



Utilização de extratos vegetais para análise do potencial antibacteriano.

Application of plants extracts to evaluate the antimicrobial potential.

Letícia Alves Fernandes¹, Derik Willian Comodo dos Santos¹, Aline Francisca de Souza¹

¹- Centro Universitário Teresa D'Ávila (UNIFATEA)

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia de extratos hidroalcoólicos brutos de *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca), *Illicium verum* Hook (anis estrelado) e *Hibiscus rosa-sinensis* (hibisco) frente à inibição de crescimento da *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* sp. Os extratos brutos foram obtidos através de imersão hidroalcoólica e a formação de halos de inibição foi testada a partir do método de difusão em Ágar. Os resultados demonstraram que cepa de *S. aureus* apresentou sensibilidade classificada como intermediária frente ao extrato de *H. rosa-sinensis* e *I. verum*, enquanto *E. coli* apresentou sensibilidade intermediária ao extrato de *H. rosa-sinensis* e sensibilidade resistente ao extrato de *I. verum*. Em contrapartida, a cepa de *Streptococcus* sp. foi considerada resistente a todos os extratos testados. Esses resultados evidenciaram que os extratos hidroalcoólicos de *H. rosa-sinensis* e *I. verum*, são promissores para aplicações biotecnológicas, podendo ser alvo de futuros testes antimicrobianos com outros micro-organismos e caracterização quanto aos compostos fitoquímicos de sua constituição.

triagem, reabilitação e destinação de animais silvestres no estado de São Paulo.

Palavras-chave: Método disco difusão; Extrato de *Hibiscus rosa-sinensis*; Extrato de *Illicium verum*.

ABSTRACT

The present work aims to evaluate the efficiency of crude hydroalcoholic extracts of *Bauhinia forficata*, *Illicium verum* Hook, and *Hibiscus rosa-sinensis* against the grown inhibition of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus* sp. The crude extracts were obtained through hydroalcoholic immersion, and the existence of inhibition halos was tested with the method of Agar diffusion. The obtained data demonstrate that strains of *S. aureus* showed sensibility classified as intermediate registered on *H. rosa-sinensis*, and presented, also, intermediate activity over *I. verum* Hook. On the other hand, *E. coli* strain presented intermediate sensibility over *H. rosa-sinensis* and resistance over *Illicium verum* extract, while *Streptococcus* sp. strain was considered resistant overall extracts tested. These results evidenced that the *H. rosa-sinensis* and *I. verum*



extracts seem promising for biotechnological applications and could be the target of futures antimicrobial tests with other microorganisms and, especially, about the characterization of phytochemicals compounds of their constitution.

Keywords: Disc diffusion method; *Hibiscus rosa-sinensis* extract; *Illicium verum*.

INTRODUÇÃO

Os potenciais antibacteriano e antifúngico de muitos extratos vegetais são estudados com muita frequência em todo o mundo. Em plantas, a atividade antimicrobiana é proporcionada pela produção de substâncias denominadas metabólitos secundários ou fitoquímicos, e podem ser classificados em substâncias fenólicas, polifenóis, terpenóides, óleos essenciais, alcalóides, lectinas, polipeptídeos e poliactilenos (BARBOSA et al., 2004). Os flavonoides, especificamente, são biomoléculas de grande interesse da pesquisa, pois tem-se conhecimento que são sintetizados pelas plantas justamente para protegê-las de agentes microbianos (GÓRNIK et al., 2019). As ações dos fitoquímicos sob os micro-organismos acontecem por mecanismos diversos como, por inibição de enzimas, bloqueio da síntese de enzimas e biofilmes, e até mesmo, rompimento de membrana plasmática (ARIF et al., 2011; ÀVILA et al., 2008; LEE et al., 2011; LI et al., 2012; FERNÁNDEZ-SALAS et al., 2011).

A utilização de vegetais como medicamento integra a fitoterapia, uma especialidade que ganhou muito espaço na medicina, pela grande preocupação com o uso irracional de medicamentos, principalmente os antibióticos, devido à seleção de bactérias resistentes ao longo dos anos (KARAS et

al., 2020; SCHIAVO et al., 2017). Estudos indicam que as plantas foram utilizadas como único método terapêutico por algumas etnias, o que foi fator fundamental para a descoberta de novos fármacos, uma vez que praticamente 75 % dos compostos isolados a partir de vegetais, ocorreram por indicações da própria medicina popular (FILHO & YUNES, 1998; SILVA et al., 2012; BRASIL-MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

No Brasil, como forma de preconizar o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos foi criado, em 2006, a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos; como complementação, em 2009, foi lançado o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos, descrevendo metas detalhadas que abordaram desde regulamentações e leis até meios de incentivo a propagação da agricultura familiar (BRASIL-MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009). Já em 2015, o Governo brasileiro lançou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS, com o intuito de dispersão de maiores conhecimentos, apoio, incorporação de novos tipos de terapias no Sistema Único de Saúde (BRASIL-MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). Ainda com o intuito de avançar dentro desse contexto, incentivos da Organização Mundial da Saúde (OMS) estimulou



universidades e centros de pesquisas do mundo a intensificar o desenvolvimento de diversos estudos em relação às plantas medicinais (GONÇALVES, 2007).

