

---

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E TRIAGEM FITOQUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO DOS CÁLCICES DO HIBISCO (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Evaluation of antibacterial activity and phytochemical screening of the aqueous extract of the hibiscal galleries (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Edson Alves Machado Filho<sup>1</sup>, Maria Jeronima da Silva Rodrigues<sup>2</sup>, Veronica de Sousa Ribeiro<sup>2</sup>

---

### RESUMO

A planta medicinal. *Hibiscus Sabdariffa* L. é uma espécie vegetal que pertence à família *Malvaceae* proveniente da África oriental, introduzida no Brasil pelos escravos. Conhecida popularmente como vinagreira, caruru-azedo, azedinha, caruru-da-guiné, azeda-da-guiné, quiabo-azedo, quiabo-róseo, quiabo-roxo, rosélia, groselha, quiabo-de-angola, groselheira. Atualmente, vem sendo utilizada na medicina popular, possuindo algumas propriedades terapêuticas como hipotensivo e redutor de colesterol. Estudos têm comprovado o uso do *H. sabdariffa* L. como agente diurético, uricosúrico, antimicrobiano, leve laxante, sedativo e outros. Estudos recentes mostraram que o extrato aquoso do hibisco inibe várias bactérias infecciosas como as bactérias, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A resistência bacteriana é um problema de saúde pública, por esse motivo, o uso irracional de antimicrobianos é uma das principais preocupações no mundo. O presente estudo teve como objetivo avaliar a presença de fitoquímicos, e seu potencial inibitório de antimicrobiano utilizando o extrato aquoso *in natura* extraído dos cálices do hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.). Os cálices foram coletados em uma chácara no município de Xinguara - PA. Realizaram-se testes de precipitação e colorimétricos para detecção dos seus metabólitos secundários e avaliou-se seu potencial antimicrobiano contra os microorganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A análise fotoquímica apresentou resultado positivo para substâncias fenólicas taninos, flavonóides e saponinas. Já a atividade antimicrobiana o extrato aquoso de *Hibiscus Sabdariffa* mostrou-se sensível aos microorganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

**PALAVRAS CHAVE:** *Hibiscus Sabdariffa*. Plantas Medicinais. Inibição bacteriana. Compostos fitoquímicos.

---

### ABSTRACT

The medicinal plant. *Hibiscus Sabdariffa* L. is a plant species that belongs to the *Malvaceae* family from eastern Africa, introduced in Brazil by slaves. Popularly known as vinagreira, caruru-sour, sorrel, guinea-caruru, sorrel-of-guinea, okra-sour, okra-pink, okra-purple, roselia, currant, okra-angola, currant. Currently, it has been used in folk medicine, having some therapeutic properties such as hypotensive and cholesterol lowering. Studies have proven the use of *H. sabdariffa* L. as a diuretic, uricosuric, antimicrobial, mild laxative, sedative and other agents. Recent studies have shown that the aqueous extract of hibiscus inhibits various infectious bacteria such as bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Bacterial resistance is a public health problem, therefore, the irrational use of antimicrobials is one of the main concerns in the world. The present study aimed to evaluate the presence of phytochemicals, and their inhibitory potential for antimicrobials using the aqueous extract *in natura* extracted from the hibiscus chalices (*Hibiscus sabdariffa* L.). The goblets were collected in a

---

<sup>1</sup> Faculdade Integrada Carajás (FIC), Redenção-PA. edjacintofilho@gmail.com

<sup>2</sup> Alunas do Curso de Farmácia Fic.

---

farm in the municipality of Xinguara - PA. Precipitation and colorimetric tests were performed to detect its secondary metabolites and its antimicrobial potential against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was evaluated. The photochemical analysis showed a positive result for phenolic substances tannins, flavonoids and saponins. The antimicrobial activity, the aqueous extract of *Hibiscus Sabdariffa*, was sensitive to the microorganisms *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

**KEY WORDS:** *Hibiscus Sabdariffa*. Medicinal plants. Bacterial inhibition. Phytochemical compounds.

---

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto à espécie humana, tendo o conhecimento popular grande contribuição para divulgação das virtudes, porém o uso no tratamento das doenças de plantas e controle de pragas é mais recente (LUBIAN *et al.*, 2010).

Nesse contexto, partes das plantas como raiz, caule e folhas, podem fornecer substâncias ativas que serão empregadas na obtenção de um medicamento (ROSA *et al.*, 2012).

As plantas utilizadas na medicina tradicional estão sendo, também, cada vez mais estudadas por serem possíveis fontes de substâncias com atividades antimicrobianas, frente a microrganismos prejudiciais à saúde do homem (MENDES *et al.*, 2011).

O Brasil está entre os sete países detentores da mega diversidade, onde se localizam 50% das espécies vegetais no mundo. A biodiversidade do Brasil não é totalmente conhecida devido a sua complexidade, mas estima-se que existam 55.000 espécies catalogadas, num total estimado entre 350.000 e 550.000 (TOLEDO *et al.*, 2003; SILVA;)

Devido ao aumento da resistência aos antimicrobianos em uso, as plantas medicinais têm sido intensamente estudadas como agentes alternativos para a prevenção de doenças e tratamento de infecções em seres humanos e, com o passar dos anos, inúmeras pesquisas foram realizadas mostrando a eficiência e confiabilidade das plantas (BADKE *et al.*, 2011; FEITOSA *et al.*, 2011).

Na busca de novos fármacos, a síntese e avaliação biológica passaram a ter um custo muito elevado, pois poucos compostos venciam as etapas pré-clínicas e clínicas para tornar-se um medicamento. Neste sentido, os produtos naturais recuperaram espaço na indústria farmacêutica como fitoterápicos e como fonte inspiradora de novos padrões moleculares (BOLZANI, VIEGAS, BARREIRO, 2006).

As plantas medicinais são uma alternativa com riquíssimo potencial para a busca de novas drogas antimicrobianas, por terem uma diversidade elevada àquelas procedentes de produtos sintéticos.

Nesse contexto as plantas têm se tornado fontes potenciais de moléculas que podem ser empregadas na defesa de plantas contra fitopatógenos e para fins medicinais, pois constituem fontes de metabólitos secundários inesgotáveis em relação às possibilidades de se encontrar novas e diferentes estruturas com atividades de extrema importância (NOVAIS, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2006).

No Brasil, as plantas são consideradas a principal fonte de novos fármacos devido às condições favoráveis de coleta do material, à biodiversidade do país e à possibilidade de encontrar novos princípios ativos. Diversas plantas tropicais têm sido utilizadas popularmente e encontram-se documentadas por dados etnobotânicos (BRAZ-FILHO, 2010).

A utilização de medicamentos naturais é uma tendência mundial, tanto que nos últimos dez anos a aplicação de plantas para tratamento de diversas patologias aumentou consideravelmente (OBOUAYEBA *et al.*, 2014)

Neste sentido, o hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) tem apresentado uma relevância na prevenção e tratamento alternativo de diversas patologias. Muitos efeitos terapêuticos atribuídos ao *H. sabdariffa* já estão confirmados.

