrate, showing a 130-fold reduction in the MIC of penta-O-galloyl- β -D-glucose hydrate, indicating increased antibacterial activity when combined. The results obtained in this work, in addition to being

unprecedented, are promising for future perspectives on the treatment of *S. aureus* infections.

KEYWORDS: *Cochlospermum regium*, phytochemical compounds, synergy, bioactivities.

1 | INTRODUÇÃO

Cochlospermum regium (Schrank) Pilg., também conhecido como “algodãozinho” ou “algodão-do-campo”, é uma espécie nativa do bioma Cerrado e regiões próximas ao Pantanal no Brasil (NETO, 2016). Suas propriedades medicinais têm levado à exploração das raízes e caule da planta para tratamentos tradicionais (SÓLON et al., 2009). Estudos realizados por Galvão et al. (2020; 2023), demonstraram o potencial antibacteriano do extrato etanólico das folhas de *C. regium* frente *Staphylococcus aureus* e evidenciou três compostos com maior detectabilidade, sendo eles, metil-3,4,5-trihidroxibenzoato, quercitrina e 1,2,3,4,6-pentagalloyl-glucose que apresenta similaridade química com o hidrato de penta-O-galloyl-β-D-glucose.

O composto 1,2,3,4,6-pentagalloyl-glucose é caracterizado como um tanino hidrossolúvel que contém cinco grupos galoila com uma glicose em seu núcleo e possui estruturas específicas que conferem alta atividade biológica. Dentre as suas atividades farmacológicas descritas na literatura, destaca-se seu potencial antioxidante, anti-inflamatório, anticâncer (BALKRISHNA et al., 2022; CAO et al. 2014; TORRES-LEÓN et al., 2017; ZHANG et al., 2019) e principalmente sua atividade antibacteriana frente *S. aureus* (HRICOVÍNIOVÁ et al., 2021; JIAMBOONSRI et al., 2011; LIN et al., 2011).

Em um cenário de potencialização de atividade antibacteriana com uma perspectiva de redução de compostos sintéticos, avaliar a interação sinérgica de compostos isolados com extratos naturais pode ser uma alternativa factível e promissora. O sinergismo é um fenômeno de destaque no estudo de extratos vegetais com compostos isolados. Ele representa uma interação positiva que ocorre quando dois agentes são combinados, resultando em um efeito inibitório maior do que a simples soma de seus efeitos individuais (SILVA et al., 2019).

Levando em consideração o potencial bioativo descrito na literatura científica de *C. regium* frente *S. aureus* e a identificação de compostos de maior detectabilidade em suas folhas, bem como, o possível aumento de atividade biológica por meio de interação sinérgica de extrato e composto isolado, este estudo objetivou investigar a atividade sinérgica do extrato etanólico das folhas de *C. regium* e seus componentes fitoquímicos frente ao desenvolvimento de *S. aureus*.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do material vegetal, fitoquímicos e preparo do extrato de *C. regium*

As folhas frescas de *C. regium* foram coletadas em Dourados, Mato Grosso do Sul, coordenadas S 22°08'47.2" / W 054°54'54.1". A espécie foi identificada pela Dra. Zefa Valdivina Pereira e registrada no Herbário da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD; número de registro DDMS 5001) e no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (Registro SisGen/MMAAA49C66). Para o preparo do extrato etanólico das folhas de *C. regium*, 40g do material seco triturado foi submetido ao contato com etanol em proporção 1:10 (p/v). A mistura obtida foi submetida a sonicação contínua, realizada à temperatura ambiente, durante dois períodos consecutivos de 45 minutos. Após o término da sonicação, a suspensão resultante passou por um processo de filtração com papel filtro. Em seguida foi realizada evaporação do solvente em capela de exaustão para obtenção do extrato final (GALVÃO et al., 2023). Os compostos metil-3,4,5-trihidroxibenzoato (274194-5G), hidrato de penta-O-galoil-β-D-glucose (G7548-5MG) e quercitrina (Y0001931) foram adquiridos comercialmente (Sigma Aldrich).

2.2 Avaliação anti-*Staphylococcus aureus*

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) das amostras frente *S. aureus* foi realizada utilizando o método de microdiluição em caldo conforme as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute M07-A9* (CLSI, 2012).

As amostras foram testadas em concentrações que variaram de 0,24 µg/mL a 250 µg/mL frente *S. aureus* ATCC 25923, concentrado a $1,5 \times 10^8$ células/mL. Após a incubação a 37 °C por 24 horas, a leitura da CIM foi realizada com a utilização de trifetil tetrazólio cloreto 2,3,5 (TTC).

