

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 15 (3)

March 2022

DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/15320221518>

Article link: <https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1518>



Análise química e antimicrobiana das plantas medicinais presentes no Horto das Faculdades Nova Esperança

Chemical and antimicrobial analysis of medicinal plants from the Horto of Nova Esperança College

Esther Coutinho Veloso da Silva
Faculdade Nova Esperança

Augusto de Souza Silva
Faculdade Nova Esperança

Daniele Figuerêdo Silva
Universidade Federal da Paraíba

Maria Denise Leite Ferreira
Universidade Federal da Paraíba

Abraão Alves de Oliveira Filho
Universidade Federal de Campina Grande

Corresponding author

Aleson Pereira de Sousa
Universidade Federal da Paraíba
aleson_155@hotmail.com

Resumo. As plantas medicinais são amplamente utilizadas com fins terapêuticos e destaca-se desde as condições ideais para a seleção das plantas, à escolha das partes utilizadas, forma correta de preparo e administração o que permite estudos de seus compostos bioativos. O presente trabalho trata-se da análise qualitativa das classes de metabólitos secundários e atividade antimicrobiana presentes nas partes aéreas de três espécies de plantas medicinais oriundas do horto das Faculdades Nova Esperança, sendo elas: *Jatropha curcas* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Cissus sicyoides*. Os dados permitiram constatar o predomínio de classes como: flavonoides e terpenos nas espécies, aliados as identificações dessas classes de compostos por meio de regiões características nos espectros de RMN de H^1 nos permitiram o direcionamento de um perfil fitoquímico para cada planta separadamente. A presença dessas substâncias entre outras estão relacionadas com as ações farmacológicas desencadeadas, sendo assim os resultados corroboram com a literatura e ratificam o uso medicinal destas. As plantas não apresentaram atividade contra as cepas antifúngicas (*C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*) e antibacterianas (*S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*) testadas, sugere-se que fatores sazonais (clima, temperatura, época de colheita) e metodológicos, podem ser os aspectos que influenciam na síntese de metabólitos secundários relacionados principalmente a atividade antimicrobiana. Essa pesquisa recomenda que estudos adicionais sejam realizados com as plantas medicinais, oriundas do horto das faculdades nova esperança, fortalecendo assim o uso racional, baseado em evidências científicas.

Palavras-chave: Fitoquímico, Metabólitos Secundários, Atividade antimicrobiana.

Abstract. Medicinal plants are widely used for therapeutic purposes and stand out from the ideal conditions for the selection of plants, the choice of parts used, the correct form of preparation and administration, which allows studies of their bioactive compounds. The present research is a qualitative analysis of the classes of secondary metabolites and antimicrobial activity present in the aerial parts of three species of medicinal plants from the horto of Nova Esperança College, namely: *Jatropha curcas* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Cissus sicyoides*. The data allowed us to verify the

predominance of classes such as: flavonoids and terpenes in the species, together with the identification of these classes of compounds through characteristic regions in the H1 NMR spectra allowed us to target a phytochemical profile for each plant separately. The presence of these substances, among others, are related to the pharmacological actions triggered, so the results corroborate the literature and confirm their medicinal use. The plants did not show activity against the antifungal (*C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. glabrata*) and antibacterial (*S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*) strains tested, it is suggested that seasonal factors (climate, temperature, harvest time) and methodological aspects may be the aspects that influence the synthesis of secondary metabolites mainly related to antimicrobial activity. This research recommends that additional studies be carried out with medicinal plants, originating from the horto of the Nova Esperança College, thus strengthening the rational use, based on scientific evidence

Keywords: Phytochemical Screening, Secondary metabolites, Antimicrobial activity.

Introdução

As espécies vegetais revelam desde antiguidade que são importantes fontes de novos bioprodutos, fato que se confirma através de pesquisas científicas especialmente nas áreas de química e farmacologia, e despertam a cada dia um grande interesse devido à vasta biodiversidade da flora do planeta e à ausência de descobertas de novos fármacos alternativos para tratamento de doenças infecciosas, metabólicas, imunossupressão e câncer (ALMEIDA; MARTINEZ; PINTO, 2017).

As plantas medicinais (PM) produzem uma grande e diversa variedade de componentes orgânicos, que são divididos em dois grupos: metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são responsáveis por uma série de processos envolvidos na manutenção fundamental da sobrevivência e do desenvolvimento das plantas e os metabólitos secundários são aqueles que possuem funções diretamente envolvidas nos mecanismos que permitem a adequação da planta a seu meio (PEREIRA; CARDOSO, 2012; SARAIVA et al., 2018).

A química de produtos naturais, especialmente a fitoquímica, vislumbra o conhecimento dos metabólitos secundários das espécies vegetais, através do isolamento e determinação das suas estruturas químicas adotando para tanto os métodos cromatográficos e espectroscópicos, respectivamente. A busca por tal conhecimento tem levado ao desenvolvimento de novos métodos de análises nos estudos fitoquímicos. Estes metabólitos apresentam um grande leque de estruturas complexas e se destacam nas espécies vegetais por serem substâncias essenciais aos processos biológicos de regulação celular, comunicação química, equilíbrio e defesa dos organismos que os contêm. A espécie humana utiliza esses vegetais e seus metabólitos como fonte de fármacos a partir de substâncias com atividades antibióticas, antioxidantes e fungicidas, sendo empregadas como forma de proteção contra microrganismos, como alimentos, fragrâncias, cosméticos e agroquímicos (SIMÕES et al., 2017; SARAIVA, et al., 2018).

Nos últimos anos houve um grande crescimento científico nos estudos farmacológicos de plantas medicinais, proporcionando assim maiores alternativas terapêuticas de ação antifúngica, bem como a utilização de óleos essenciais para atividades antimicrobianas (DAS K,

2010; AMPARO, 2018). Devido a sua atividade metabólica secundária, as PM são capazes de produzir substâncias antibióticas, utilizadas como mecanismo de defesa contra microrganismos (SILVA, 2010; DE SOUZA, 2017). Entre essas substâncias destacam-se, os terpenoides, óleos essenciais, flavonoides, quinonas, taninos e cumarinas, responsáveis pela ação antimicrobiana (DE SOUZA, 2017).

Diversos métodos para teste de atividade antimicrobiana de produtos naturais estão disponíveis na literatura, incluindo avaliações qualitativas (triagens) e/ou quantitativas, com determinação da menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano (concentração inibitória mínima – CIM). (VALGAS, 2007; AMPARO, 2018).

As plantas medicinais apresentam um gama de metabólitos secundários que representam uma interação química entre a planta e o ambiente em que as envolve, porém, sua síntese é correntemente afetada por variações ambientais. Algumas variações podem desencadear uma baixa na produção dos metabólitos secundários e esses fatores podem ser proveniente da sazonalidade, ritmo circadiano e desenvolvimento, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica, indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos, entre outros, ou esses fatores podem desencadear correlações entre si influenciando no metabolismo secundário (NASCIMENTO-JUNIOR et al., 2020).

Diante de fatos que revelam a grande importância que envolve o estudo das drogas de origem vegetal e, sabendo que para atender os critérios de qualidade, eficácia e segurança do seu uso pelas populações, inúmeras pesquisas precisam ser desenvolvidas, fundamentados neste contexto, explora-se neste estudo o perfil fitoquímico e antimicrobiano de três espécies coletadas do horto das faculdades Nova Esperança: *Jatropha curcas* L. (Pinhão-roxo); *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim); *Cissus sicyoides* (Insulina vegetal).

Métodos

Triagem Fitoquímica

As triagens fitoquímicas dos metabólitos secundários presentes nos extratos etanólicos brutos (EEBs) das espécies vegetais foram realizadas de acordo com metodologia preconizada

por SOUZA; SILVA, 2006 e NASCIMENTO-JUNIOR et al., 2020.

Testes para Flavonoides

Realizou-se o teste de cianidina ou Shinoda (HCl concentrado e magnésio). Onde adicionou a 10 mg do extrato, aproximadamente 0,5 cm de magnésio em fita com 2 ml de ácido clorídrico concentrado. O fim da reação deu-se pelo término da efervescência. O aparecimento de coloração que variou de parda a vermelha, indicou a presença de flavonóides no extrato.