Estudos têm comprovado o uso do *H. sabdariffa* L. como agente diurético, uricosúrico, antimicrobiano, leve laxante, sedativo, anti-hipertensor, antitússico e também na diminuição dos níveis de lipídios totais, colesterol e triglicérides, no tratamento gastrointestinal e de pedra nos rins, assim como para tratar danos no fígado e efeitos da embriaguez. Recentemente, há indicativo de que o *H. sabdariffa* L. age como antioxidante, antimutagênico, antitumoral e antileucêmico (EMBRAPA, 2011).

Em vista dos argumentos apresentados, o presente estudo teve como objetivo avaliar a presença de fitoquímicos (Taninos, Saponinas e flavonóides); analisar e verificar o potencial antimicrobiano do extrato aquoso dos cálices do hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.), para as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para realizar a pesquisa foi abordada a metodologia de pesquisa experimental, onde através de análise qualitativa e quantitativa observou-se o crescimento dos microrganismos, feita a inoculação dos extratos dos cálices do hibisco, e em seguida será avaliada a ação dos extratos no controle e inibição das bactérias. Foram realizados testes fitoquímicos qualitativos conforme protocolos adotados por Barbosa *et al.* (2001), para verificar a presença de flavonoides, taninos e saponinas no extrato aquoso dos cálices do hibisco.

O material vegetal para análise e testes fitoquímicos, representado pelos cálices e cálculos de *Hibiscus Sabdariffa*, *in natura* foram coletados em uma horta, no município de Xinguara-Pará, no mês de Agosto de 2018 (tempo da safra), colocados em sacos plásticos e caixas térmicas, somente para conservação da temperatura *in natura* e posterior identificado botanicamente pelo Professor Raimundo Pereira da Costa Filho<sup>3</sup>, e conduzidas ao laboratório de Química Orgânica da Faculdade Integrada Carajás.

---

<sup>3</sup> Licenciado Pleno em Ciências Naturais – Biologia - UEPA. Professor de Zoologia e Biologia no Colégio Objetivo Unidade de Redenção.

Como critério de seleção das amostras vegetais, foram aderidas à pesquisa dos cálices conforme coloração vermelha (cálices), e integridades físicas (livre de injurias).

Seguindo os passos: coleta/seleção, identificação, higienização e sanitização, triturados e filtrados e acondicionamento.

Os cálices foram selecionados e em seguida a droga vegetal foi submetida ao processo de sanitização, onde se colocou em uma bacia as amostras, adicionou 1,5 litros de água destilada, e 20 ml de hipoclorito de sódio, ficando mergulhadas nesta solução e repousadas por 30 minutos. Após esse período de repouso, escoou a solução das amostras e fez a lavagem das mesmas em duas etapas, usando 2 litros de água destilada, sendo 1 litro de água em cada etapa, logo após foram colocadas novamente sobre a bancada e retirado o excesso da água com papel toalha absorvente.

Em seguida, triturou-se a droga vegetal, com auxílio de liquidificador, adicionou 50 ml de água destilada, até o extrato criar uma consistência.

Posteriormente, filtrou-se o extrato com auxílio de um algodão e acondicionou em um frasco de bod.

Logo após, foram realizados testes fitoquímicos qualitativos conforme protocolos adotados por Barbosa *et al.* (2001), para tanto a análise fitoquímica realizada tem como finalidade verificar alteração de coloração ou formação de precipitado como resposta de resultado positivo. A fim de verificar a presença de flavonóides, taninos e saponinas no extrato aquoso *in natura* dos cálices do hibisco.

A pesquisa e identificação de flavonóides são baseadas da estrutura do flavonoide em presença de ácido. Dessa forma diluiu-se o extrato *in natura* do hibisco e colocou-se 2,0 ml do extrato dos cálices do hibisco em tubos de ensaio, e acrescentou 2 gotas do acetato de chumbo a 10%. Onde se observou um precipitado.

Para identificar taninos, foram colocados 2,0 ml do extrato em tubo de ensaio, adicionou-se 2 gotas de solução de cloreto férrico a 10%. A Coloração azul indica possível presença de taninos hidrolisáveis, e coloração verde de taninos condensados. Identificaram-se Taninos Condensados (coloração verde).

Já para identificar saponinas foi adicionado em um tubo de ensaio, com 2,0ml do extrato aquoso *in natura*, foram adicionados 5,0ml de água destilada em temperatura de ebulição. Após resfriamento, agitou-se fortemente, deixando em repouso por aproximadamente 18 minutos. Classifica-se a presença de saponinas pela formação de espumas.

Os microrganismos utilizados no presente estudo foram *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Ambas foram cultivadas em Ágar Müeller-Hinton (AMH) a 37 °C por 24 horas. Os microrganismos utilizados no presente trabalho foram obtidos da Coleção de Culturas de Microrganismos do Laboratório de Análises do Hospital Regional de Redenção.

Para o procedimento da atividade antimicrobiana, as técnicas executadas foram destinadas à determinação da sensibilidade bacteriana *in vitro* frente aos agentes antimicrobianos, conhecidos por Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA). Para a avaliação da atividade antibacteriana do extrato

do hibisco, utilizou-se o método de difusão em disco de papel filtro, conforme recomendado pelo NCCLS (2000).

As cepas foram diluídas em tubos distintos objetivando obter turbidez de 0,5 na escala de MacFarland (108 UFC/mL-1), após esse procedimento com o auxílio de um swabe o inóculo foi retirado e espalhado sobre a superfície do Agar Müller-Hinton.

Os ensaios foram conduzidos em triplicatas para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos.

Utilizou-se discos de papel filtro estéreis medindo 6mm, foram embebidos com o extrato aquoso do *Hibiscus Sabdariffa*, utilizando uma pipeta automática de 10ul com ponteiros estéreis. Os discos foram posicionados com auxílio de uma pinça nas placas semeadas com as bactérias, juntamente com os extratos foram colocados como padrão, discos de antibióticos.

Os discos de antibióticos, Tetraciclina, Sulfazotrim, Ciprofloxacino e Meropenem foram posicionados na placa inoculada com a bactéria *Escherichia coli*, como indicadores evidenciando a inibição da atividade bacteriana. E na placa inoculada com a bactéria *Staphylococcus aureus*, foram posicionados os antibióticos Amicacina, Cefalozina, Ampicilina e Sulfazotrim. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica na temperatura a 37°C, por 24 horas.

A leitura dos diâmetros dos halos de inibição foi utilizada uma régua milimétrica. A interpretação foi de acordo com os critérios de interpretação preconizados pelo Manual para Antibiograma: Disco-difusão (Kirby e Bauer).

### **3 REVISÃO DE LITERATURA**

A utilização de produtos naturais, particularmente da flora, com fins medicinais, nasceu com a humanidade. Índícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas civilizações mais antigas, sendo considerada uma das práticas mais remotas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (ANDRADE, 2007).