Entre as plantas com propriedades potencialmente antimicrobianas com destaque na literatura, pode-se citar a *Bauhinia forficata*, popularmente conhecida como pata-de-vaca (PEREIRA et al., 2014), o *Illicium verum* Hook, conhecida como anis estrelado (ANDRADE et al., 2013; BINATTI, 2016; SCHUMACK, 2017), e o gênero *Hibiscus* sp. (MACIEL, 2012; ROSA, 2013; SILVA, 2014).

O hibisco, do gênero *Hibiscus*, é pertencente à classe das dicotiledôneas e à família Malvaceae; existem inúmeras espécies de hibisco, mas com maior destaque tem-se *Hibiscus sabdariffa* L., *Hibiscus syriacus* e *Hibiscus rosa-sinensis*, todas possuem como habitat regiões tropicais e subtropicais (MARTINS, 2018). Quanto às suas características fitoquímicas, sabe-se que muitas diferenças de resultados acontecem devido diversidade ambiental, ecológica, genética e, até mesmo, de colheita desse vegetal (DA-COSTA-ROCHA et al., 2014). Entretanto, os cálices e sementes do hibisco tem uma alta concentração de antocianinas e compostos fenólicos e agem como antioxidantes de maneira mais eficaz que caules e folhas (ABREU et al., 2019). A presença dessas substâncias faz com que a planta seja constante alvo da indústria farmacêutica em busca de medicamentos contra hipertensão, inflamações diversas, câncer e envelhecimento. Além disso,

existem pesquisas sobre ação anti-convulsiva, imunomodulatória e, até mesmo, hepatoprotetora (ANJOS, 2017; JULIANI et al., 2009; PRENESTI, 2007; SANTOS et al., 2014; SAYAGO-AYERDI et al., 2007; SILVA et al., 2016). O extrato de flores e cálices de hibisco também possui propriedades antimicrobianas. Estudos demonstraram que o extrato de hibisco pode inibir o crescimento de bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli* a partir de extratos diversos como aquoso, alcoólico, butanólico e metanólico (MACIEL, 2012; ROSA, 2013; SILVA, 2014).

Bauhinia forficata, é uma planta nativa do cerrado brasileiro (FRANCO et al., 2020). Essa planta possui folhas que podem medir entre 7 a 12 cm de comprimento, divididas em 2 lobos, sendo essa a principal característica da espécie. Espécies do gênero *Bauhinia* podem ser utilizadas para arborização pública, todavia, ganham destaque por suas propriedades medicinais com atividades biológicas como ação antioxidante, hipoglicemiante, agente diurético, anticoagulante e antimicrobiana (CURCIO et al., 2012; KHALIL et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2005; PEROZA et al., 2013). Quanto às características fitoquímicas e farmacológicas da pata-de-vaca muito pouco se conhece, porém foram relatadas a utilização de suas folhas por índios brasileiros e nativos de diferentes países, devido à sua capacidade cicatrizante quando aplicada diretamente sobre os ferimentos, além de servir como analgésica, diurética e digestiva quando ingerida através do chá (ALONSO, 2000). Quanto à



atividade antimicrobiana e/ou bacteriostática diversos estudos são realizados, entretanto, não foram encontradas ação antifúngica em nenhum dos trabalhos avaliados (PEREIRA et al., 2014; SILVA & FILHO, 2012; FARIAS et al., 2018). Tem-se relatado na literatura a presença de flavonoides para ação hipoglicemiante e antioxidante (FRANCO et al., 2020).

O anis estrelado é o fruto de uma planta arbórea de origem chinesa cujo nome científico é *Illicium verum* Hook (DING et al., 2020). A planta pode chegar até 5 metros de altura com folhas largas e flores amarelas característica da espécie. O anis possui forma de estrela, de cor castanho e armazena sementes no interior de seus oito carpelos (ALMEIDA, 2015; NEGRAES, 2003). É considerada uma especiaria pelo seu aroma, sendo que essa característica se deve ao óleo essencial (OE) presente no fruto, equivalendo a cerca de 3% nos frutos secos e varia de 8 a 9% nos desidratados (WANG et al. 2007). A presença dos óleos faz com que os frutos sejam de grande interesse para a indústria farmacêutica (GARLET, 2017). De acordo com Grossman (2005), o óleo essencial fornece ao vegetal propriedades carminativas, antiespasmódicas, expectorantes e bactericidas. Além disso, pesquisas na literatura revelam forte ação antioxidante testando extratos frente a diferentes metodologias (ROOPA et al., 2007). Alguns trabalhos demonstraram atividade antibacteriana, antifúngica e bacteriostática de anis estrelado utilizando, principalmente, extratos

aquosos (ALMEIDA, 2015; BINATTI, 2016; SCHUMACK, 2017).