Testes para Saponinas

O extrato bruto foi misturado com 5 ml de água destilada em um tubo de ensaio e agitado de forma manual e vigorosa por 30 segundos. A formação de espuma estável (1 cm de altura), mesmo após 30 minutos, é tomada como indicação da presença de saponinas.

Testes para Alcaloides

Foi aquecida a fervura, cerca de 10 mg da droga vegetal (moída) em teste, e 30 ml de ácido clorídrico diluído. Filtrado. Dividido o filtrado em 4 tubos de ensaio. Em 3 tubos foram acrescentadas três gotas dos reagentes de Dragendorff, Mayer e Buchard, respectivamente. Um tubo será o branco. Observe a formação de turvação e/ou precipitado.

Testes para Terpenoides

Os testes para Esteroides/triterpenoides foram realizados pela reação de Lieberman Burchard (anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado), tomando 10 mg do extrato e misturando-o a 2 ml de clorofórmio, em seguida a solução clorofórmica foi filtrada gota a gota em um funil com algodão coberto com alguns decigramas de Na₂SO₄ anidro. Em tubo de ensaio, adicionou-se 1 ml de anidrido acético, agitando suavemente, e acrescentou-se cuidadosamente três gotas de H₂SO₄ concentrado, agitando suavemente e observando, se haveria desenvolvimento de cores. Coloração azul evanescente seguida de verde, indicou a presença de esteroides/triterpenoides respectivamente.

Testes para Taninos

Em um tubo de ensaio contendo 10 mg do extrato adicionou-se três gotas de solução alcoólica de Cloreto Férrico (FeCl₃), agitando fortemente, observou-se qualquer variação de cor. Precipitado de tonalidade azul indica a presença de taninos hidrolisáveis, e verde, a presença de taninos condensados.

Análise dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN¹H) foram obtidos no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA-UFPB) da Universidade Federal da Paraíba, com auxílio de um espectrômetro da Bruker 400 MHz (¹H). Uma alíquota de 1 mg de cada e extrato, separadamente, foi solubilizado em metanol deuterado e posteriormente adicionada, com auxílio de pipetas de vidro a tubos de vidros apropriados para análise de RMN.

Estudo Antimicrobiano

Foram testados os extratos etanólicos brutos (EEBs), obtidos das partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Cissus sicyoides*. Os mesmos foram pesados e solubilizados em dimetil-sulfóxido-DMSO (Labsynth produtos para Laboratório LTDA) numa proporção de até 10%, seguido de tween 80 a 0,02%, para que seja obtida uma emulsão na concentração de 2048µg/ml (NASCIMENTO et al., 2007).

Antimicrobianos Sintéticos

Para o controle de atividade antimicrobiana foram usados discos de cefepima; imipenem + cilastatina e gentamicina para bactérias e anfotericina B, voriconazol, itraconazol e fluconazol para fungos. Todos serão adquiridos da Sigma-Aldrich® (São Paulo-SP).

Cepas bacterianas e fúngicas e produção do inóculo

Para os ensaios de atividade antimicrobiológica, foram utilizadas 6 cepas bacterianas que correspondem a: 2 linhagens de *Escherichia coli* (ATCC 18739, LM 977), 2 linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027, ATCC 25853) e 2 linhagens de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923, LM314).

Já as células fúngicas foram 2 linhagens de *Candida albicans* (ATCC-90028, LM-807); 2 linhagens de *Candida tropicalis* (ATCC-13803, LM-12) e 2 linhagens de *Candida glabrata* (ATCC 90030, LM -302), ou seja, um total de 6 linhagens de *Candida* spp. Todas as cepas (bacterianas e fúngicas) pertencem a MICOTECA do Laboratório de Pesquisas em Atividade Antibacteriana e Antifúngica de Produtos Naturais e/ou Sintéticos Bioativos do Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF), Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba e foram registradas no Sistema Nacional de Gerenciamento do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado sob os números: AE2020F (linhagens de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas), A2DA281 (linhagens de *Candida albicans*) e AD662FE (linhagens de *Candida tropicalis*).

Para a produção do inóculo, células das diferentes espécies bacterianas mantidas em Agar Mueller Hinton (AMH) a uma temperatura de 4 °C foram repicadas em AMH e incubadas a 35 ± 2 °C por 24-48 horas e as colônias obtidas foram suspensas em uma solução estéril de NaCl (0,9%), agitadas em um aparelho de vórtex e ajustadas de acordo com o padrão 0,5 McFarland, a fim de obter um inóculo de 1-5x10⁶ UFC/mL. Já as leveduras o inóculo foi preparado a partir de culturas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*, repicadas em Agar Sabouraud Dextrose (ASD) e incubadas a 35 ± 2 °C por 24-48 horas. As colônias dessas leveduras também foram suspensas em uma solução estéril de NaCl (0,9%), agitadas em um aparelho de vórtex e ajustadas de acordo com o

padrão 0,5 McFarland, a fim de obter um inóculo de $1-5 \times 10^6$ UFC / mL (KONEMAN et al., 2008; OSTROKY et al., 2008).

Determinação da Concentração Inibitória mínima – CIM

Os ensaios de atividade antibacteriana/antifúngica foram realizados conforme os protocolos de Cleeland e Squires (1991), Hadacek e Greger (2000) e CLSI (2008). A determinação da CIM do extrato etanólico de *Jatropha curcas* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Cissus sicyoides*, sobre as linhagens bacterianas e fúngicas foram realizadas através da técnica da microdiluição em caldo em placa para cultura de células (Alamar®) contendo 96 poços em forma de "U". Inicialmente, foram distribuídos 100 µL de RPMI 1640 duplamente concentrado nos orifícios das placas de microdiluição. Em seguida, 100 µL da emulsão do respectivo extrato (produto teste) também duplamente concentrado, foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024 µg/mL até 2 µg/mL. Por fim, foi adicionado 10 µL dos inóculos das cepas bacterianas/fúngicas (descritas no tópico 4.3.4), onde cada coluna da placa refere-se a uma cepa especificamente.

A determinação da CIM também foi realizada para os antibióticos/antifúngicos licenciados e um controle da viabilidade dos microrganismos (poços contendo 100 µL de caldo

de meio de cultura e 10 µL de inóculo bacteriano/fúngico) também foram realizados. As placas depois de preparadas foram fechadas e submetidas à incubação numa temperatura de 35 ± 2 °C por 24 - 48 horas. A CIM foi definida como a menor concentração do produto, capaz de produzir inibição visível sobre o crescimento bacteriano/fúngico verificado nos poços, quando em comparação com seus controles. O resultado foi expresso pela média aritmética das CIM's obtidas no ensaio que ocorrerá em triplicata.

A atividade antibacteriana/antifúngica dos extratos etanólicos de *Jatropha curcas* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Cissus sicyoides* foram interpretadas e consideradas como ativa ou inativa, conforme os seguintes critérios: 50-500 µg/mL= forte/ótima atividade; 600-1500 µg/mL= moderada atividade; > acima de 1500 µg/mL= fraca atividade ou produto inativo (ALIGIANNIS et al., 2001; SARTORATTO et al., 2004).

Resultados e discussão

Triagem Fitoquímica

Estudos fitoquímicos de triagem realizados nesta pesquisa, com *Rosmarinus officinalis* L., *Cissus sicyoides*, *Jatropha gossypifolia* L., utilizando os seus extratos etanólicos brutos (EEB), foram feitas por meio de técnicas clássicas, reações analítico-qualitativas para detectar a presença de certos grupos de fitoconstituintes (Tabela 1).

Tabela1. Prospecção fitoquímica do EEB das espécies no horto de plantas medicinais da FACENE

Reações	Espécies vegetais		
	Alecrim	Insulina Vegetal	Pinhão-roxo
Flavonoides/ AlCl_3	+	+	+
Alcaloide/ Mayer Dragendorff e Buchard	-	-	-
Terpenos/ H_2SO_4	+	+	+
Taninos/ FeCl_3	+	-	-
Saponinas	-	+	+

O estudo foi direcionado para a busca dos principais grupos de metabólitos secundários (alcaloides, flavonoides, taninos, triterpenos e saponinas). Os testes mostraram-se positivos para terpenoides em todas as plantas, e em contrapartida negativo para a classe dos alcaloides, para as demais classes verificadas, na presente pesquisa, houve variações quanto aos resultados da triagem, como podemos observar na tabela abaixo.