De acordo com os dados do Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2011), obtidos em um estudo para avaliar o estado do conhecimento da biodiversidade brasileira realizado em 2006, o Brasil possui pelo menos 43.020 espécies vegetais, que representa cerca de 16% da flora mundial, e 103.870 espécies animais que representam em torno de 8% das espécies de animais do mundo. O estudo relata ainda que cerca de 700 novas espécies animais são reconhecidas por ano no país (BRASIL, 2011).

No passado, o principal meio terapêutico conhecido para tratamento da população, eram as plantas medicinais com o propósito de curar as enfermidades que apareciam. A partir do conhecimento e uso popular, foram descobertos alguns medicamentos utilizados na medicina tradicional. (BOTSARIS, 1999).

Já Oliveira e Araújo (2007), comentam que esse conhecimento é mantido por meio da tradição oral, e por conta deste fator, pouca informação é comprovada sobre os efeitos benéficos e maléficos.

No entanto, essas práticas relacionadas ao uso popular de plantas medicinais são o que muitas comunidades têm como alternativa viável para o tratamento de doenças ou manutenção da saúde (AMOROZO, 2002).

A produção de medicamentos fitoterápicos é um emprego importante da biodiversidade. “Esses medicamentos constituem-se em preparações contendo extratos padronizados de uma ou mais plantas, hoje amplamente comercializados em países pobres ou ricos” (CALIXTO, 2003).

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) define medicamentos fitoterápicos na RDC nº 14/2010 (que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos) no artigo 1º como sendo os medicamentos “obtidos com emprego exclusivos de matérias primas ativos vegetais, cuja eficácia e segurança são validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos”.

As Malvaceae possuem 243 gêneros e 4.300 espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais e, mais raramente, nas regiões temperadas (BAYER & KUBITZKI, 2003). No Brasil, a família está representada por 70 gêneros e 765 espécies, 406 destas endêmicas (ZAPPI 2015).

O *H. sabdariffa L.* é uma espécie vegetal que pertence à família Malvaceae, sendo um arbusto anual, ereto, podendo chegar de 2 a 3 m de altura, de folhas verdes, caule roxeado, flores de corola vermelho-amareladas, solitárias, axilares e cálice vermelho e persistente, pode ser cultivada em jardim e horta caseira. É originário da Índia, Sudão e Malásia, e largamente cultivado na América Central e Ocidental (FREITAS; SANTOS; 2013; VIZZOTTO, 2009).

No Brasil, são conhecidas pelos sinônimos vulgares de vinagreira, quiabo-azedo, caruru azedo e azedinha. Suas folhas são fonte de vitaminas A, B e C, ferro e fósforo e o cálice contém carboidratos, ferro, ácido ascórbico e  $\beta$ -caroteno (FREITAS; SANTOS; 2013; MAHADEVAN, 2009).

Essa planta é cultivada em jardim e horta caseira, caracteriza-se como arbusto de ciclo anual, de modo ereto, ramificado e que pode atingir mais de 1,80m de altura. O cálice possui formato de taça com tonalidade vermelha (MCCALEB, 1998).

O hibisco possui folhas alternas, longo-pecioladas, verdes com nervuras arroxeadas, são palmatilobadas, com 3 a 5 lobos estreitos e agudos, tendo 5 nervuras, com margem denteadas, com uma grande glândula na base da nervura mediana e medindo de 7 a 12 cm de comprimento (COUTO, 2006).

A planta produz diversos constituintes químicos que podem ser classificados como metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários fornecem substâncias envolvidas nas funções básicas essenciais da vida celular como: respiração e biossíntese de aminoácidos e outras substâncias necessárias para a vida da célula vegetal (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2001).

O metabolismo representa o conjunto de reações químicas que está sempre ocorrendo em cada célula. Os compostos químicos que são formados, degradados ou transformados recebem o nome de metabólitos (SIMÕES *et al.*, 2010), que por sua vez podem ser divididos em metabólitos primários e metabólitos secundários (WAKSMUNDZKA-HAJNOS, 2008).

Por serem considerados essenciais à vida e comuns aos seres vivos têm sido definidos como integrantes do metabolismo primário. Metabolismo primário compreende as várias reações químicas envolvidas na transformação de moléculas de nutrientes nas unidades constitutivas essenciais da célula, reações essas que se encontram envolvidas na manutenção fundamental da sobrevivência e do desenvolvimento celular (DIXON, 2001).

Metabólicos secundários são compostos químicos distintos dos intermediários e dos produtos do metabolismo primário. Eles variam de acordo com a espécie vegetal e a família e alguns são restritas à determinada família, gênero ou espécie, possibilitando o emprego como marcador taxonômico (BENETT, 1994).

As principais classes de compostos derivados do metabolismo secundário das plantas são: taninos, flavonóides, alcalóides, cumarinas, antraquinonas, óleos essenciais e saponinas (SIMÕES *et al.*, 2010).

Para identificar estes metabólitos secundários presentes na planta realiza-se a triagem fotoquímica (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2002; FILHO, 2010) e alguns metabólitos identificados na triagem são potenciais antioxidantes.

Um conceito básico quanto a compostos fenólicos é que todas as estruturas devem possuir no mínimo um núcleo aromático. Este, por sua vez, estando ligado a uma ou mais hidroxilas livres ou em forma de compostos como ésteres, éteres ou até mesmo heterosídeos (CUNHA & ROQUE, 2010).

Os polifenóis oxidam facilmente por serem substâncias redutoras. As plantas possuem compostos fenólicos, tais como taninos, flavonoides, saponinas. Esses compostos possuem ação antioxidante, em consequência da sua estrutura química e de suas propriedades redutoras (SOUSA, *et al.* 2007).

O grupo mais importante representando os fenólicos é a classe dos flavonóides, por possuírem uma vasta diversificação quanto a produtos de origem natural. Sendo estes flavonóides mais distribuídos pelo reino das plantas, podem ser encontrados nas mais diversas formas estruturais, mas o seu núcleo fundamental possui 15 átomos de carbono que forma um composto tricíclico. Os flavonóides possuem atividade antioxidante e podem interferir na produção de radicais livres (ZUANAZZI & MONTANHA, 1999).

Essa classe de metabólitos secundários possui inúmeras atividades biológicas e diversas funções na natureza. Os flavonóides, por sua vez, são moléculas que apresentam baixo peso molecular e encontram-se distribuídos de uma forma ampla pelo reino vegetal, as funções biológicas dos mesmos se modificam de acordo com a sua estrutura química (CAMPOS, 2010).

Plantas ricas em taninos, historicamente, são importantes, por permitirem a transformação de pele animal no couro. Logo, confirma-se através desse fato que os taninos precipitam proteínas, pectinas e celulose. Esses compostos têm por característica a adstringência de frutas e/ou produtos de origem vegetal. Possuem duas classificações: taninos hidrolisáveis e taninos condensados (SANTOS & MELLO, 1999).