É sabido que o uso excessivo e a poluição ambiental causada pelos antibióticos favorecem a seleção de bactérias resistentes (JORGENSEN et al., 2017). A situação é tão alarmante que dados apontam que se novos antimicrobianos não entrarem no mercado até 2050, haverá mais mortes causadas por bactérias multirresistentes do que por câncer no mundo (KRAKER et al., 2016). Desde a introdução da penicilina no mundo, a seleção de bactérias resistentes contra um ou todos os antibióticos têm sido relatadas (LÓPES-JÁCOME et al., 2019).

Ainda de acordo com López-Jácome et al. (2019), muitos compostos estão sendo estudados para produção de novos antibióticos, mas somente uma molécula – oxadiazol - e seu derivado apresentaram resultados levemente melhores do que medicamentos já atuantes no mercado. Por esta razão, há muitos anos diversos estudos investigam plantas medicinais a fim de descobrir um novo composto com eficácia antimicrobiana (WILLIAMSON, 2001).

É importante ressaltar, também, que a Organização Mundial da Saúde-OMS (OPAS, 2018) apontou, em 2017, uma lista de bactérias resistentes a antibióticos indicando três grupos principais: (I) Prioridade crítica incluindo o grupo das *Acinetobacter*, *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Proteus sp.* e *Klebsiella*) e *Pseudomonas aeruginosa* (II) Prioridade média com *Enterococcus faecium*,



Staphylococcus aureus, *Helicobacter pylori*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonellae*, *Campylobacter ssp.*; e (III) Prioridade média com *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Shigella spp.*

OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia dos extratos hidroalcoólicos brutos de *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca), *Illicium verum* Hook (anis estrelado) e *Hibiscus rosa-sinensis* (hibisco) frente à inibição do crescimento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sp*, visando integrar à literatura, novos dados a respeito dos vegetais analisados.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do extrato vegetal

Todo o protocolo para obtenção dos extratos vegetais foi realizado de acordo com Silva et al. (2012). As plantas para realização dos testes foram obtidas em uma loja de produtos naturais do município de Lorena-SP (22°44'12.3"S 45°07'00.4"W). Para obtenção do extrato vegetal, 100 g de folhas de *B. forficata*, *I. verum*, e flores de *H. rosa-sinensis* foram colocadas em estufa a 50°C por 24 horas. Após esse período, os órgãos vegetais, de modo individual, foram triturados para obtenção do pó, e colocados em 200 mL de solução alcoólica 95 % preparada com alcoômetro e água destilada, respeitando a proporção 1:2 (material vegetal: solução) por 48 horas. Posteriormente a mistura foi filtrada em gaze e colocada em rota a vapor, a fim de

realizar a somente a retirada da porção alcoólica do extrato, a 60 rpm em 45°C por cerca de 20 minutos (Adaptado de Silva et al., 2012). Ao final desse processo foi obtido, em média, 10 mL de extrato, o qual foi armazenado em frasco hermeticamente fechado a 4° C até ser utilizado; todos os extratos foram armazenados durante 3 dias para posteriores testes sendo que cada extrato foi obtido separadamente em dias diferentes a fim de evitar possíveis contaminações. Os extratos foram testados, inicialmente, sem determinação da concentração dos compostos fitoquímicos e sem diluição prévia sendo denominado extrato bruto (EB).

Análise da atividade antimicrobiana

Toda a metodologia para análise de atividade antimicrobiana foi realizada a partir de recomendações das normas e diretrizes da “Padronização dos testes de sensibilidade e antimicrobianos por disco-difusão” fornecido pela *Nacional Committee for Clinical Laboratory Standarts* (NCCLS). Os testes foram realizados em triplicatas dentro de um período de 60 dias.

Preparo do inóculo

A cepa de *E. coli* (25922) foi obtida a partir da ATCC (*American Type Culture Collection*), enquanto as cepas de *Streptococcus sp.* e *S. aureus* foram isoladas por meio de cultura seletiva e diferencial pelo Departamento de Química (DEQUI) da Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São



Paulo (ELL-USP) e doadas para a presente pesquisa. Para realização dos testes, os micro-organismos foram ativados em caldo BHI estéril e colocados em estufa a 37°C por 12 horas (NCCLS, 2012).

Preparo do meio de cultivo

Foi utilizado o meio de cultivo ágar Mueller-Hinton (KASVI®), padronizado pela NCCLS. O meio de cultivo preparado foi esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos, posteriormente, foi adicionado em placas de Petri estéreis para a realização do antibiograma (NCCLS, 2012).