Espectros de RMN^1H das três espécies vegetais *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim)

Ao se avaliar o perfil do espectro de RMN^1H e suas expansões (Figura 1 e 2), pode ser elencado um envelope de sinais de alta multiplicidade compreendidos na região entre δ_{H} 1,0 e 2,8 ppm, característicos de deslocamentos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos de substâncias da classe dos terpenos ou esteroides.

Podemos destacar ainda nesses espectros vários multipletos na região entre δ_{H} 3,0 e 4,09 ppm que é típica de hidrogênios oximetínicos ligados a carbonos oxigenados, sugerindo a presença de unidade de açúcar, compostos glicosilados, na espécie, como por exemplo, heterosídeos de flavonoides. Sinais estes que foram fortalecidos pela presença de deslocamentos entre δ_{H} 6,2 e 8,33 ppm condizentes com hidrogênios ligados a anéis aromáticos evidenciados em compostos flavonoídicos ou ácidos fenólicos.

Esta espécie apresenta uma química amplamente estudada em que são encontradas mais de 45 substâncias fenólicas, das quais os flavonoides e ácidos fenólicos são os componentes principais (GUILARUCCI, et al., 2016). Antocianinas e terpenos como 1, 8 -cineol (BARRETO et al., 2014). Estes metabólitos são responsáveis pela defesa do vegetal contra microrganismos patogênicos, atuam na sinalização

química, são substâncias atrativas para agentes polinizadores, protegem os vegetais contra radiação ultravioleta, além de diversas outras funções (TELES *et al.*, 2016).

Trabalhos realizados por Barreto *et al.* (2014), Begum *et al.* (2012) e Marchiori (2004) obtiveram resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, onde a constituição fitoquímica das folhas e flores de *Rosmarinus officinalis* demonstraram principalmente a presença de terpenos, majoritariamente diterpenos e óleos essenciais, como também compostos fenólicos e

diversos flavonoides responsáveis pela atividade antioxidante relatada.

Dados que ressaltam, diante da constituição química demonstrada, que a planta oriunda do horto das faculdades nova esperança pode ser distribuída e utilizada pela população, uma vez que, apresenta as principais faixas de metabólitos que são diretamente responsáveis pelas suas atividades biológicas.

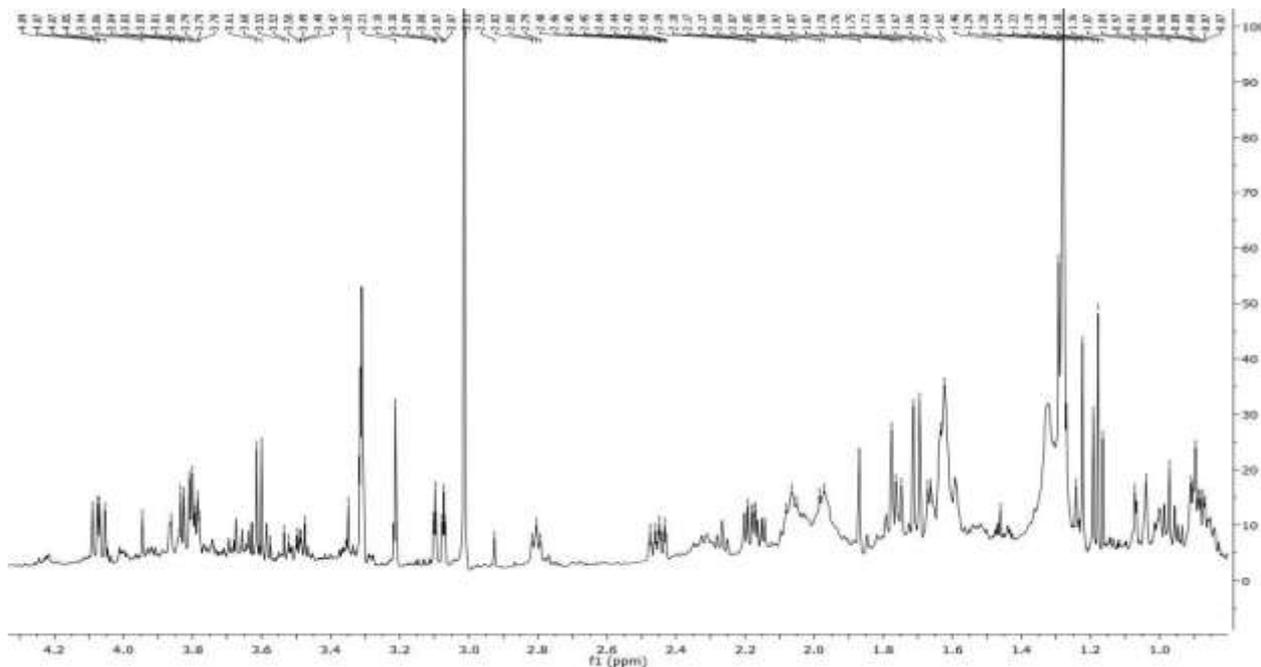


Figura 1. Expansão 1 do Espectro de RMN de ^1H na região de (δ , CD_3OD , 400 MHz) – Rosmarinus

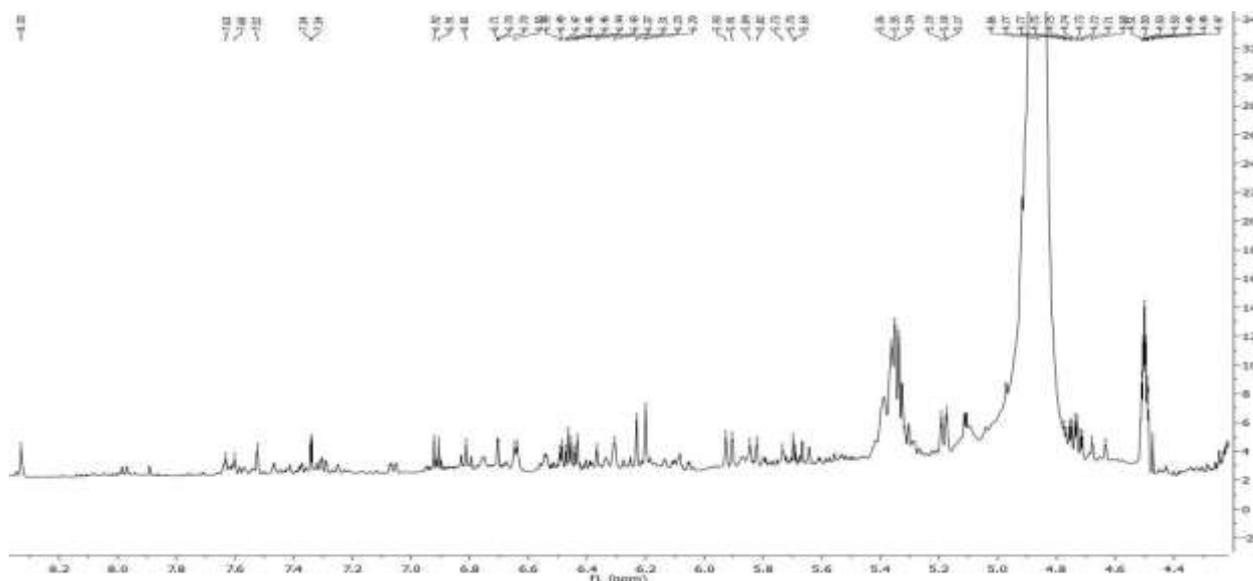


Figura 2. Expansão 2 do Espectro de RMN de ^1H na região de (δ , CD_3OD , 400 MHz) – Rosmarinus officinalis L. (Alecrim)

Cissus sicyoides (Insulina vegetal)

O espectro de RMN ¹H (Figuras 3,4 e 5) foi realizado em 400 MHz, tendo como solvente a CD₃OD. A sua análise apresentou um conjunto de sinais na região entre δ_H 0,88 e 1,70, característicos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos, sugestivo de substâncias que comportam um esqueleto triterpênico e/ou esteroidal (FERREIRA et al., 2019).