A CIM foi determinada como a menor concentração na qual não houve crescimento bacteriano. Para determinar a Concentração Bactericida Mínima (CBM), alíquotas foram retiradas dos poços e plaqueadas em meio Müller-Hinton. A menor concentração na qual não houve crescimento de unidades formadoras de colônias (UFC) foi considerada como CBM (ESPINEL-INGROFF, 1998). Ambos ensaios foram realizados em dois momentos distintos.

2.3 Ensaio de *Checkerboard*

Considerando os resultados obtidos no teste de CIM, o ensaio para determinar a atividade combinatória entre o extrato etanólico das folhas de *C. regium* e seus componentes fitoquímicos foram realizados pelo método de *checkerboard*, tabuleiro de xadrez, frente *S.*

aureus ATCC 25923 (CLSI, 2012; DE CASTRO et al., 2015).

O ensaio de *checkerboard* foi realizado apenas com o hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose em combinação com o extrato etanólico das folhas de *C. regium*, pois os compostos metil-3,4,5-trihidroxibenzoato e quercitrina não apresentaram potencial antimicrobiano nas condições avaliadas. Uma matriz de combinações de diferentes concentrações foi disposta na microplaca de 96 poços com caldo Müller-Hinton, o composto (0,97 a 125 $\mu\text{g/mL}$) e o extrato (3,90 a 500 $\mu\text{g/mL}$). Em seguida, 50 μL do inóculo de *S. aureus* padronizado na concentração de $1,5 \times 10^8$ células/mL, foram adicionados e a placa foi incubada por 24 h a 37°C.

A leitura foi realizada adicionando 50 μL de TTC em todos os poços da microplaca. Os resultados foram interpretados com base na atividade combinatória dos compostos e do extrato utilizando o Índice de Concentração Inibitória Fracionária (ICIF). Os critérios para a interpretação: Sinérgico (ICIF $\leq 0,5$); efeito aditivo ($0,5 > \text{ICIF} < 1$), indiferente ($1 \geq \text{ICIF} < 4$) ou antagonista (ICIF ≥ 4) (DJERIDANE et al., 2006).

3 | RESULTADOS

3.1 Avaliação anti-*Staphylococcus aureus*

Nas concentrações e condições avaliadas, somente o composto hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose apresentou atividade antimicrobiana, com valor de CIM de 31,25 $\mu\text{g/mL}$ e CBM de 250 $\mu\text{g/mL}$ frente *S. aureus*.

Compostos	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	
	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM ($\mu\text{g/mL}$)
metil-3,4,5-trihidroxibenzoato	-	-
hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose	31,25	250
quercitrina	-	-

CIM: concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$); CBM: concentração bactericida mínima ($\mu\text{g/mL}$); -: sem atividade nas concentrações de 0,24 - 250 ($\mu\text{g/mL}$).

Tabela 1. Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) dos compostos metil-3,4,5-trihidroxibenzoato, hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose e quercitrina frente *S. aureus*.

3.2 Ensaio de *Checkerboard*

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos no ensaio do *checkerboard* realizado com o extrato de *C. regium* e o composto hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose que apresentou atividade antimicrobiana. O valor obtido de ICIF foi de 0,5, o que sugere uma interação sinérgica entre as duas amostras. Isso significa que a combinação tem o potencial de ser mais eficaz no controle do microrganismo alvo quando comparada ao uso dos agentes isoladamente.

	CIM ($\mu\text{g/mL}^{-1}$)		CIF	ICIF	Resultado
	Sozinho	Combinado			
hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose	31,25	0,24	0,00768	0,50	Sinérgico
Extrato de <i>C. regium</i>	125	62,5	0,5		

CIM: Concentração inibitória mínima; CIF: Concentração inibitória fracionária; ICIF: Índice de concentração inibitória fracionária.

Tabela 2. Atividade sinérgica do hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose combinado com extrato etanólico das folhas de *C. regium* frente *S. aureus* (ATCC 25923).

4 | DISCUSSÃO

Cochlospermum. regium é uma espécie encontrada no Cerrado brasileiro e em regiões adjacentes ao Pantanal (BUENO et al., 2018). Sendo esta, uma planta vastamente explorada devido ao seu uso medicinal popular, em sua maior parte, para o tratamento de infecções (GALVÃO et al., 2023; ALMEIDA-APOLONIO et al., 2018; LEME et al., 2017; GALVÃO et al., 2020). No entanto, essa exploração inclui, principalmente, o uso da raiz, o que impacta significativamente para a sobrevivência da planta, reduzindo sua capacidade de reprodução e crescimento, bem como, aumentando o risco de extinção da espécie (CARNEIRO; DOS SANTOS, 2013).