Avaliação da atividade antimicrobiana

Para a inoculação dos micro-organismos nas placas de Petri, foram utilizados *swabs* estéreis. Os *swabs* foram mergulhados na suspensão microbiana e passados em toda superfície da placa delicadamente, assegurando-se a distribuição por toda a placa de forma uniforme. Para realização da avaliação da atividade antimicrobiana, 5 discos estéreis embebidos na solução de cada extrato, de forma individual, foram adicionados na superfície da placa, sendo pressionados de maneira a assegurar contato completo com o ágar. Após a adição dos discos, as placas foram mantidas em estufa a 37°C por 24 horas (NCCLS, 2012). Todos os experimentos foram realizados em triplicatas, durante o período de 24 dias, e para cada teste foram aplicados 2 tipos de controle negativos: (i) utilização somente da placa de Petri semeada com o micro-organismo e (ii) utilização da placa de Petri sem nenhuma cepa

semeada a fim de analisar a esterilidade do meio de cultivo. Além disso foram utilizados controle positivo com aplicação do antimicrobiano Lysoform® (S.C. Johnson). Cada teste de disco difusão foi realizado individualmente em dias separados a fim de evitar possíveis contaminações.

Interpretação dos resultados

Após 24 horas de incubação, as placas foram examinadas para verificar o crescimento, bem como a presença de contaminantes e a definição do diâmetro do halo de inibição. Após a inspeção visual, os resultados foram avaliados a partir da mensuração do halo de inibição presente em cada disco; sendo considerado o halo de inibição, a área sem crescimento detectável a olho nu. A medição foi realizada com auxílio de paquímetro e o resultado expresso por milímetros de zona de inibição (NCCLS, 2012). Os valores médios dos halos em milímetros foram utilizados para a avaliação antimicrobiana do extrato.

Para a classificação da atividade antimicrobiana dos extratos foi utilizada a metodologia de Alves (2000). O método de difusão em Ágar é uma técnica de avaliação qualitativa podendo classificar a amostra bacteriana em relação ao extrato como suscetível (S) – halos acima de 12 mm; Intermediária (I) – halos entre 9 e 12 mm; Resistente (R) – halos menores que 9 mm.



RESULTADOS

Na tabela 1 estão apresentados os resultados da análise de sensibilidade *S. aureus*, *E. coli* e *Streptococcus* sp., frente aos extratos brutos de *B. forficata* (EBB), *H. rosa-sinensis* (EBH) e *I. verum* Hook (EBI).

Tabela 1: Resultados do teste de difusão em ágar do extrato bruto de *Hibiscus rosa-sinensis* (EBH), *Bauhinia forficata* (EBB) e *Illicium verum* Hook (EBI) frente às cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* sp.

Table 1: Results of agar diffusion test of crude extract of *Hibiscus rosa-sinensis* (EBH), *Bauhinia forficata* (EBB) e *Illicium verum* Hook (EBI) against strains of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus* sp.

	Halos de inibição (mm) dos extratos brutos		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus</i> sp.
EBH	10,58 ± 2,71 (I)	11,75 ± 0,94 (I)	0,00 (R)
EBB	0,00 (R)	0,00 (R)	0,00 (R)
EBI	6,25 ± 0,35 (R)	9,33 ± 0,95 (I)	8,14 ± 1,43 (R)

De acordo com os resultados apresentados, pode-se observar que todos os micro-organismos testados apresentaram resistência ao extrato bruto de *B. forficata* (EBB). Por outro lado, as cepas de *S. aureus* e *E. coli* apresentaram sensibilidade intermediária em relação ao extrato de *H. rosa-sinensis* (EBH) formando halos de inibição de 11,75

mm ± 0,94 mm e 10,58 mm ± 2,71 mm, enquanto *Streptococcus* sp. apresentou resistência a esse extrato, não sendo observado a formação de halo de inibição. Com relação aos testes realizados com *I. verum* Hook (EBI), os micro-organismos *E. coli* e *Streptococcus* sp. apresentaram resistência ao extrato hidroalcolico bruto, com halos de inibição de 6,25 ± 0,35 mm e 8,14 ± 1,43 mm, respectivamente, enquanto *S. aureus* demonstrou sensibilidade intermediária, com halo de inibição de 9,33 ± 0,95 mm.