Pôde-se evidenciar multipletos em aproximadamente δ_H: 3,35 e 4,13 característicos de hidrogênios oximetínicos ligados a carbonos oxigenados.

O espectro de RMN ¹H e expansões (Figuras 3,4 e 5) ainda exibiram um conjunto de

deslocamentos usualmente encontrados em anéis aromáticos δ_H: 6,05 e 8,00 ppm, a presença desses sinais são comuns em flavonoides, nos constituintes químicos da insulina vegetal, foram encontradas as presenças de flavonoides, tanto em infuso quanto no extrato etanólico (BARBOSA et al., 2002).

Como também podemos supor pelos sinais entre 7,41-8,06 ppm a presença de alcaloides, devido essa região ser bem característica de próton ligado diretamente ao nitrogênio inferindo possivelmente presença assim dessa classe, uma vez que alguns tipos de alcaloides já foram identificados na espécie como mostrado em trabalhos anteriores (COUTINHO, 2015).

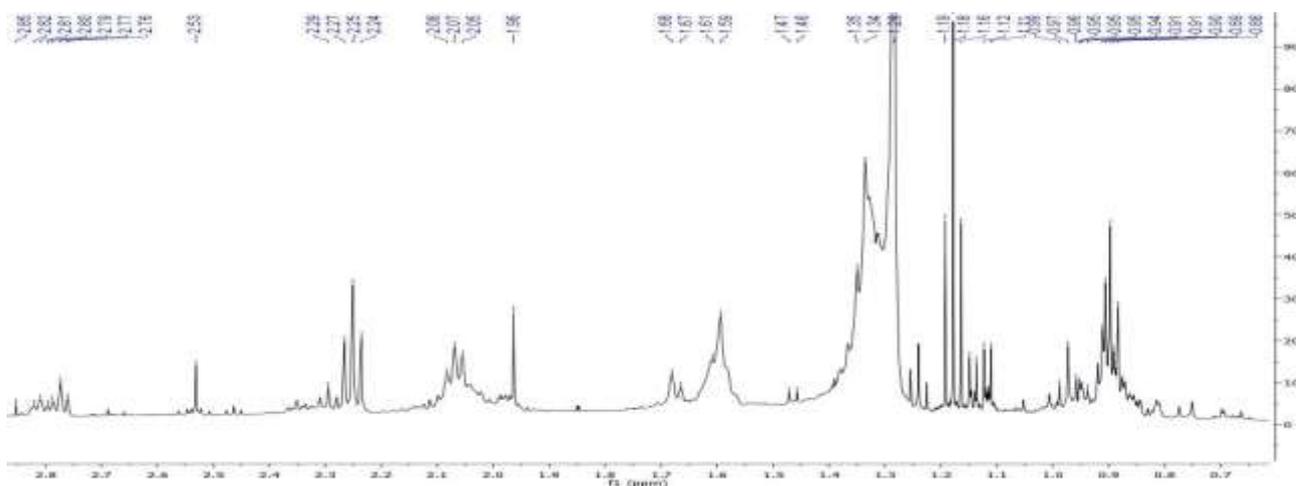


Figura 3. Expansão 1 do Espectro de RMN de ¹H na região de (δ, CD₃OD, 400 MHz) – *Cissus sicyoides* (Insulina vegetal)

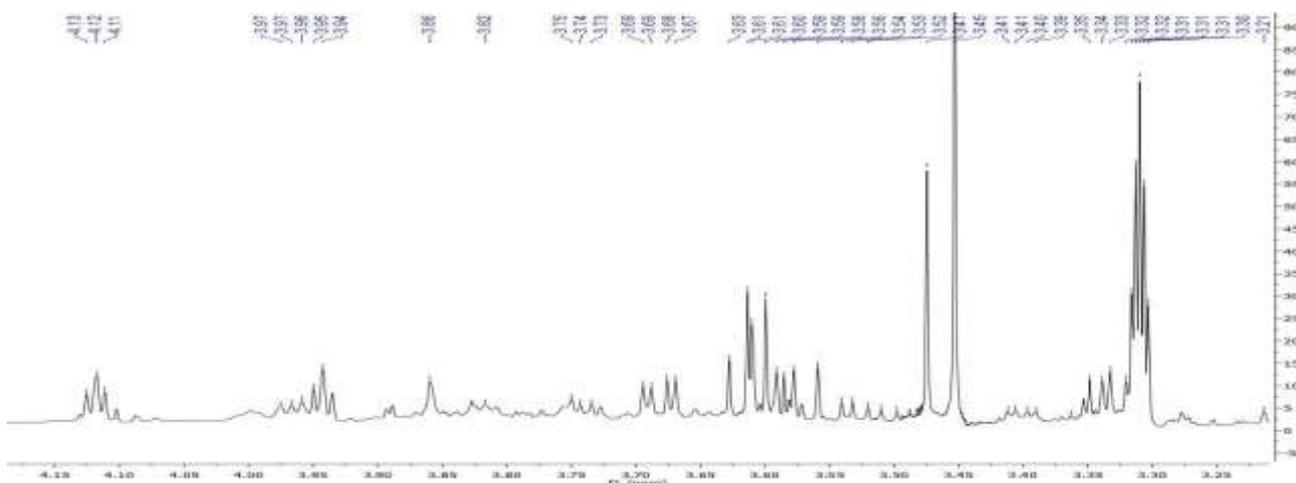


Figura 4. Expansão 2 do Espectro de RMN de ¹H na região de (δ, CD₃OD, 400 MHz) – *Cissus sicyoides* (Insulina vegetal)

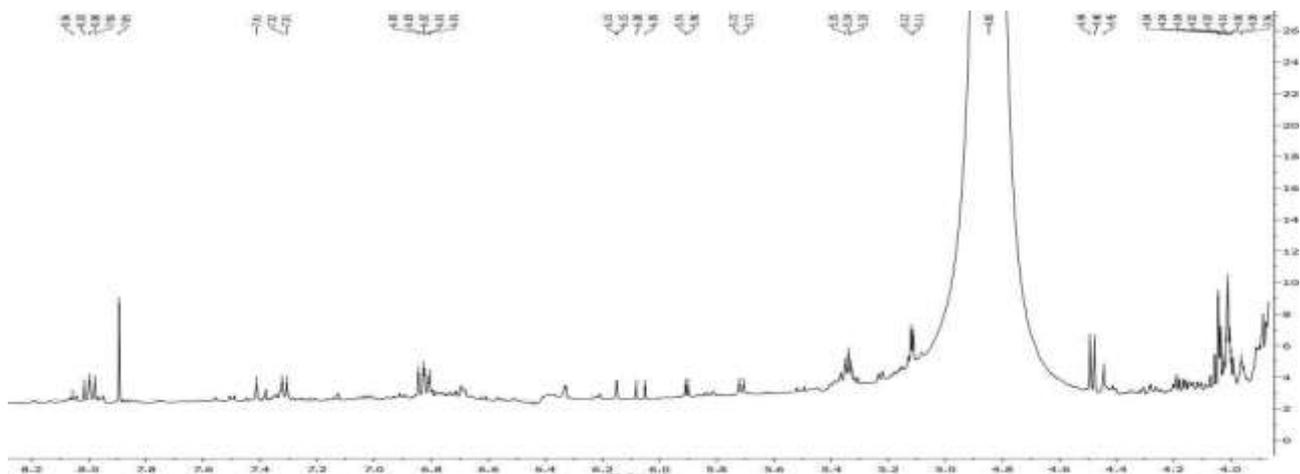


Figura 5. Expansão 3 do Espectro de RMN de ^1H na região de (δ , CD_3OD , 400 MHz) – *Cissus sicyoides* (Insulina vegetal)

Jatropha gossypifolia L. (Pinhão-roxo)

No espectro de RMN de ^1H e suas expansões (Figuras 6, 7 e 8) foi evidenciado um conjunto de absorções de alta multiplicidade compreendidos entre 0,71 a 2,2 ppm, característicos de deslocamentos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos de metabólitos secundários como terpenos ou esteroides.

Os sinais elencados na expansão 02 entre δ_{H} 3,52-4,11 ppm são indícios da presença de hidrogênios anoméricos de açúcares.