Os taninos encontram-se quase que de forma geral em plantas vascularizadas, em diferentes concentrações. Esses metabólitos são encontrados em diversos órgãos das plantas, tais como: madeira, folha, fruto e casca. São substâncias solúveis em água, em álcoois e acetona. Estes têm função de proteção da planta (CUNHA & BATISTA, 2010).

Saponinas são substâncias derivadas do metabolismo secundário das plantas, relacionados, principalmente, com o sistema de defesa. São encontradas nos tecidos que são mais vulneráveis ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos (WINA *et al.*, 2005), considerando-se parte do sistema da defesa das plantas e indicadas como “fito protetoras” (PIZARRO, 1999). Essa atividade seria devido à interação com os esteróis da membrana (FRANCIS *et al.*, 2002).

Nesse contexto as saponinas são importantes para a ação de drogas vegetais, destacando-se as tradicionalmente utilizadas como expectorantes e diuréticas (SIEDENTOPP, 2008). Por suas propriedades surfactantes, são usadas na indústria na preparação de emulsões para filmes fotográficos e na indústria de cosméticos em batons e xampus (CHEEKE, 1999). São usadas na indústria alimentícia como flavorizante e agente espumante.

O saber sobre a potencialidade terapêutica desses vegetais vem ocasionando interesse científico, onde buscam novas alternativas para controle e tratamento de inúmeras enfermidades (COUTINHO *et al.*, 2003/2004).

As plantas do bioma brasileiro vêm sendo manuseada como recurso terapêutico por habitantes locais no tratamento de diversas enfermidades tropicais, incluindo a esquistossomose, a leishmaniose, a malária e infecções fúngicas e bacterianas. Contudo, apesar da abastada flora, apenas as informações de algumas plantas encontram-se disponíveis, incluindo espécies nativas e exóticas (SARTORATTO *et al.*, 2004).

O uso de extratos vegetais e fitoquímicos com propósito terapêutico é uma das mais antigas formas de aplicação medicinal da humanidade (ARAÚJO, 2001).

A OMS estima que mais de 65% dos cidadãos dos países desenvolvidos utilizem plantas terapêuticas para cuidados básicos com a saúde. Graças à atividade metabólica secundária dos vegetais superiores, estes produzem substâncias antibióticas como mecanismo de defesa contra predação por microrganismos, insetos e herbívoros (GONÇALVES; MENEZES, 2005).

Os óleos essenciais e os extratos de inúmeras variedades de plantas podem controlar o desenvolvimento dos microrganismos alusivo à pele, à cárie dental, incluindo as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (SARTORATTO *et al.*, 2004).

Estudo publicado em 2000 por Rauha *et al.*, comprovou a atividade antimicrobiana de extratos de 29 espécies, comercializadas ou coletas em diversos locais da Finlândia, ricos em flavonóides, frente a nove microrganismos, sendo esses efetivos contra Gram positivos, como *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis*; e Gram negativos como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*; e também fungos filamentosos, como *Aspergillus niger*, e leveduras como *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*.



Os antibióticos são produtos metabólicos naturais de fungos, actinobactérias e bactérias capazes de impossibilitarem o crescimento, ou de destruírem microrganismos. Dentre as questões mais comuns que limitam o uso destes antimicrobianos estão os efeitos colaterais produzidos no organismo e o aumento da resistência microbiana (MIMS *et al.*, 1999; BLACK, 2002).

A resistência bacteriana pode ser de dois tipos, natural ou adquirida. Resistência natural é caracterizada como aquele grupo bacteriano que não são sensíveis a determinados antibióticos, podemos citar como exemplos, os microrganismos Gram-negativos resistentes à penicilina G. Já a resistência adquirida e/ou resistência secundária ocorre pelo desenvolvimento de mecanismos de defesa, seja por mutação ou por aquisição de material genético exógeno (AMATO NETO *et al.*, 2000).

A resistência bacteriana pode ser resultado de diversos fatores, tais como: uso crescente e inadequado de antimicrobianos, procedimentos invasivos, grande número de hospedeiros susceptíveis e falhas terapêuticas, entre outros, ocasionando aumento da transmissão de organismos multirresistentes (CATÃO *et al.*, 2005).

Em geral, bactérias têm a habilidade genética de adquirir e transmitir resistência às drogas utilizadas como agentes terapêuticos. O problema dos microrganismos resistentes está crescendo, e a perspectiva para o uso de antibióticos é indefinida. Por isso, medidas devem ser tomadas para resolver este problema, por exemplo, controlar o uso de antibióticos, ampliar pesquisas para melhor entender o mecanismo genético de resistência e continuar estudos para desenvolver novas drogas, sintéticas ou naturais (AMOROSO, 2002; NASCIMENTO *et al.*, 2000).

Embora as indústrias químicas e farmacêuticas tenham produzido uma imensa variedade de diferentes antibióticos nos últimos tempos, cada vez mais tem sido observado um aumento da resistência das bactérias a essas drogas usadas para fins terapêuticos (ALEKSHUN & LEVY, 2007).

O consumo de mais de uma tonelada diária de antibióticos em alguns países da Europa tem resultado na resistência de populações bacterianas, causando assim um sério problema de saúde pública. Há um perigo do retorno a uma era pré-antibiótico, considerando-se que nenhuma nova classe de antibiótico foi descoberta nos últimos anos, apesar das intensas pesquisas das indústrias farmacêuticas (DUARTE, 2006).

Durante um longo período de tempo, plantas têm sido avaliadas como fonte de produtos naturais para conservar a saúde humana, especialmente nas últimas décadas, com estudos intensivos para terapia natural. A propósito, o uso de componentes das plantas na área farmacêutica tem gradualmente aumentado no Brasil (BERTINI *et al.*, 2005).

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcaceae*, juntamente com os gêneros *Planococcus*, *Micrococcus* e *Stomatococcus*. Atualmente, o gênero *Staphylococcus* possui 33 espécies, sendo que 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. A principal espécie deste gênero é o *S. aureus*, que tem a forma esférica (são cocos), cerca de 1 µm de diâmetro, e formam grupos com aspecto de cachos de uvas. Importante patógeno envolvido na etiologia das infecções humanas, sendo encontrado, como microbiota normal, nas fossas nasais, virilha e axilas. É responsável

por diferentes tipos de infecções, a maioria infecções ligeiras da pele e tecidos moles, mas também é agente etiológico de formas graves de pneumonia, endocardites e sepsis (MENEGOTTO & PICOLI, 2007).

Encontrado com relativa frequência como membro da microbiota normal do corpo humano, o *Staphylococcus aureus* é uma das bactérias patogênicas mais importantes, uma vez que atua como agente de uma ampla gama de infecções, variando desde aquelas localizadas, geralmente superficiais, até algumas disseminadas, com elevada gravidade. As doenças causadas por esse microrganismo podem ser classificadas como somente superficiais mistas, tóxicas e invasivas (TRABULSI, 2008).