DISCUSSÃO

Com imersão de *H. rosa-sinensis* em solução alcoólica 95 %, o presente trabalho apresentou resultados de inibição equivalente a 10,58 mm ± 2,71 mm e 11,75 mm ± 0,94 mm para *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente, todavia ainda são valores classificados como resposta intermediária. Em concordância aos resultados obtidos, Silva et al. (2014) mostraram que a cepa de *S. aureus* apresentou intensidade da atividade de inibição bacteriana igual a 6,30 ao extrato de *H. rosa-sinensis* utilizando extração alcoólica 96° GL em imersão por 15 dias utilizando teste com base na técnica de tubos múltiplos. Utilizando essa mesma técnica, Maciel et al. (2012) realizaram análise antimicrobiana de *H. sabdariffa* L. proveniente da imersão em solução alcoólica 96 °GL por 15 dias e obtiveram atividade bacteriostática positiva para as cepas de *E. coli* e *S. aureus* utilizando tanto porções de cálices da planta quanto porções das flores com frutos



desconsiderando as avaliações em relação às diluições. Os resultados apresentaram 100 % e 90 %, respectivamente, de sensibilidade ao extrato sob a concentração de 12,5 mg/mL. Esses resultados corroboram com os obtidos no presente trabalho, com formação de halo de inibição de 10,58 mm \pm 2,71 mm e 11,75 mm \pm 0,94 mm para *E. coli* e *S. aureus* utilizando somente 48 horas de imersão em solução alcoólica.

Em relação ao extrato de *B. forficata*, Rocha et al. (2013) e Simões & Almeida (2015) apresentaram resultados semelhantes ao obtidos no presente trabalho. A partir de testes de microdiluição em placas com extrato hidroalcoólico 70% de *B. forficata*, Rocha et al. (2013) não obtiveram ação bactericida frente cepas de *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus parasanguis*. Não obstante Simões & Almeida (2015) também obtiveram resistência dos micro-organismos *S. aureus*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae* frente o extrato de *B. forficata* utilizando o método de difusão em ágar com extrato obtido através de percolação com etanol por 2 dias, sendo também, submetido a rota a vapor e filtração. Em contrapartida, Lacerda et al. (2016) observaram resposta sinérgica do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* aplicada junto ao ciprofloxacino com valores de inibição equivalente a 98 % frente a *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa* e 97 % para *S. aureus*. É possível que a capacidade de inibição do extrato obtido por Lacerda et al. (2016) ocorra por se tratar de um extrato obtido por imersão em água pelo

método de decocção e, dessa forma, extrair compostos fitoquímicos em concentrações diferentes do extrato alcoólico resultando em inibições distintas.

Em testes de inibição utilizando o método de difusão em ágar, realizados com óleo essencial comercial de *I. verum* Hook, Schumack et al. (2018) observaram que as cepas de *S. aureus* e *Staphylococcus epidermis* apresentaram sensibilidade susceptível. Por outro lado, em testes realizados por Freire et al. (2011), utilizando o método de difusão em ágar, os micro-organismos *S. aureus* e *E. coli* não apresentaram sensibilidade ao óleo essencial de *I. verum* Hook, que foi obtido por destilação a vapor por 2 horas.

É de extrema importância ressaltar que existe uma breve diferença entre o óleo essencial e o extrato hidroalcoólico que foi extraído neste trabalho, uma vez que esses extratos podem ser obtidos de qualquer tipo de vegetal e qualquer órgão dele, enquanto os óleos vegetais são provenientes exclusivamente de plantas aromáticas, aquelas cujas folhas ou outras partes liberam aroma forte e característico, geralmente são pequenas e muito utilizadas na culinária (BIAZZI, 2003; MACHADO & JUNIOR, 2011). Desse modo, vale salientar que existe uma relação intensa entre o método de obtenção e resposta antimicrobiana apresentada pelos autores.



CONCLUSÃO

A cepa de *S. aureus* apresentou sensibilidade classificada como intermediária frente ao extrato de *H. rosa-sinensis* e *I. verum* Hook, enquanto *E. coli* apresentou sensibilidade intermediária ao extrato de *H. rosa-sinensis* e sensibilidade resistente ao extrato de *I. verum*. Em contrapartida, a cepa de *Streptococcus* sp. foi considerada resistente a todos os extratos testados. Esses resultados evidenciaram que os extratos hidroalcoólicos de *H. rosa-sinensis* e *I. verum* Hook são promissores para aplicações biotecnológicas, podendo ser alvo de futuros testes antimicrobianos com outros micro-organismos e caracterização quanto aos compostos fitoquímicos de sua constituição, principalmente em relação à composição de flavonoides, antocianinas, compostos fenólicos e ação antioxidantes.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao Centro Universitário Teresa D'Ávila pela disponibilização dos laboratórios, ao Departamento de Química (DEQUI) da Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo (ELL-USP) por ceder as cepas utilizadas no trabalho, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto.

REFERÊNCIAS

ABREU, B. B.; SOUSA, C. R. N.; PASSOS, J. C.; MARINHO, A. R. S.; BRANDÃO, A. C. A. S.; OLIVEIRA, M. V. S.;

MOREIRA-ARAÚJO, R. S. R. Composição centesimal, compostos bioativos e atividade antioxidante em cálice de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.). **Jornal Interdisciplinar de Biociências**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2019.