Segundo Guterres (2015) para identificação de uma saponina é essencial determinar a estrutura da aglicona com esqueleto de (esteroide, triterpeno ou alcaloide esteroidal) no qual faz ligação com uma ou duas cadeias de açúcar que podem ter característica lineares ou ramificadas, identificar monossacarídeos na parte carboidratos, com a configuração anomérica de cada monossacarídeo e como estão ligadas.

Podemos observar na expansão 3 (pág. 56) sinais em δ_{H} 6,87 e um singlete em δ_{H} 7,89 ppm região ser bem característica de próton ligado diretamente ao nitrogênio inferindo possivelmente a presença de alcaloides ou de hidrogênios aromáticos.

Os nossos dados mostram regiões condizentes com a literatura, trabalhos realizados com *J. gossypifolia*, definiram o perfil fitoquímico do seu extrato etanólico e esse evidenciou a presença de monoterpenos, diterpenos, triterpenos, sesquiterpenos, esteroides e flavonoides; enquanto no perfil do extrato aquoso, foi observada a presença de flavonoides e saponinas (MARIZ *et al.*, 2008; GAIKWAD *et al.*, 2017)

Alguns usos populares podem ser, em parte, compreendidos pela constituição química, um dos aspectos mais bem estudados desta espécie. Fitoquímicos de diversos grupos já foram identificadas como, por exemplo: ácidos orgânicos, alcalóides, diterpenos, esteróides, flavonoides, lignanas e taninos, entre diversos outros constituintes a partir dos extratos de folhas, caule, raiz (SABANDAR *et al.*, 2013; JAIN *et al.*, 2016).

Tais compostos conferem à *J. gossypifolia* diversas atividades biológicas úteis na terapêutica, algumas destas já demonstradas experimentalmente: antidiarreico, antimalárico, antimicrobiano e antiviral (KUMAR *et al.*, 2006; DHALE; BHAGAT, 2013; GAIKWAD *et al.*, 2017).

Potencial Antimicrobiano

Na literatura constam vários métodos utilizados em testagem da atividade antimicrobiana, dentre eles estão as avaliações qualitativas (triagens) e/ou quantitativas, com determinação da menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano (concentração inibitória mínima – CIM) (AMPARO, 2018).

Existem diversas técnicas utilizadas para fazer a avaliação da sensibilidade de um microrganismo frente a uma substância. Duas metodologias são frequentemente utilizadas: a microdiluição (em meio tubos de ensaio) e a microdiluição (em meio microplacas com 96 poços). Ambas as técnicas também podem ser utilizadas para avaliar a atividade de novas drogas frente aos microrganismos (PEREIRA, 2017; CAMPOS, 2020).

A partir da técnica de microdiluição em caldo, nos foi possível analisar a Concentração Inibitória Mínima e a Concentração Fungicida Mínima (CIM e CFM), dos extratos do alecrim, insulina vegetal e pinhão roxo frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*. Foi preparado emulsões dos extratos de *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim) *Cissus sicyoides* (Insulina vegetal), *Jatropha gossypifolia* L. (Pinhão-roxo) na concentração de 2048 $\mu\text{g/mL}$.

Avaliação da atividade antifúngica da *Rosmarinus officinalis* L., *Cissus sicyoides*, *Jatropha gossypifolia* L.

Os resultados do ensaio de avaliação da atividade antifúngica, estão expressos na tabela 2. Nenhuma das três linhagens testadas, sendo elas de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*, foi sensível aos extratos, não se observando inibição

do crescimento fúngico. Dessa forma não foi possível realizar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima para as cepas testadas.

Em contrapartida aos nossos dados, diversos estudos demonstram atividade antifúngica dos extratos e de alguns compostos isolados das espécies. Conforme a pesquisa de Gauch, 2014, o estudo do óleo essencial mostrou que Cepas de *Candida*, dentre estas a *C. albicans*, foram suscetíveis a *R. officinalis* L. (alecrim). Dessa forma o óleo de alecrim tem um importante papel como antimicrobiano e antifúngico, devido a sua composição química, frente a *C. albicans*. A alíquota aplicada foi capaz de provocar

inibição total da levedura caracterizando assim, um efeito fungistático (MATOS, 2019).

Outra análise, verificou que os extratos glicólicos de *R. officinalis* L. apresentaram efeitos fungistáticos e fungicidas sobre as cepas clínicas de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* isoladas da cavidade bucal de pacientes que fizeram uso prolongado de antibióticos. Dentre as leveduras testadas, *C. tropicalis* foi a mais sensível aos extratos utilizados. As cepas de *C. albicans* foram mais susceptíveis ao extrato de *R. officinalis* L., enquanto para *C. glabrata* não houve diferença entre os extratos testados (COSTA, et al., 2013).

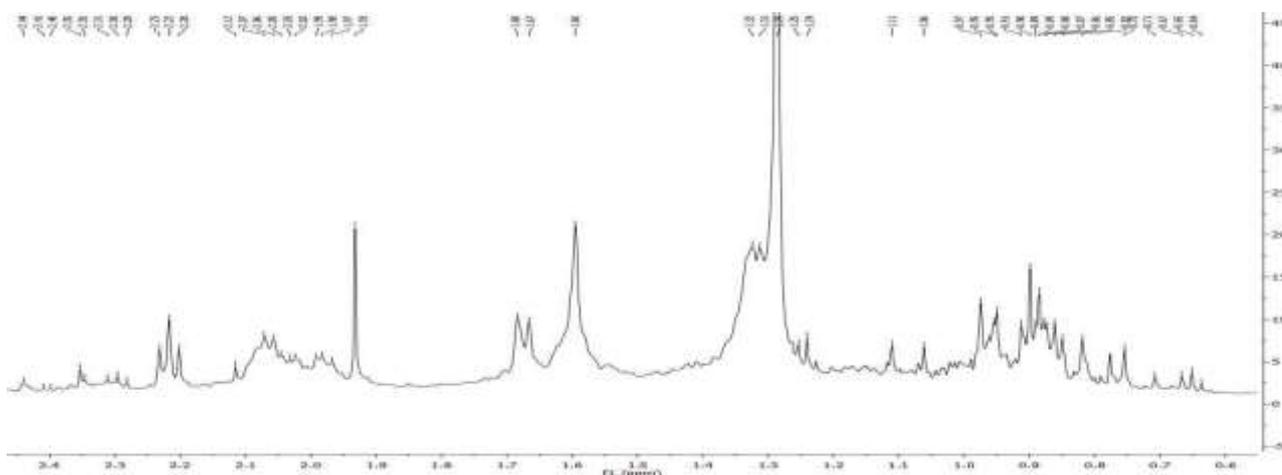


Figura 6. Expansão 1 do Espectro de RMN de 1H na região de (δ , CD3OD, 400 MHz) – *Jatropha gossypifolia* L. (Pinhão-roxo)

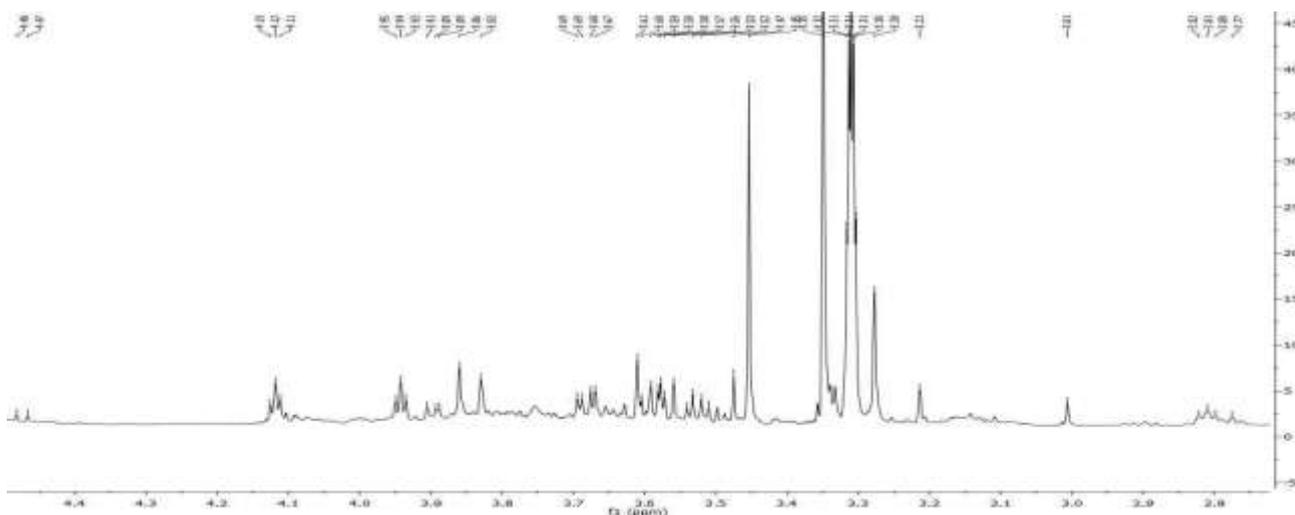


Figura 7. Expansão 2 do Espectro de RMN de 1H na região de (δ , CD3OD, 400 MHz) – *Jatropha gossypifolia* L. (Pinhão-roxo)