Nesse sentido, a utilização das folhas de *C. regium* se apresenta como uma alternativa promissora e mais sustentável. Além disso, sabe-se que embora todas as partes da planta possam conter compostos bioativos, as folhas tendem a abrigar uma concentração mais significativa de determinados metabólitos secundários, como flavonóides e taninos, que são reconhecidos por suas propriedades medicinais (PATEIRO et al., 2023; VELÁZQUEZ et al., 2021).

Galvão et al. (2020) avaliaram o potencial antibacteriano do extrato etanólico das folhas de *C. regium*, que demonstrou CIM de 125 $\mu\text{g/mL}$ frente *S. aureus*. No presente estudo, foi possível observar que dentre os compostos com maior detectabilidade das folhas de *C. regium*, o hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose apresentou CIM de 31,25 $\mu\text{g/mL}$, evidenciando que o composto isolado apresenta potencial antibacteriano em uma concentração 4 vezes menor que a desempenhada pelo extrato de *C. regium*. Os resultados obtidos no trabalho de Hricovíniová et al. (2021) demonstraram que o 1,2,3,4,6-penta-O-galloil-D-glucose apresenta CIM de 32 $\mu\text{g/mL}$ frente *S. aureus*, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho. Em relação ao possível mecanismo de ação responsável pela inibição de *S. aureus*, é relatado que este composto pode atuar em danos diretos na membrana celular, levando a uma alteração na morfologia celular e interferência na divisão bacteriana (HRICOVÍNIOVÁ et al., 2021).

Quanto ao potencial bactericida, os estudos de Galvão et al., (2020) demonstraram que o extrato etanólico das folhas de *C. regium* apresentou CBM de 250 $\mu\text{g/mL}$ frente

S. aureus, assim como, o do hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose demonstrado nesta pesquisa. Logo, o potencial bactericida do extrato etanólico de *C. regium* pode estar associado com a presença do composto hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose.

Nesse contexto, ressalta-se a necessidade de compreender como diferentes substâncias atuam em conjunto para produzir efeitos distintos. Tal fenômeno, denominado de sinergismo, é amplamente observado na interação entre compostos naturais, que desempenham um papel crucial na potencialização de atividades biológicas (CHANDA; RAKHOLIYA, 2011). Nesse estudo, a combinação entre o extrato etanólico das folhas de *C. regium* e o composto hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose contribuiu para a redução da CIM frente *S. aureus* do composto em 130 vezes (0,24 $\mu\text{g/mL}$) demonstrando que essa interação pode ser promissora no controle de *S. aureus* devido a sua baixa CIM quando comparado com valores de antibióticos padrões como oxacilina que apresenta CIM de 0,97 para a mesma ATCC utilizada neste trabalho (CHOI et al., 2010).

Os demais compostos avaliados não apresentaram atividade frente a *S. aureus*, mas estudos na literatura já demonstraram que metil-3,4,5-trihidroxibenzoato foi associado a atividades antitumoral, antioxidante, anti-inflamatória e antiparasitária (LIANG et al., 2023; DIAS et al., 2020) e a quercitrina a atividade antidiarreica, antioxidante e anti-inflamatória (CHEN et al., 2022 e CHO et al., 2016). Esses estudos apontam para a diversidade das ações individuais desses compostos. No entanto, a ação sinérgica dos mesmos também deve ser considerada devido aos valores de CIM encontrados para o extrato, que demonstram a sua atividade combinada e não de maneira isolada.

5 | CONCLUSÃO

De forma inédita, o presente estudo avaliou a atividade sinérgica entre o extrato etanólico das folhas de *C. regium* e o composto hidrato de penta-O-galoil- β -D-glucose. Essa interação ressalta a relevância da compreensão da interação entre os compostos, por potencializar a atividade antibacteriana e representar uma direção promissora para o desenvolvimento de opções terapêuticas mais eficazes no tratamento de infecções bacterianas protagonizadas por *S. aureus*.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA-APOLONIO, A. A. et al. Control of *Cryptococcus gattii* biofilms by an ethanolic extract of *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilger leaves. **The Scientific World Journal**, v. 2018, 2018.

BALKRISHNA, A. et al. Penta-O-Galloyl- β -D-Glucose in pistacia integerrima targets AMPK-ULK1 and ERK/STAT3 signaling axes to induce ROS-Independent autophagic cell death in human lung cancer cells. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 2022.

BUENO, M. L. et al. Flora arbórea do Cerrado de Mato Grosso do Sul. **Iheringia, Série Botânica.**, v. 73, p. 53-64, 2018.