*Escherichia coli* é uma espécie da família *Enterobacteriaceae* extremamente heterogênea e complexa. Do ponto de vista de suas relações com o homem, podem-se distinguir três grandes grupos de *E. coli*: o grupo das cepas comensais que habita os nossos intestinos desde o nascimento até a morte, o grupo das cepas enteropatogênicas constituído de vários patótipos, ou seja, de conjuntos de amostras que causam infecções por mecanismos diversos e o conjunto das cepas patogênicas extra intestinais capazes de causar diferentes tipos de infecção (TRABULSI, 2008).

Os resultados de testes com discos de papel na década de 40, foram inicialmente interpretados pelo método determinado halo versus não-halo. O desenvolvimento de um halo de inibição era considerado evidência de sensibilidade do microrganismo ao antimicrobiano. As bactérias resistentes eram classificadas como tal quando cresciam exatamente até a borda do disco (KONEMAN *et al.*, 2001).

O princípio essencial do método de difusão em disco para as provas de sensibilidade antimicrobiana é determinar a dose responsável pela curva de crescimento dada por um determinado inóculo contra um dado antimicrobiano, seja ele um antibiótico, extrato vegetal ou composto isolado de um extrato (COLE, 1994; KONEMAN *et al.*, 2001).

Neste método, utilizam-se discos de papel impregnados com quantidades definidas do antimicrobiano. Estes discos são colocados em contato com a superfície úmida do ágar, já semeado com uma suspensão microbiana. A amostra é absorvida pelo papel de filtro e o seu conteúdo se difunde no meio circundante. Após a incubação, na placa semeada com a suspensão bacteriana, ocorre o desenvolvimento das células no ágar e, simultaneamente, a difusão do antimicrobiano. Na área onde o antimicrobiano é suficiente para impedir o crescimento do microrganismo, pode ser observado o halo de inibição (COLE, 1994; KONEMAN *et al.*, 2001).

Outro autor afirma que as zonas de inibição do teste de difusão em disco podem ser influenciadas por diversos fatores, dentre eles, a densidade do inóculo, o volume e concentração do antimicrobiano, e a duração do ensaio, pois há possibilidade do microrganismo desenvolver o processo de desintoxicação e/ou a alta difusão dos compostos, resultando em baixa concentração (COLE, 1994).

Quando os mecanismos de difusão e de produção de halos de inibição tornaram-se bem conhecidos, tornou-se evidente que os fatores que influem na velocidade de difusão *in vitro* não se correlacionam necessariamente com a atividade antimicrobiana *in vivo*. E a impossibilidade de se obter resultados quantitativos nas provas iniciais de sensibilidade com discos foi considerada uma desvantagem clara (KONEMAN *et al.*, 2001).

O diâmetro da zona de inibição é influenciado pelo poder de difusão do agente antimicrobiano através do ágar, que está relacionado com a solubilidade da substância teste (ESTRELA, 2000; PETRONE, 2004). O crescimento dos microrganismos sensíveis somente ocorrerá até a região que contiver a concentração de extrato suficiente à sua inibição (PETRONE BALDASSI; BIDOIA, 2004).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após os testes fitoquímicos e microbianos, foram feitas as análises e comparações com as bibliografias existentes e assim chegamos aos seguintes resultados comentados abaixo.

A triagem fitoquímica é uma análise fundamental para identificar as classes químicas da espécie, podendo a partir dos resultados encontrados, verificar as ações terapêuticas encontrada na planta medicinal. Outros fatores como armazenamento, temperatura, condições hídricas, radiação ultravioleta podem alterar a produção de nutrientes da planta (GOBBONETO; LOPES, 2007).

A prospecção fitoquímica é necessária para obter a caracterização dos metabólicos secundários, das espécies vegetais. Obtiveram-se os seguintes resultados mencionados na tabela 1.

**Tabela 1:** Análise fitoquímica dos Extratos aquosos.

Classe de fitoquímicos	<i>Hibiscus sabdariffa</i>
Flavonoides	+
Taninos	+
Saponinas	+

(+ e – indicam presença ou ausência do fitoquímicos, respectivamente)

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2018.

Segundo as análises por cromatografia realizadas por Adriana (2017), relata a presença de flavonoides, nos cálices do hibisco.

Estudos realizados por (Herrera-Arellano, 2004) também evidenciaram nas espécies do gênero *Hibiscus* têm relatado o efeito anti-hipertensivo, principalmente pela presença dos flavonóides.

Diversas funções são atribuídas aos flavonoides nas plantas, entre elas pode-se citar proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioleta e visível, além de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias, atraentes de animais com finalidade de polinização, antioxidantes, controle de hormônios vegetais, agentes alelopáticos e inibição de enzimas (SIMÕES, 2007).

A análise positiva para taninos condensados foi através da mudança para uma coloração verde, identificando sua classe. Os taninos são substância fenólicas solúveis em água, que se encontram distribuídas nas plantas superiores, esses compostos são responsáveis pela adstringência de frutos e plantas em geral, nesse sentido a ação biológica se dá através da complexação entre taninos e proteínas evidenciando assim, um controle de fungos e bactérias (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2002).

Para identificar saponinas foi retirada uma alíquota de 5 mL do extrato, colocando-a em um tubo de ensaio e agitou por 20 segundos, logo após deixou a solução em repouso, por 18 minutos.

Após o tempo estabelecido observou a formação de 1 cm de espuma persistente, isto ocorre segundo Simões (2007), porque o extrato possui saponinas (Figura 10).

Nesse sentido a análise corroborou com os estudos feitos por Simões (2007), onde a presença de espuma indica resultado positivo. Dessa forma percebe-se que as saponinas são precursoras na síntese de compostos esteróides como hormônios, contraceptivos, diuréticos, entre outros.

As plantas que contém saponinas são utilizadas também pela sua ação mucolítica, diurética e depurativa. Lembrando que, as saponinas favorecem a ação dos demais princípios ativos da planta, porém o seu excesso pode irritar a mucosa intestinal. No entanto a atividade hemolítica das saponinas faz parte do sistema de proteção do vegetal contra-ataque de predadores (insetos, vírus, fungos e bactérias), está ligada a muitas das atividades antibacteriana, antifúngica e espermicida. (LACAILLE-DUBOIS e WAGNER, 1996).

Após os testes utilizando o meio de cultura da bactéria *Staphylococcus aureus*, obteve-se os resultados dispostos na tabela abaixo e discutidos nos textos a seguir.

**Tabela 2:** Resultados obtidos das médias aritméticas dos halos de inibição para a bactéria *Staphylococcus aureus*.

CEPA	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Amicacina (AMI)	Ampicilina (AMP)	Cefalozina (CFZ)	Sulfazotrim (SUT)
<i>S. aureus</i>	28 mm	10 mm	(0)	(0)	30 mm
<b>Sensível</b>	Sim	Não	Não	Não	Sim

Interpretação preconizada pelo Manual para Antibiograma: Disco-difusão (Kirby e Bauer).