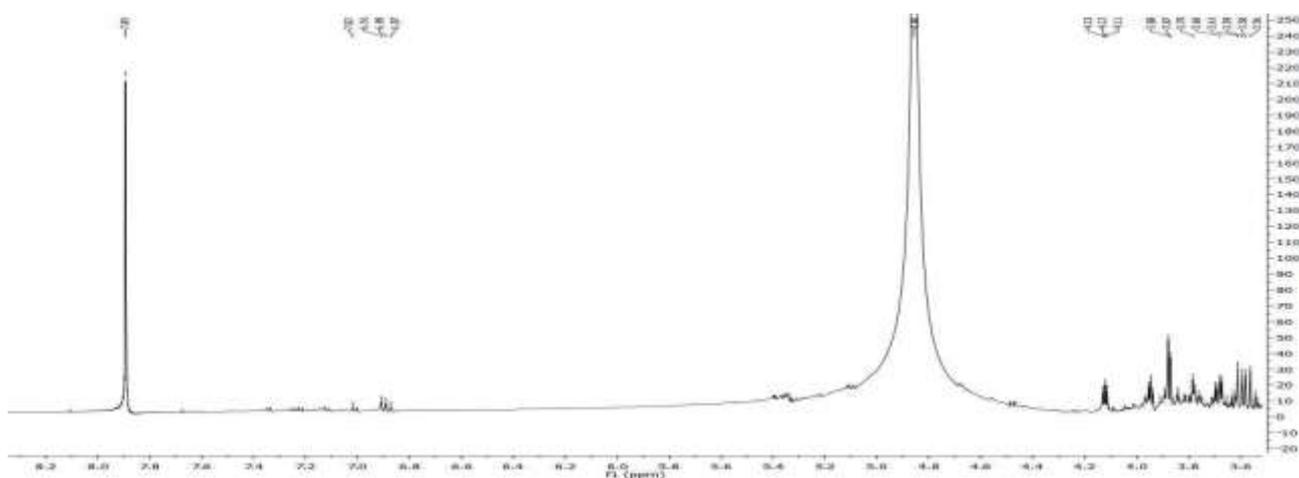


Figura 8. Expansão 3 do Espectro de RMN de 1H na região de δ , CD₃OD, 400 MHz) – *Jatropha gossypifolia* L. (Pinhão-roxo).

Estudos demonstram que o óleo essencial de *R. officinalis* tem um importante papel como antimicrobiano e antifúngico, além de potente efeito inibitória e fungicida contra cepas de *C. albicans* (MATOS, 2019; WINCKIEVICZ, 2020).

Com relação ao *Jatropha gossypifolia* L., um estudo desenvolvido por Hirota (2010) avaliou a atividade antimicrobiana de frações em acetato de etila e metanol de *J. gossypifolia* evidenciando que houve inibição do crescimento de *S. aureus* e *C. albicans* nestas frações (SILVA, et al., 2017).

Jatropha gossypifolia faz parte da RENISUS (Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao Sistema Único de Saúde) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Esta planta é comumente utilizada como anti-inflamatória, antioxidante, purgante, analgésica, antimicrobiano e anticoagulante (VALERIA, et al., 2016). Estudos comprovam sua atividade antimicrobiana, por inibir o crescimento de *C. albicans*, como também apresenta um grande potencial antioxidante (BEZERRA, 2014; SARAIVA, et al., 2018).

A *Cissus verticillata* (L.), é também popularmente conhecida como insulina vegetal, apesar do mesmo nome popular e da mesma família que a *Cissus sicyoides*, são tipos diferentes de insulina, sendo utilizada na medicina popular contra o reumatismo, para a cura de abscessos, na inflamação muscular, epilepsias, derrame cerebral, hipertensão e ativadora da circulação sanguínea (VASCONCELOS et al., 2007). Em estudos relacionados à sua atividade antifúngica, as folhas de *C. verticillata* demonstraram potencial contra espécies do gênero *Candida*, sendo *C. albicans* e *C. tropicalis* (BRAGA et al., 2011; ROCHA, 2017).

Dessa forma, a *Cissus sicyoides*, apesar de ser muito utilizada pela população de forma empírica para prevenir e/ou melhorar sintomas diversas doenças, há poucos estudos que comprovam os benefícios reais da insulina vegetal. Estudos realizados com algumas espécies de *Cissus* têm revelado várias atividades farmacológicas, dentre as quais se destacam as

atividades antioxidante e antimicrobiana (MURTHY et al., 2003; LEAL, 2013).

Contrariando algumas literaturas, nenhum dos extratos testados neste estudo obteve atividade antifúngica. Esse fato pode ser justificado por vários fatores, podemos citar a baixa quantidade ou ausência de metabólitos secundários existentes na planta durante a época da colheita e a forma de extração do extrato; o tipo de metodologia utilizada para realizar o estudo; o uso de diferentes solventes para obtenção dos extratos também podem ser um fator contribuinte (CAMPOS, 2020).

Existem evidências científicas que sugerem que, quando a planta é cultivada em diferentes localizações geográficas e exposta a diversas condições climáticas, mostram uma variação de constituintes químicos (PANDEY; THAPA; UPRETI, 2017; CAMPOS, 2020).

Avaliação da atividade antibacteriana da Rosmarinus officinalis L., Cissus sicyoides, Jatropha gossypifolia L.

Os resultados do ensaio de avaliação da atividade antibacteriana, por meio da CIM está exposto na tabela 3. Como podemos observar, não foi possível observar nenhuma inibição do crescimento bacteriano para as linhagens de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* utilizadas, mesmo na concentração de 2.048 µg/mL que foi estabelecida para o estudo.

Diante disso não foi possível realizar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), para as cepas bacterianas.

Segundo o estudo realizado por Cutrim (2019), o extrato metanólico bruto de *Rosmarinus officinalis* L., apresentou atividade antimicrobiana significativa frente às cepas testadas *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), confirmando seu excelente potencial bactericida, diferentemente dos dados desse trabalho.

A pesquisa realizada por De Castro Guimarães (2017), mostra dados, que permitem concluir que os óleos essenciais do alecrim

(*Rosmarinus officinalis*) apresentam atividade inibitória *in vitro* sobre as cepas de *S. aureus* e *E. coli*.

Outro trabalho evidenciou que o extrato hidroalcoólico obtido a partir de folhas de *Rosmarinus officinalis* L. e suas frações proporcionaram efeito inibitório e, em alguns casos, efeito bactericida para cepas estudadas, entre elas a de *Pseudomonas aeruginosa* (OLIVEIRA, 2016).

O óleo essencial da planta, também foi utilizado, por Djelloul, Mokrani e Hacini (2017), para evidenciar a atividade antibacteriana frente a três linhagens patogênicas, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*. Os resultados obtidos mostraram atividade antibacteriana dos óleos essenciais em todas as cepas testadas. *E. coli* e *P. aeruginosa* foram os mais sensíveis, enquanto *S. aureus* foi o mais resistente (CONTRUCCI, et al., 2019).