ALMEIDA, M. P.; ROMERO, R. B.; ROMERO, A. L.; CRESPIAM, E.R. Explorando a química e a atividade antifúngica de óleos essenciais: uma proposta de projeto para a educação básica. **Latin American Journal of Science Education**, v.1, 12126, p.1-14, 2015.

ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas e farmacológicas**. Buenos Aires: ISIS ediciones, p. 805-806, 2000.

ALVES, T.M.A; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M; SMÂNIA, E. F.; JUNIOR, A. S.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.95, p.367-73, 2000

ANDRADE, L. H.; OLIVEIRA, J. V.; LIMA, I. M. M.; SANTANA, M. F.; BREDAS, M. O. Efeito repelente de azadiractina e óleos essenciais sobre *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) em Algodoeiro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 3, p. 628-634, 2013

ANJOS, J. C.; MUNHOZ, M. P.; SILVA, V. N.; TIRAPELI, K. G.; PEREIRA, A. F.; NAKAMUNE, C. M. S. Estudo in vitro da atividade Antioxidante de *Hibiscus Sabdariffa* L. **Revista Saúde UniToledo**, v. 1, n. 1, p. 20-30, 2017.

ARIF, T.; MANDAL, T.K.; DABUR, R. Natural products: anti-fungal agents derived from plants. **Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry**, v. 81, p. 283-311, 2011.



ÁVILA, P.H.; SMÂNIA, E.F.A.; MONACHE, F.D.; JÚNIOR, A. S. Structure-Activity relationship of antibacterial chalcones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 9790-9794, 2008.

BARBOSA, W. L. R.; QUIGNARD, E.; TAVARES, I. C. C.; PINTO, L. N.; OLIVEIRA, F. Q.; OLIVEIRA, R. M. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. **Revista Científica da UFPA**, v. 4, p.1-19, 2004.

BIAZZI, E. **O maravilhoso poder das plantas**. Ed. Ampliada e autorizada de Saúde pelas plantas. Casa Publicadora Brasileira, Tatuí-SP, 2003.

BINATTI, T. T.; GEROMEL, M. R.; FAZIO, M. L. S. Ação antimicrobiana de especiarias sobre o desenvolvimento bacteriano. **Higiene Alimentar**, v. 30, n. 260/261, p. 105-108, 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica. Série A: normas e manuais técnicos, Brasília, cadernos de atenção básica**, n. 31, 156 p., 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Programa nacional de plantas medicinal e fitoterápico**. In: Série C. Projetos, Programas e Relatórios. Brasília, 136 p., 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS: atitude de ampliação de acesso**. Ed. 2, Brasília, 96 p., 2015.

CURCIO S.A.; STEFAN L.F.; RANDI B.A.; DIAS M.A.; DA SILVA R.E.; CALDEIRA E.J. Hypoglycemic effects of an aqueous extract of *Bauhinia forficata* on the salivary glands of diabetic mice. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 25, n. 3, 2012.

DA-COSTA-ROCHA, I.; BONNLAENDER, B.; SIEVERS, H.; PISCHEL, I.; HEINRICH, M. *Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review. **Food Chemistry**, v. 165, p. 424-443, 2014

DING, X.; YANG, C.; YANG, Z.; REN, X.; WANG, P. Effects of star anise (*Illicium verum* Hook. f) oil on the nuclear factor E2-related factor 2 signaling pathway of chickens during subclinical *Escherichia coli* challenge. **Poultry Science**, v. 99, n. 6, 3092-3101, 2020.

FARIAS, F. L.; PIRES, L. L. S.; JÚNIOR, R. I. S.; PAVÃO, J. M. S. J.; MATOS-ROCHA, T. J.; SANTOS, A. F. Antibacterial activity assessment of extract ethanol *Bauhinia forficata* L. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 2, p. 402-411, 2018.

FERNÁNDEZ-SALAS, A.; ALONSO-DÍAZ, M. A.; ACOSTA-RODRÍGUEZ, R.; TORRES-ACOSTA, J. F.; SANDOVAL-CASTRO, C. A.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I. In vitro acaricidal effect of tannin-rich plants against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 175, n. 1-2, p. 113-118, 2011.

FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n.1, p. 99-105, 1998.

FRANCO, R. R.; ALVES, V. H. M.; ZABISKY, L. F. R.; JUSTINO, A. R.; MARTINS, M. M.; SARAIVAM A. L.; GOULART, L. R.; ESPINDOLA, F. S. Antidiabetic potential of *Bauhinia forficata* link leaves: a non-cytotoxic source of lipase and glycoside hydrolases inhibitors and molecules with antioxidant and antiglycation properties. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 123, p. 1-11, 2020.



FREIRE, J. M., CARDOSO, M. G., BATISTA, L. R., & ANDRADE, M. A. Essential Oil of *Origanum Majorana* L., *Illicium Verum* Hook. F. and *Cinnamomum Zeylanicum* Blume: Chemical and antimicrobial characterization. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, 209-214, 2011.