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2018.

Conforme análise da tabela 2 nota-se que para os antibióticos (AMP) E (CFZ) o halo de detecção foram de (0) milímetro; para o antibiótico (AMI) o halo atingiu um diâmetro de 10 milímetros, porém não se mostrou sensível (Figura 11).

Já para o extrato do *Hibiscus* e o (SUT) os diâmetros dos halos foram de 28 e 30 milímetros respectivamente, demonstrando, assim o resultado de sensibilidade da bactéria *S. aureus* para o extrato *in natura* do *Hibiscus S* (Figura 11), pois estudos realizados por Maciel (2012) confirmam a sensibilidade.

**Tabela 3 -** Resultados obtidos das médias aritméticas dos halos de inibição para a bactéria *Escherichia coli*.

Cepa	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Ciprofloxacino (CRO)	Meropenem (MPM)	Sulfazotrim (SUT)	Tetraciclina (TET)
<i>E. Coli</i>	34 mm	40mm	37mm	(0)	22 mm
<b>Sensível</b>	Sim	Sim	Sim	Não	Sim

Interpretação preconizada pelo Manual para Antibiograma: Disco-difusão (Kirby e Bauer).

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2018.

Conforme ilustra a tabela 3, o extrato *in natura* do *Hibiscus* apresentou sensibilidade à cepa de *Escherichia coli*. O antibiótico (SUT) o halo de detecção foi de (0) milímetro; já para os antibióticos

(CRO), (MPM) e (TET), seus halos atingiram um diâmetro de 40mm, 37mm e 22mm, respectivamente, mostrando assim sensibilidade (figura 12).

Quando se analisa o halo formado para o extrato do Hibiscus com 34 mm, de imediato percebe que o extrato evidencia sua sensibilidade à bactéria (figura 12).

Convém lembrar que os resultados obtidos dessa espécie demonstraram eficácia em ação bacteriana também nos estudos de (MACIEL, 2012, GOTLIEB, 1981; LIU *et al*, 2005; FULLERTON 2001).

Estudos realizados por Maciel (2012) evidenciam que o extrato alcoólico de cálices de *Hibiscus sabdariffa L.* foi testado como um agente antibacteriano diante dos microorganismos: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sporogenes*, *Pseudomonas fluorescens*.

Olaleye (2007) testou o extrato alcoólico de cálices de *Hibiscus sabdariffa L.* como um agente antibacteriano frente aos micro-organismos *Staphylococcus aureus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Clostridium sporogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas fluorescens*. O extrato obteve excelente atividade antibacteriana frente aos micro-organismos testados.

Entretanto, nessas análises realizadas o extrato do *hibiscus* apresentou grande eficácia sobre as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, podendo ser comparado sua atividade com os antibióticos Tetraciclina e Sulfazotrim.

Outro fator interessante é que a planta possui metabólitos secundários, que são capazes de produzir substâncias antibióticas, utilizadas como mecanismo de defesa contra predação por microorganismo, segundo (LIU *et al.*, 2005).

Portanto a presença desses constituintes ativos pode justificar sua eficácia na atividade antibacteriana. (FORMAGIO *et al.*, 2010).

A presença de taninos nos extratos vegetais é de grande importância. Conforme Guimarães-Beelen *et al.*, (2006). Um dos compostos químicos que é relatado com ação antibacteriana são os taninos, estudos realizados demonstraram que os eles inibem o crescimento bacteriano, provavelmente pela interação com a parede celular das bactérias, impedindo o transporte de nutrientes para a célula. (DESOTI, 2011).

Segundo Lopes e Gobbo-Neto (2007) a composição e a qualidade dos compostos bioativos variam conforme diversos fatores como a temperatura, idade da planta, solo, umidade, disposição ou falta de nutrientes, armazenamento, entre vários outros fatores. Verifica-se que o cultivo e os meios de extrações e de suma importância para que não possa influenciar nos compostos do metabolismo secundário.

Nesse sentido as atividades bactericidas e fungicidas ocorrem por três características gerais comuns aos dois grupos de taninos: complexação com íons metálicos; atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres; habilidade de complexar com outras moléculas, principalmente proteínas e polissacarídeos (MELLO; SANTOS, 2001).

Os extratos de diversas espécies da planta podem controlar o crescimento dos microrganismos relacionados à pele, à cárie dental, incluindo as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (SARTORATTO *et al.*, 2004).

Estudos realizados por Rauha *et al.*, (2000), demonstraram a atividade antimicrobiana de extratos de 29 espécies, comercializadas ou coletas em diferentes locais da Finlândia, ricos em flavonóides, frente a nove microrganismos, sendo esses efetivos contra Gram-positivos, como *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis*; e Gram-negativos como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*; e também fungos filamentosos, como *Aspergillus niger*, e leveduras como *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Nos dias atuais um dos problemas na saúde pública é a resistência aos antibióticos, os extratos vegetais podem proporcionar uma nova fonte terapêutica, conforme se verificou com o extrato do *H. sabdariffa*, pois o mesmo possui substâncias com uma ampla ação, incluindo a antibacteriana, sendo assim uma fonte alternativa para o controle das bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

## 5 CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos neste estudo com o extrato aquoso dos cálices do Hibiscus Sabdariffa foi possível chegar às seguintes conclusões:

1. A prospecção fitoquímica do extrato *in natura* dos cálices do *Hibiscus Sabdariffa L.*, demonstrou a presença de metabolitos secundários, tais como: flavonóides, taninos e saponinas, substâncias com grande potencial terapêutico.
2. As análises microbiológicas apresentaram-se efeito inibitório contra os dois microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, utilizando o método de difusão em disco. Onde obteve resultado satisfatório, tornando uma possibilidade riquíssima para a busca de novas drogas antimicrobianas.
3. Diante os resultados obtidos sobre a espécie *Hibiscus sabdariffa L.*, verifica-se grande potencial farmacológico.
4. Sugere-se que para próximas pesquisas sejam feitos testes quantitativos para outros metabolitos, devido benefícios já comprovados em trabalhos anteriores.

## REFERÊNCIAS

ADRIANA COSTA. **Estudo químico das pétalas, folhas, cálices e sementes de hibiscus sabdariffa L.**, 2017. Disponível em: <http://bdtd.uftm.edu.br/bitstream/tede/525/5/Dissert%20Adriana%20C%20Rodrigues.pdf>. Acesso: 12 de Setembro 2018.