Segundo Silva et al. (2015), o óleo essencial do alecrim não apresentou atividade antimicrobiana para *S. aureus* e *E. coli*, em seu estudo. Assim como a avaliação de Seydim & Sarikus (2006), que estudaram a atividade antimicrobiana do OE de alecrim frente aos patógenos: *S. aureus*, *E. coli*, este estudo indicou que o OE não obteve nenhuma atividade antimicrobiana sobre estes microrganismos (REIS, et al., 2020).

Com relação ao *Jatropha gossypifolia* L., um estudo conduzido por Félix (2014), confirmou a atividade antibacteriana dos extratos de folhas extraídas em clorofórmio e metanol contra a *Salmonella typhi*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *Candida albicans*.

Silva et al. (2017) mostra um resultado diferente, no qual ao fracionar os extratos das folhas e caules, não foi encontrada atividade antibacteriana, utilizando metodologia semelhante a que foi realizada na obtenção do EEB da espécie testada nessa pesquisa.

Segundo Veiga (2008), avaliação microbiológica da fração clorofórmica de *J. gossypifolia* L. demonstrou a eficácia frente a *S. aureus* e *C. albicans*, e apresentou resistência frente os microrganismos *P. aeruginosa*, *E. coli*. (SILVA, et al., 2017). Há também relatos em que o extrato da folha de *J. gossypifolia* mostrou atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, usando os métodos de difusão em disco e microdiluição em caldo, sendo este efeito dependente das características dos microrganismos e da composição dos extratos (SANTOS, 2014).

Com base no estudo de Machado-Hernández (2019), o extrato hidroalcoólico da *Jatropha gossypifolia* L., foi testado pelo método de difusão em poços. No entanto, o extrato não apresentou atividade contra as bactérias, entre elas a *Staphylococcus aureus*.

No que diz respeito à *Cissus sicyoides*, pesquisam comprovam várias propriedades farmacológicas da espécie, inclusive que, dois compostos isolados das partes aéreas da planta (β -

sitosterol e sitosterol- β -D-glucopiranosídeo) apresentam atividade antibacteriana (SILVA, et al., 2012; DIAS, et al., 2017).

Lopes et al. (2006) avaliou a atividade antimicrobiana do extrato seco de insulina (*Cissus sicyoides*) e do óleo de copaíba (*Copaífera langsdorfii*) em diversas cepas microbianas – *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*. Verificou assim, que o extrato de insulina não foi eficaz na avaliação antimicrobiana com nenhuma das cepas (FERNANDES, et al., 2011). Existem poucos estudos relacionados à atividade antibacteriana da insulina vegetal, ampliando espaço para pesquisas baseadas nesta área com essa planta.

Assim como a atividade antifúngica, os resultados do presente trabalho podem estar relacionados às variações qualitativas e quantitativas nos metabólitos secundários presentes nos produtos de extração. O método de difusão em ágar pode sofrer influência de algumas variações como: composição do meio de cultura, presença de enzimas, densidade do inóculo, difusibilidade do extrato no meio de cultura (COSTA, 2018).

Além disso, a literatura mostra que as composições químicas das PM podem ser influenciadas por variações em função de fatores como a sazonalidade, idade da planta, propriedades genéticas, disponibilidade de água, temperatura do ambiente onde a planta teve seu desenvolvimento, radiação UV e altitude. A consequência da influência desses fatores afeta diretamente a atividade antimicrobiana da planta medicinal (MILLEZI et al., 2014; CAMPOS, 2020).

Conclusão

O estudo fitoquímico do extrato etanólico bruto das partes aéreas das três espécies vegetais *Rosmarinus officinalis* L., *Jatropha gossypifolia* L. e *Cissus sicyoides*, realizado através de reações qualitativas de identificação de classes de metabólitos secundários aliado a técnicas espectroscópicas de RMN¹H e comparações com os dados da literatura, permitiram constatar o predomínio de classes como: flavonoides, e terpenos nas espécies, as identificações dessas classes de compostos permitiram assim o direcionamento de um perfil fitoquímico destas. Bem como a presença dessas substâncias entre outras estão relacionadas com as ações farmacológicas desencadeadas, sendo assim nossos dados corroboram com a literatura específica para cada planta ao comprovar a presença desses compostos medicinalmente importantes nas espécies avaliadas, o que representa um ganho para comunidade que vai utilizá-las para fins terapêuticos.

Com relação a atividade antimicrobiana, evidenciou-se que as plantas *Rosmarinus officinalis* L., *Jatropha gossypifolia* L., *Cissus sicyoides*, não apresentaram atividade contra as cepas antifúngicas (*C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*) e antibacterianas (*S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*) testadas, sugerimos que os fatores sazonais (clima, temperatura, época de colheita) e metodológicos, podem ser os aspectos que influenciam na síntese de metabólitos secundários relacionados principalmente a atividade antimicrobiana.

Portanto, são necessários estudos mais abrangentes sobre os compostos fitoquímicos que estão presentes nestas espécies, bem como novos estudos *in vitro* e *in vivo* para evidenciar os mecanismos detalhados pelos quais os metabólitos secundários podem modificar a atividade antibiótica.

Sendo assim, os resultados apresentados nessa pesquisa nos fazem vislumbrar estudos futuros mais aprofundados com estas plantas e com as demais espécies do horto de plantas medicinais das faculdades Nova Esperança em prol da melhoria da qualidade de vida da comunidade.

Referências

ALIGIANNIS, Nektarios *et al.* Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.

ALMEIDA, M. R.; MARTINEZ, S. T.; PINTO, A. C. Química de Produtos Naturais: Plantas que testemunham histórias. *Revista Virtual de Química*, v. 9, n. 3, p. 1117-1153, 2017.

AMPARO, Tatiane Roquete *et al.* Métodos para avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de plantas medicinais: a necessidade da padronização. *Infarma*, v. 30, n. 1, p. 50-9, 2018.

BARBOSA, Wagner LR *et al.* Flavonóides de *Cissus verticillata* e a atividade hipoglicemiante do chá de suas folhas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 12, p. 13-15, 2002.

BARRETO, Humberto M. *et al.* Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, v. 59, p. 290-294, 2014.

BEGUM, Asia *et al.* An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, v. 12, n. 1, 2013.

BEZERRA, W. K. T.; SILVA, M. G.; BEZERRA, A. M. F.; BEZERRA, K. K. S.; VIEIRA, A. L.; PEREIRA, D. S.; BORGES, M. G. B.. O uso de fitoterapia com ação anti-inflamatória que atuam no sistema gênitourinário. *Informativo Técnico do Semiárido (INTESA)*, v. 8, n. 1, p. 24-36, 2014.

BRAGA, T. V.; PINTO, J. T.; BARROS, M. E. S.; OLIVEIRA, T. T.; DORES, R. G. R.; NAGEM, T. J. Atividade antifúngica das folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & CE Jarvis subsp. *verticillata* frente a *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 43, n. 3, p. 222-5, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS – PNPIC– Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

CLEELAND, R.; SQUIERES, E. Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and *in experimental animal infections*. *Antibiotic in laboratory medicine*, v. 3, p. 739-787, 1991.

CONTRUCCI, Bruno Antunes *et al.* Efeito de óleos essenciais sobre bactérias gram-negativas isoladas de alimentos. *Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde*, v. 23, n. 3, p. 180-184, 2019.

COSTA, Anna Carolina Borges Pereira da *et al.* Atividade antifúngica dos extratos glicólicos de *Rosmarinus officinalis* Linn. e *Syzygium cumini* Linn. sobre cepas clínicas de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*. *Revista de Odontologia da UNESP*, v. 38, n. 2, p. 111-116, 2013.

COSTA, Jéssica Caroline Freitas da *et al.* Perfil fitoquímico e avaliação da atividade antimicrobiana de extratos aquoso e etanólico de folhas de *Cecropia pachystachya*. 2018.

COUTINHO, M. de S. Potencial Antidiabético da Insulina Vegetal (*Cissus sicyoides* L.). 2015. 61^{af}. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Enfermagem) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande (PB), 2015.

CUTRIM, E. S. M. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim). *Revista Virtual de Química*, v. 11, n. 1, p. 60-81, 2019.

DE CASTRO GUIMARÃES, Caroline *et al.* Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 15, n. 2, 2017.

DHALE, D. A.; BIRARI, R. Preliminary screening of antimicrobial and phytochemical studies of *Jatropha gossypifolia* L. *Rec Res Sci Tech*, v. 2, p. 24-28, 2010.