GARLET, T. M. B. **Plantas medicinais de emprego popular em Palmeira Das Missões, RS**. Santa Maria: ed. PRE, p. 13, 2017.

GÓRNIAK, I.; BARTOSZEWSKI, R.; KRÓLICZEWSKI, J. Comprehensive Review of antimicrobial activities of plant flavonoids. **Phytochemistry Reviews**, v. 18, n. 2, p. 241-272, 2019.

GROSSMAN, L. **Óleos essenciais na culinária, cosmética e saúde**. São Paulo: Optonline, p. 300, 2005.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

JORGENSEN, P. S.; WERNLI, D.; FOLKE, C. CARROLL, S. P. Changing antibiotic resistance: sustainability transformation to a pro-microbial planet. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 25, p. 66-76, 2017.

JULIANI, H. R.; WELCH, C. R.; WU, Q. DIOUF, B.; MALAINY, D.; SIMON, J. E. Chemistry and quality of hibiscus for developing the natural-product industry in Senegal. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 2, p. 113-121, 2009.

KARAS, J. A.; WONG, L. J. M.; PAULIN, O. K. A.; MAZEH, A. C.; HUSSEIN, M. H.; LI, J.; WELKOV, T. The antimicrobial activity of cannabinoids. **Antibiotics**, v. 9, 406, p. 1-10 2020.

KHALIL N.M.; PEPATO M.T.; BRUNETTI I.L. Free radical scavenging profile and myeloperoxidase inhibition of extracts from antidiabetic plants: *Bauhinia forficata* and *Cissus sicyoides*. **Biological Research**, v.41, p.165-171, 2008.

KRAKER, M. E. A.; STEWARDSON, A. J.; HARBARTH, S. Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050? **PLOS Medicine**, v. 13, n. 11, 2016.

LACERDA, G. M.; MONTEIRO, A. B.; TINTINO, S. R.; DELMONDES, G. A.; FERNANDES, C. N.; LEMOS, I. C. S.; NASCIMENTO, E. P.; CARVALHO, T. B.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; KERNTOPF, M. R. Atividade moduladora sobre antibióticos pelo extrato aquoso das folhas de *Bauhinia Ungulata* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 21, n. 3, p. 309-317, 2016.

LEE, K. H.; PADZIL, A. M.; SYAHIDA, A.; ABDULLAH, N.; ZUHAINIS, S. W.; MAZIAH, M.; SULAIMAN, M. R.; ISRAF, D. A.; SHAARI, K.; LAJIS, N. H. Evaluation of anti-inflammatory, antioxidant and antinociceptive activities of six Malaysian medicinal plants. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 5, n. 23, p. 5555-5563, 2011.

LI, S.F.; DI, Y.T.; LUO, R.H.; ZHENG, Y.T.; WANG, Y.H.; FANG, X.; ZHANG, Y.; LI, L.; HE, H.P.; LI, S.L.; HAO, X.J. Cycloartane triterpenoids from *Cassia occidentalis*. **Planta Medica**, v. 78, p. 821-827, 2012.

LÓPES-JÁCOME et. al. The Race between drug introduction and appearance of microbial resistance current balance and alternative approaches. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 48, p. 48-56, 2019.

MACHADO, B. F. M. T.; FERNANDAES-JUNIOR, A. F. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos acadêmicos**, v.3, n.2, p. 105-127, 2011.



MACIEL, M. J.; PAIM, M. P.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus Sabdariffa* L.) como fator de proteção antibacteriana e antioxidante. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 462-470, 2012.

MARTINS, N. E. **Caracterização e avaliação de atividades biológicas de extratos de *Hibiscus Sabdariffa* L. e de nanopartículas de prata obtidas por síntese verde.** 86 p. (Dissertação mestrado/Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, 2018.

NCCLS/Nacional Committee for Clinical Laboratory Standards. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests.** In: NCCLS document M2, Pennsylvania/USA, v. 32, 53 p., 2012.

NEGRAES, P. **Guia A-Z de plantas condimentos.** São Paulo: Bei Comunicações, p. 254, 2003.

OLIVEIRA, C.; MAIORANO, V.; MARCUSSI, S.; SANT'ANA, C.; JANUARIO, A. H.; SAMPAIO, S.; FRANÇA, S.; PEREIRA, P.; SOARES, A. Anticoagulant and antifibrinolytic properties of the aqueous extract from *Bauhinia forficata* against snake venoms. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 213-216, 2005.

OPAS (Organização Pan-Americana da Saúde). **Novos dados revelam níveis elevados de resistência aos antibióticos em todo o mundo, 2018.** Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/brasil>>. Acesso em: 06 de set. de 2020.