CAO, Y. et al. Biological and biomedical functions of Penta-O-galloyl-d-glucose and its derivatives. **Journal of Natural Medicines**, v. 68, n. 3, p. 465-472, 2014.

CARNEIRO, M. R. B.; DOS SANTOS, M. L. Os recursos vegetais medicinais utilizados pela população da região Centro Oeste do Brasil: uma compilação de espécies ou *Checklist* de Fanerógamas. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 2, n. 1, p. 28-42, 2013.

CHANDA, S.; RAKHOLIYA, K. Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. **Microbiol Book Series**, v. 1, p. 520-529, 2011.

CHEN, J. et al. Chemistry, pharmacokinetics, pharmacological activities, and toxicity of quercitrin. **Phytotherapy Research**, v. 36, n. 4, p. 1545-1575, 2022.

CHO, Y-H. et al. Anti-inflammatory potential of Quercetin-3-O-β-D-("2"-galloyl)-glucopyranoside and Quercetin isolated from *Diospyros kaki* calyx via suppression of MAP signaling molecules in LPS-induced RAW 264.7 Macrophages. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 10, 2016.

CHOI, J. G. et al. Antimicrobial activity of the constituents of *Smallanthus sonchifolius* leaves against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **European review for medical and pharmacological sciences**, v. 14, p. 1005-1009, 2010.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. M7-A9 "Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically"; Approved Standard (9rd Edition), 32, 2012.

DE CASTRO, R. D. et al. Antifungal activity and mode of action of thymol and its synergism with nystatin against *Candida* species involved with infections in the oral cavity: an in vitro study. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 15, n. 1, p. 1-7, 2015.

DIAS, C. N. et al. Methyl gallate: Selective antileishmanial activity correlates with host-cell directed effects. **Chemico-Biological Interactions**, v. 320, p. 109026, 2020.

DJERIDANE, A. et al. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. **Food chemistry**, v. 97, n. 4, p. 654-660, 2006.

ESPINEL-INGROFF, A. Comparison of in vitro activities of the new triazole SCH56592 and the echinocandins MK-0991 (L-743,872) and LY303366 against opportunistic filamentous and dimorphic fungi and yeasts. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 10, p. 2950-2956, 1998.

GALVÃO, F. et al. Chemical composition and effects of ethanolic extract and gel of *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilg. Leaves on inflammation, pain, and wounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 302, p. 115881-115881, 2023.

GALVÃO, F.O. et al. *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilg. leaf extract inhibit methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 261, 2020.

HRICOVÍNIOVÁ, Z. et al. New unnatural gallotannins: A way toward green antioxidants, antimicrobials and antibiofilm agents. **Antioxidants**, v. 10, n. 8, p. 1288-1288, 2021.

- JIAMBOONSRI, P. et al. The inhibitory potential of thai mango seed kernel extract against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Molecules**, v. 16, n. 8, p. 6255-6270, 2011.
- LEME, D.E. et al. In vitro control of uropathogenic microorganisms with the ethanolic extract from the leaves of *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilg. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, 2017.
- LIANG, H. et al. Methyl gallate: Review of pharmacological activity. **Pharmacological Research**, v. 194, p. 106849–106849, 2023.
- LIN, M.-H. et al. Inhibitory Effects of 1,2,3,4,6-Penta- *O* -Galloyl- β - d -glucopyranose on biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 3, p. 1021-1027, 2011.
- NETO, G. G. *Cochlospermum regium* (mart. & schrank) pilger-bixaceae. **FLOVET-Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica**, v. 1, n. 8, 2016.
- PATEIRO, M. et al. Bioactive Compounds from leaf vegetables as preservatives. **Foods**, v. 12, n. 3, p. 637-637, 2023.
- SILVA, D. M. et al. Plant extracts display synergism with different classes of antibiotics. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, 2019.
- SÓLON, S. et al. o gênero *Cochlospermum kunth* com ênfase nos aspectos etnobotânicos, farmacológicos, toxicológicos e químicos de *Cochlospermum regium* (Mart. et. Schr.) Pilger. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 3, 2009.
- TORRES-LEÓN, C. et al. Pentagalloylglucose (PGG): A valuable phenolic compound with functional properties. **Journal of Functional Foods**, v. 37, p. 176-189, 2017.
- VELÁZQUEZ, L. et al. Natural antioxidants from endemic leaves in the elaboration of processed meat products: Current Status. **Antioxidants**, v. 10, n. 9, p. 1396-1396, 2021.
- ZHANG, J. et al. Anti-Cancer, anti-Diabetic and other pharmacologic and biological activities of Penta-Galloyl-Glucose. **Pharmaceutical Research**, v. 26, n. 9, p. 2066-2080, 2009.