ALEKSHUN, M. N., LEVY, S. B. **Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance**, Cell, v128, p1037-1050. 2007

- AMATO NETO, et al. **Antibióticos na Prática Médica**. 5. ed. São Paulo: Roca, 304 p. 2000.
- AMOROZO, Maria Christina de Mello. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Bot. Bras.** São Paulo, v. 16, n. 2, p. 189-203, 2002.
- ANDRADE S.F.; CARDOSO L.G.; BASTOS, J. K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.
- ARAÚJO, C.A.C.; LEON L.L. Biological activities of *Curcuma longa* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p.723-728, 2001.
- BADKE M.R. et al. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery**, v.15, n.1, p. 132-9, 2011.
- BARBOSA, W. L. R., QUINARD, E., TAVARES, I. C. C., PINTO, L. N., OLIVEIRA, F. Q., OLIVEIRA, R. M. **Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais. Edição Revisada. Centro de Ciências da Saúde – UFPA**, Belém. 2001.
- BAYER, C.; KUBITZKI, **Malvaceae**. In: The families and genera of vascular plants. **K.Springer**. Berlin, v. 5, p. 225-311, 2003.
- BENETT, R, N., WALSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defense mechanisms. **New Phytologist**, v.127, p.617-633, 1994.
- BERTINI, L. M.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, C. L. L.; MENEZES, E. A.; MORAIS S. M.; CUNHA, F. A.; CAVALCANTI, E. S. B. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **Revista Infarma**, v. 17, p. 80-83. 2005.
- BLACK, J. G. **Microbiologia: fundamentos e perspectivas**. 4º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 829 p, 2002.
- BOLZANI S. V., VIEGAS C.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2,p. 326-337, 2006.
- BOTSARIS A.S. e MACHADO P.V. Introdução à fitoterapia: momento terapêutico fitoterápicos. Rio de Janeiro. **Flora Medicinal**, p. 8-11, 1999.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Quarto Relatório Nacional para a Convenção Sobre Diversidade Biológica**. Brasil. MMA. Brasília. 248 p, 2011.
- BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.
- CALIXTO J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**. São Paulo, v. 55, n. 3 , p.38, set 2003.
- CAMPOS, M. da G. **Flavonóides: Farmacognosia e Fitoquímica**. Parte III. Capítulo 13. 3ª Edição. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian. 2010.
- CATÃO, R. M. R., BARBOSA-FILHO, J. M., GUTIERREZ, S. J. C., LIMA, E. O. L., FERREIRA, M. S. V., ARRUDA, T. A., ANTUNES, R. M. P. Avaliação da atividade antimicrobiana de riparinas sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* multirresistentes. **RBAC**, v 37, n. 4, p.247-249. 2005.

CHEEKE, P. R. **Actual and potential applications of Yucca schidigera and Quillaja saponaria saponins in human and animal nutrition.** In: American Society of Animal Science, Proceedings...Indianapolis: ASAS, p.1-10, 1999.

COLE, M.D. Key antifungal, antibacterial and anti-insect assays-a critical review. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 22, n. 8, pp. 837-856, 1994. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0305197894900892>>. Acesso em 15 novembro de 2018.

COUTO, M.E.O. **Coleção de plantas medicinais aromáticas e condimentares.** Pelotas, 2006.

COUTINHO, H.D.M., BEZERRA, D. A. C., LÔBO, K., BARBOSA, I. J. F. **Atividade antimicrobiana de produtos naturais.** **Conceitos**, jul 2003/jun 2004. Disponível em: <[http://www.adufpbjp.com.br/publica/conceitos/10/art\\_11.pdf](http://www.adufpbjp.com.br/publica/conceitos/10/art_11.pdf)>. Acesso em: 15 novembro 2018.

CUNHA, A. P.; BATISTA, M. T. **Taninos.** Livro: Farmacognosia e Fitoquímica. Parte III. Capítulo 14. 3ª Edição. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian. 2010. p. 292– 310.

CUNHA, A. P.; ROQUE, O. R. **A farmacognosia nos estudos farmacêuticos.** Livro: Farmacognosia e Fitoquímica. Parte I. Capítulo 1. 3ª Edição. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian. 2010..

CUNHA, A. P.; ROQUE, O. R. **Compostos fenólicos: características e origem biossintética: Farmacognosia e Fitoquímica.** Parte III Capítulo 10. 3ª Edição. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian. 2010.

DESOTI VC, MALDANER CL, CARLETTO MS, HEINZ AA, COELHO MS, PIATI D, TIUMAN TS. **Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do paraná.** Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR. 2011;15(1):3-13.

DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, v. 411, p. 843–847, 2001.

DUARTE, M.C.T. Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. **Multiciência**, n. 7, 2006. Disponível em:<[https://www.multiciencia.unicamp.br/artigos\\_07/a\\_05\\_7.pdf](https://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_05_7.pdf)>. Acesso em: 15 novembro 2018.

EMBRAPA Clima Temperado: **Hibisco:** do uso ornamental ao medicinal. Disponível em: <<http://www.embrapa.com.br>>. Acesso em 09 ago. 2011.

ESTRELA, C. R. A. **Eficácia antimicrobiana de soluções irrigadoras de canais radiculares.** 2000. 88f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e de Saúde Pública, Goiânia, 2000.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. Introdução à análise fitoquímica. In: Simões, C. M. O (org.). **Farmacognosia - da planta ao medicamento.** 4.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/UFSC, p.63-72. 2002.

FEITOSA C. M. et al. **Acetylcholinesterase inhibition by some promising Brazilian medicinal plants.** **Brazilian Journal of Biologi**, v.71, n.3, p. 783-789. 2011.

FILHO, R. B. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

FORMAGIO, A. S. N.; MASETTO, T. E.; VIEIRA, M. C.; ZÁRATE, N. A. H.; MATOS, A. I. N.; VOLOBUFF, C. R. F. Potencial alelopático e antioxidante de extratos vegetais. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, s. 2, p. 629-638, out., 2010.



FRANCIS, G.; KEREM, Z.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: a review. **British Journal of Nutrition** [online], v.88, p. 587–605, 2002. Disponível em: <[http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN88\\_06%2FS0007114502002349a.pdf&code=731524a7844a5fdf5eecd461067b11c3](http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN88_06%2FS0007114502002349a.pdf&code=731524a7844a5fdf5eecd461067b11c3)>. Acesso em: 15 de novembro 2018.

FREITAS N. M., SANTOS A. M. C. M. e MOREIRA L. R. M. O. Avaliação fitoquímica e determinação de minerais em amostras de *Hibiscus sabdariffa* L (vinagreira). **Cad. Pesq.** São Luís, v. 20, n. 3,, dez 2013.

FULLERTON, M.; KHATIWADA, J.; JOHNSON, J. U.; DAVIS, S.; WILLIAMS, L. L. Determination of antimicrobial activity of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) on *Escherichia coli* O157:H7 isolated from food, veterinary, and clinical samples. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 9, p. 950 – 956, 2011.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374-381, 2007.

GONÇALVES, A. L., ALVES FILHO, A., MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

GOTLIEB, O. New and underutilized plants in the americas: solution to problems of inventory through systematics. **Interciência**, v.6, n.1, p.22-29, 1981.

GUIMARÃES-BEELLEN PM, BERCHIELLI TT, BUDDINGTON R, BEELEN R. **Efeito dos taninos condensados de forrageiras nativas do semi-árido nordestino sobre o crescimento e atividade celulolítica de *Ruminococcus flavefaciens* FD1.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2006.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JR, W.C. **Diagnóstico microbiológico.** 5ª. Edição, Medsi: Rio de Janeiro, p. 1465, 2001.