PEREIRA, A. C. S.; RIBEIRO, G. E.; SOUZA, L. C. R.; RUFINO, L. R. A.; CABRAL, I. S. R.; BORIOLLO, M. F. G.; NOGUEIRA, D. A.; OLIVEIRA, N. M. S.; FIORINI, J. E. atividade biológica do extrato hidroalcoólico de *Bauhinia forficata* link sobre

Herpetomonas samuelpessoai (Galvão) Roitman. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 585-592, 2014.

PEROZA, L. R.; BUSANELLO, A.; LEAL, C. Q.; ROPKE, J.; BOLIGON, A. A.; MEINERZ, D.; LIBARDONI, M.; ATHAYDE, M. L.; FACHINETTO, R. *Bauhinia forficata* prevents vacuuous chewing movements induced by haloperidol in rats and has antioxidant potential in vitro. **Neurochemical Research**, v. 38, p. 789-796, 2013.

PRENESTI, E.; BERTO, S.; DANIELE, P. G.; TOSO, S. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 433-438, 2007.

QUIDIGNO, C. A.; ANDRADE, M. C. **Evaluation of the antibacterial activity of hibiscus flowers (*Hibiscus sabdariffa*) against strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.** (Graduação/Medicina). 2019.

ROCHA, E. A. L. S. S.; CARVALHO, A. V. O. R.; ANDRADE, S. R. A.; TROVÃO, D. M. M. B.; MEDEIROS, A. C. D.; COSTA, E. M. M. B. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extratos hidroalcoólicos de plantas medicinais do nordeste brasileiro em bactérias do gênero *Streptococcus*. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 13, n. 3, p. 233-38, 2013.

ROOPA, A. P.; SEMWAL, A. D.; SHARMA, G. K.; AGATHAN, G.; BAWA, A.S. Star-anise (*Illicium verum*) and black caraway (*Carum nigrum*) as natural oxidants. **Food Chemistry**, v. 104, n. 1, p. 59-66, 2007.

ROSA, E. S. Características nutricionais e fitoquímicas em diferentes preparações e apresentações de *Hibiscus*



sabdariffa L. 45 p. (Graduação/Nutrição) - Universidade Federal Rio Grande do Sul, 2013.

SANTOS, U. V.; SANTOS, B. S.; SILVA, G. F.; CONSTANT, P. B. L.; SANTOS, J. A. B. Avaliação de potencial de ervas medicinais: capim-limão (*Cymbopogon citratus* d.c.), chá verde (*Camellia sinensis* L.) e hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) para obtenção de chás solúveis. **Revista GEINTEC**, v. 4, n. 4, p. 1399-1408, 2014.

SAYAGO-AYERDI, S. G.; ARRANZ, S.; SERRANO, J.; GOÑI, I. Dietary Fiber content and associated antioxidant compounds in roselle flowers (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n.19, p. 7886–7890, 2007.

SCHIAVO, M.; GELATTI, G. T.; OLIVEIRA, K. R.; BANDEIRA, V. A. C.; COLET, C. F. Conhecimento sobre plantas medicinais por mulheres em processo de envelhecimento. **Semina: Ciências biológicas e da saúde**, v. 38, n. 1, p. 45-60, 2017.

SCHUMACK, K. S. P.; BARBOSA, A. C. A.; SANTOS, L.; dos SANTOS, T. G.; LIMA, C. P. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Thymus vulgaris* L., *Eucalyptus citriodora* Hook e *Illicium verum* Hook. **Anais do EVINCI – UniBrasil**, Curitiba, v.3, n.1, p. 244-244, 2017.

SILVA, A. B.; WIEST, J. M.; PAIM, M. P.; GIROLOMETTO, G. Caracterização antibacteriana e fitoquímica de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 73, n. 3, p. 264-271, 2014.

SILVA, A. B.; WIEST, J.M.; CARVALHO, H. H. C. Compostos químicos e atividade antioxidante analisados em *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L.

(hibisco-da-síria). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, p. 1-9, 2016.

SILVA, K.L.; CECHINEL FILHO V. 2002. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v. 25, p. 449-454.

SILVA, S. M. F. Q.; PINHEIRO, S. M. B. O.; QUEIROZ, M. V. F.; PRANCHEVICIUS, M. C.; CASTRO, J. G. D.; PERIM, M. C.; CARREIRO, S. C. Atividade in vitro de extratos brutos de duas espécies vegetais do cerrado sobre leveduras do gênero *Candida*. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 17, n.6, p. 1649-1656, 2012.

SIMÕES, R. C.; ALMEIDA, S. S. M. S. Estudo fitoquímico de *Bauhinia forficata* (Fabaceae). **Biota Amazonia**, v. 5, n. 1, p. 27-31, 2015.

WANG, Q.; JIANG, L.; WEN, Q. Effect of Three Extraction Methods on the volatile componentes of *Illicium verum* Hook f. Analyzed GC-MS. **Wuhan University Journal of Natural Sciences**, v. 12, p. 529-534, 2007.

WILLIAMSON, E. M. Synergy and other interactions in phytomedicines. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 401-409, 2001.