- DIAS, Gabriela Tafaela *et al.* Toxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides*. *Acta Brasiliensis*, v. 1, n. 1, p. 8-12, 2017.
- DJELLOUL, R.; MOKRANI, K.; HACINI, N. Study of the antibacterial activity of the extract from the essential oil of eucalyptus globulus and Rosmarinus officinalis on Three Bacterial Strains. *Int. J. Appl. Environ. Sci.*, v.12, n.1, p.47-56, 2017.
- FÉLIX-SILVA, J.; *et al.* *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae): a review of traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of this medical plant. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2014, 2014.
- FERNANDES, Adriana Ponciano *et al.* Efeito do extrato hidroalcoólico de *Pyrostegia venusta* na mutagênese “in vivo”, e avaliação antimicrobiana, e interferência no crescimento e diferenciação celular “in vitro”. *Revista Medica de Minas Gerais*, v. 21, p. 264-274, 2011.
- FERREIRA, Maria Denise Leite *et al.* Estudo fitoquímico aliado a uma análise quimiométrica e ensaios de atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* L. da espécie *Waltheria viscosissima* A. St.-Hil. 2020.
- GAIKWAD, R. S. *et al.* In vitro antimicrobial activity of crude extracts of *Jatropha* species. *Curr Bot*, v. 3, p. 09-15, 2017.
- GAUCH, Lurdete Maria Rocha *et al.* Antifungal activity of *Rosmarinus officinalis* Linn. essential oil against *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida parapsilosis* and *Candida krusei*. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 5, n. 1, p. 6-6, 2014.
- GUTERRES, S. B. Estudos dos extratos dos frutos de *Sapindus saponaria* enriquecidos em saponinas e outros glicosídeos e sua aplicação em eletroforese capilar. *Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de São Paulo, São Carlos*, 2005.
- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHERECKENBERGER, P. C.; WINN Jr, W. C. *Diagnóstico microbiológico*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara. Koogan, 2008.
- KUMAR, V. P. *et al.* Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*, v. 107, p. 182-188, 2006.
- LEAL, Adriana da Silveira. AVALIAÇÃO DE INFUSOS DE FOLHAS DE INSULINA VEGETAL (*CISSUS SICYOIDES* L.) DESIDRATADA EM RATOS Wistar Sádios e com Diabetes Mellitus Induzida. 2013. *Dissertação de Mestrado (Nutrição) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, [S. l.]*, 2013.
- Lopes KC, Pereira MA, Nascimento LC, Fiorini JE. Avaliação da atividade antimicrobiana e ação de *Cissus sicyoides* e *Copaífera langsdorffii* na diferenciação celular de sistemas eucarióticos unicelulares. In: *Seminário de Iniciação Científica*. Alfenas: Unifenas; 2006.
- MACHADO HERNÁNDEZ, Laura. Potencial antimicrobiano de los extractos de las hojas de *Jatropha gossypifolia* L. 2019. *Tese de Doutorado*. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Facultad de Química y Farmacia. Departamento de Licenciatura en Ciencias Farmacéuticas.
- MALHADO, Mayara *et al.* Preclinical pharmacokinetic evaluation of praziquantel loaded in poly (methyl methacrylate) nanoparticle using a HPLC–MS/MS. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 117, p. 405-412, 2016.
- MARIZ, S. R. *et al.* Avaliação histopatológica em ratos após tratamento agudo com o extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L. *Rev Bras Farmacogn*, v. 18, p. 213-216, 2008.
- MATOS, Janara Camargo; CRUZ, Nina Rosa Santos. Avaliação comparativa da atividade antimicrobiana de óleo de alecrim (*rosmarinus officinalis*) e conservantes químicos utilizados em bases cosméticas. *Revista Processando o Saber*, v. 11, p. 01-20, 2019.
- MILLEZI, A. F. *et al.* Caracterização química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 16, n. 1, p. 18-24, 2014.
- MURTHY, K.N.C.; VANITHA, A.; SWAMY, M.M.; RAVISHANKAR, G.A. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cissus quadrangularis* L. *Journal of Medicinal Food*, v. 6, p. 99-105, 2003.
- NASCIMENTO-JUNIOR, C. S. *et al.* Análise qualitativa do perfil químico de plantas medicinais do horto das Faculdades Nova Esperança. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 9, p. 80-33, 2020.
- OLIVEIRA, Jonatas Rafael de. Avaliação de atividades biológicas dos extratos de *Rosmarinus officinalis* L.(alecrim) e *Thymus vulgaris* L.(tomilho). 2016.
- OSTROSKY, E.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CIM) de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.18, n.2, p. 301-307, 2008.

- PANDEY, B. P.; THAPA, R.; UPRETI, A. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Artemisia vulgaris* and *Gaultheria fragrantissima* collected from Nepal. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v. 10, n. 10, p. 952-959, 2017.
- REIS, Juliana Borges *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 3, n. 1, p. 342-363, 2020.
- ROCHA, Josilene Félix da. Indução de calos em explantes foliares de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & CE Jarvis. 2017.
- SANTOS, Miriam Pires dos. Extração e caracterização de extratos de *Jatropha gossypifolia* L.: avaliação da sua atividade antimicrobiana e antioxidante. 2014. Tese de Doutorado. Instituto Superior de Engenharia de Lisboa.
- SARAIVA, Antonio Marcos *et al.* Estudo etnobotânico e da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular em Cajazeiras–PB. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management*, v. 14, n. 2, 2018.
- SARTORATTO, Adilson *et al.* Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 35, p. 275-280, 2004.
- Seydim, A. C.; Sarikus, G. Antimicrobial activity of whey protein based edible ms incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International*, v. 39, p. 639–644, 2006
- Silva, M.I.; Melo, C.T.; Vasconcelos, L.F.; Carvalho, A.M.; Sousa, F.C. 2012. Bioactivity and potential therapeutic benefits of some medicinal plants from the Caatinga (semi-arid) vegetation of Northeast Brazil: a review of the literature. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(1): 193-207.
- Silva, A. A. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Thymus vulgaris* (tomilho), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e dos conservantes benzoato de sódio e sorbato de potássio em *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. *B.CEPPA, Curitiba*, v. 33, n. 1, p. 111-117, jan./jun. 2015.
- SILVA, Camila Macaúbas da. ESTUDO FITOQUÍMICO COM FINS FARMACOLÓGICOS DE *Pavonia glazioviana* GÜRKE (MALVACEAE). 2018.
- SILVA, Paulo Sérgio Gomes da *et al.* Avaliação antimicrobiana e cicatrizante de extratos da *Jatropha Gossypifolia* L.: estudo In vitro. 2017.
- SIMÕES, C.M.O. *et al.* (Orgs.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6.ed. revisada e ampliada. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2017. 1102p.
- TELES, Y. C. *et al.* New Sulphated Flavonoids from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae). *Molecules*, v. 20(11), p. 20161-20172, 2016.
- TRINDADE, Maria Margarida Silva. Mecanismo de defesa e resistência das plantas a agentes patogênicos. 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade de Évora.
- VALERIA, Alvarez Valencia *et al.* SELECCIÓN DE ACTINOMICETOS AISLADOS DE LAS RIBERAS DEL RÍO GUAVIARE (COLOMBIA) CON ACTIVIDAD BIOSURFACTANTE. November 22–25, 2016, Termas de Chillan–Chile, p. 80.
- VASCONCELOS, T. H. C.; MODESTO-FILHO, J.; DINIZ, M. F. F. M.; SANTOS, H. B.; AGUIAR, F. B. D.; MOREIRA, P. V. L. Estudo toxicológico pré-clínico agudo com o extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides* L.(Vitaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, p. 583-591, 2007.
- VEIGA, A. A. S. Isolamento e quantificação de flavonoides e abordagem das atividades antioxidantes e antimicrobiana da *Jatropha Gossypifolia* L. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará. Instituto de Ciências de Saúde, Belém, 2008. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, 2008.
- WINCKIEVICZ, Jessica Maciel. Avaliação da atividade antifúngica de *Rosmarinus officinalis* L. sobre *Candida albicans*. 2020.