LACAILLE-DUBOIS, M. A.; WAGNER, H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. **Phytomedicine**, v. 2, n.4, p. 363-386, 1996.

LIU, K.S.; TSAO, S.M.; YIN, M.C. In vitro antibacterial activity of roselle calyx and protocatechuic acid. **Phytotherapy Research**, v.19, p.942–945, 2005.

LUBIAN, C. T.; TEIXEIRA, J.M.; LUND, R.G.; NASCENTE, P.S.; DEL PINO, F.A.B. Atividade antifúngica do extrato aquoso de *Arctium minus* (Hill) Bernh. . (Asteraceae) sobre espécies orais de *Candida*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.12, n.2, p. 157-162, 2010.

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. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 71, n. 3, p. 462-70, 2012.

MAHADEVAN, N. *Hibiscus Sabdariffa* Linn. – An overview. **Natural Product Radiance**, v. 8, n. 1, p. 77-83, 2009.

McCALEB, R. S. **Hibiscus production manual.** [S.l.: s.n], 1998.

MELLO, J. C.P.; SANTOS, S. C. **Taninos. Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Ed. UFGRS/ Ed. UFSC, 3ª ed. cap. 24, p.517-543, Porto Alegre, 2001.

MENDES, J. M. **Investigação da atividade antifúngica de óleo essencial de *Eugenia coryophyllata* Thunb. Sobre cepas de *Candida tropicalis*.** 2011. 74f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e

Sintéticos Bioativos – Concentração: Farmacologia). Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2011.

MENEGOTTO, F.R.; PICOLI, S.U. Staphylococcus aureus oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital. **Rev. Bras. Anal. Clin.**, v. 39, n. 2, p. 147- 50, 2007.

MIMS, C.; PLAYFAIR, J.; ROITT, I.; WAKELIND, D.; WILLIAMS, R. **Microbiologia Médica**. 2ªed, p. 584. 1999.

NASCIMENTO, G.G.F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P.C.; SILVA, G.L. Antimicrobial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 4, p.247-256. 2000.

NOVAIS, T.S., COSTA, J.F.O., DAVID, J.P.L., DAVID, J.M., QUEIROZ, L.P., FRANÇA, F., GIULIETTI, A.M., SOARES, M.B.P., SANTOS, R.R. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl. 2, p. 05-08, 2003.

OBOUAYEBA, A. P.; DJYH, N. B.; DIABATE, S.; DJAMAN, A. J.; N'GUESSAN, J. D.; KONE, M.; KOUAKOU, T. H. Phytochemical and antioxidant activity of Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) petal extracts. **Research Journal of Pharmaceutical Biological Chemical Sciences**, v. 5, n. 2, p.1453-1465, 2014.

OLALEYE, M. T. Cytotoxicity and antibacterial activity of methanolic extract of Hibiscus sabdariffa. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.1, n. 1, p. 9-13, 2007.

OLIVEIRA C.J.; ARAÚJO T.L . Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 9, n. 1, p. 93-105, 2007.

PETRONE, R. R. C. B.; BALDASSI, L.; BIDOIA, E. Suscetibilidade de Clostridium perfringens aos extratos de Aristolochia gigantea Mart. e Zucc. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.71, supl., p. 559-561, 2004.

PIZARRO, A. P. B.; FILHO, A. M. O.; PARENTE, J. P.; MELO, M. T. V.; SANTOS, C. E.; LIMA, P. R. O aproveitamento do resíduo da indústria do sisal no controle de larvas de mosquitos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v.32, n.1, p. 23-29, 1999.

RAUHA J. P.; REMES S.; HEINONEN M.; HOPIA A.; KAHKONEN M.; KUJALA T.; PIHLAJA K.; VUORELA H.; VUORELA P. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 3-12, 2000.

RODRÍGUEZ-MEDINA, I. C.; BÉLTRAN-DEBÓN, R.; MOLINA, V.M.; ALONSOVILLAVÉRDE, C.; JOVEN, J.; MENÉNDEZ, J. A.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Direct characterization of aqueous extract of Hibiscus sabdariffa using HPLC with diode array detection coupled to ESI and íon trap MS. **Journal Separation Science**, v.32, p. 3441-3448, 2009.

ROSA, R.L.; BARCELOS, A.L.V.; BAMPI, G. Investigação do uso de plantas medicinais no tratamento de indivíduos com diabetes melitos na cidade de Herval D' Oeste – SC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.2, p. 306-310, 2012.

SANTOS, R. I. **Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários**. In: SIMÕES, C. M. O et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª ed. Porto alegre, Florianópolis: Ed UFRGS/ Ed. UFSC, p. 343-403, 2010.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELENA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 35, n.4, p. 275-280, 2004.

SIEDENTOPP, U. El regaliz, una planta medicinal eficaz para la tos y las efecciones de estómago. **Revista Internacional de Acupuntura**, v.2, n.2, 2008. Disponível em: [http://www.dr.siedentopp.de/\\_zeitschrift/Dietetica\\_elregaliz.pdf](http://www.dr.siedentopp.de/_zeitschrift/Dietetica_elregaliz.pdf). Acesso em: 05 outubro 2018.

SILVA, J.M.C.; RYLANDS, A.B.; FONSECA, G.A.B. O destino das áreas de endemismo da Amazônia. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 124-132, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 6<sup>ª</sup> ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Da Universidade Federal de Santa Catarina, 2010, 1102 p.

SOUSA, C. M. de M. et al. Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. **Química Nova**, v. 30. 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422007000200021&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422007000200021&script=sci_arttext)>. Acesso em: 05 outubro 2018.

TOLEDO et al., 2003 - TOLEDO, A.C.O. et al. **Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica**. **Rev. Lecta**, v. 21, n. 1/2, p. 7-13, 2003.

TRABULSI, L. R.; SILVA, D. C. V. da; CAMPOS, L. C. **MICROBIOLOGIA** 5ª Edição. São Paulo, 2008.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V.D.S.; BARREIRO, E.J. **Os produtos naturais e a química medicinal moderna**. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VIZZOTTO M., CASTILHO P. M. e PEREIRA M. C compostos bioativos e atividade antioxidante em cálices de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.). **Comunicado Técnico**, Pelotas-RS, n. 213, p. 1-7, 2009.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; SHERMA, J.; KOWALSKA, T. Thin layer chromatography in phitochemistry. **Chromatographic Science Series**, v. 99, 2008.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The Impact of Saponins or SaponinContaining Plant Materials on Ruminant Production - A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.21, p.8093–8105, 2005.

ZAPPI, Daniela C. et al. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015.

ZUANAZZI, J. Â. S; MONTANHA, J. A. **Flavonoides: Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Capítulo 23. 6ª Edição. UFRGS Editora. 1999. p. 577-602.