



***Análise fitoquímica e avaliação in vitro da ação antimicrobiana do extrato fluido de alecrim (Rosmarinus officinalis L.) e amélia (Hamelia patens Jacq.).***

Pamela dos Santos<sup>1</sup>, Edson José Mazarotto<sup>2</sup>, Paulo César Gregório<sup>2</sup>, Giane Favretto<sup>3</sup>

**ARTIGO ORIGINAL**

**RESUMO**

Na medicina popular, plantas e extratos vêm sendo utilizados pela população mundial para prevenir, curar e tratar diversas enfermidades, um costume que é tão antigo quanto a humanidade e vem sendo transmitido de geração em geração. O presente trabalho teve como intuito a análise fitoquímica e a avaliação da ação antimicrobiana do extrato aquoso e hidroalcolólico, obtidos das plantas *Hamelia patens* (Rubiaceae) e *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). Os extratos foram testados com *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 em concentrações de 10%, 20% e 30% (v/v). Os testes realizados através de difusão em disco, mostraram que as soluções hidroalcolólicas apresentaram um efeito inibitório contra as cepas testadas, podendo-se atribuir a ação antibiótica aos metabólitos secundários que através do *screening* fitoquímico das plantas, demonstraram grande relevância.

**Palavras-chave:** planta medicinal; extrato hidroalcolólico; metabólitos secundários.



## ***Phytochemical analysis and in vitro evaluation of the antimicrobial action of the fluid extract of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) and amelia (Hamelia patens Jacq.).***

### **ABSTRACT**

In popular medicine, plants and extracts have been used by the world's population to prevent, cure and treat various illnesses, a custom that is as old as humanity and has been passed from generation to generation. The aim of the present work was the phytochemical analysis and the evaluation of the antimicrobial action of the aqueous and hydroalcoholic extract, obtained from the plants *Hamelia patens* (Rubiaceae) and *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). The extracts were tested with *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 at concentrations of 10%, 20% and 30% (v/v). Tests carried out through disk diffusion showed that hydroalcoholic solutions had an inhibitory effect against the strains tested, and the antibiotic action could be attributed to the secondary metabolites that, through phytochemical screening of plants showed great relevance.

**Keywords:** medicinal plant; hydroalcoholic extract; secondary metabolites.

**Instituição afiliada** – <sup>1</sup>Universidade Campos de Andrade – Uniandrade. <sup>2</sup>Centro Universitário de Ensino, Ciência e Tecnologia do Paraná - UniEnsino. <sup>3</sup>Centro Universitário Internacional - Uninter.

**Dados da publicação:** Artigo recebido em 02 de Setembro e publicado em 12 de Outubro de 2023.

**DOI:** <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2023v5n5p884-899>

**Autor correspondente:** Paulo César Gregório - [paulocezargregorio@gmail.com](mailto:paulocezargregorio@gmail.com)



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

## **INTRODUÇÃO**

A utilização de plantas medicinais para o tratamento e prevenção de doenças é tão antigo quanto à humanidade (1). De acordo com FIRMO *et al.* (2011), todo vegetal que exerça ação terapêutica quando administrado em seres humanos ou animais por qualquer via ou forma farmacêutica é considerado medicinal (2).

Mesmo com o avanço da medicina e dos medicamentos alopáticos, a fitoterapia ainda é muito utilizada para o tratamento das enfermidades. Esse uso é maior em países subdesenvolvidos devido aos baixos indicadores de desenvolvimento socioeconômicos e a dificuldade no acesso a medicamentos, bem como, a fácil obtenção das plantas (3).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam-se da medicina popular na atenção primária à saúde, sendo que a maior parte envolve o uso de extratos de plantas ou seus princípios ativos. Das 25 mil plantas utilizadas na preparação de remédios em todo o mundo, estima-se que menos de 5% tenham sido objetos de algum tipo de estudo (4).

As plantas medicinais são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos. De forma similar aos microrganismos, produzem uma grande diversidade de compostos químicos, muitos dos quais se constituem em modelos para síntese de um grande número de fármacos (5), e podem ser classificadas por categorias, de acordo com sua ação sobre o organismo: estimulantes, calmantes, emolientes, fortificantes, ação coagulante, diuréticas, sudoríferas, hipotensoras, função reguladora intestinal, depurativas e reconstituintes (6).

Além da classificação por categoria, as plantas possuem características advindas de suas respectivas famílias. A família Lamiaceae da ordem Lamiales, compreende cerca de 200 gêneros e aproximadamente 3.200 espécies disseminadas em todo o mundo. Muitas delas possuem atividade biológica relatada na literatura (7). O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) que pertence a esta família, tem origem mediterrânea sendo hoje cultivado pelo mundo todo (8). Além de ser comumente empregado na culinária pelas suas propriedades antioxidantes e conservantes, vem sendo amplamente utilizado na medicina



popular no tratamento de dores de cabeça, epilepsia, doenças da circulação, estimulante digestivo, um leve analgésico e costuma ser utilizado como antiespasmódico na cólica renal e na dismenorreia, no alívio das perturbações respiratórias, protetor hepático, antidepressivo natural, vasodilatador e cicatrizante (8,10).

Estudos demonstraram que o óleo essencial de alecrim possui atividade antimicrobiana e inibitória frente a bactérias gram-negativas (*Salmonella* sp.), gram-positivas (*Mycobacterium intracellulare*) (12) e leveduras (*Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*) (11, 13). Também há relatos do extrato bruto de alecrim inibindo cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia Coli*, apresentando uma correlação direta entre a concentração do extrato e o percentual de cepas inibidas, sendo o *S. aureus* mais susceptível à atividade antimicrobiana de *Rosmarinus officinalis* (14).

Outra família muito importante, porém, pouco estudada é a Rubiaceae (15), sendo uma das maiores, com aproximadamente 10.700 espécies distribuídas em cerca de 637 gêneros (16). Em geral os vegetais da família Rubiaceae possuem indicações fitoterápicas para o combate a afecções hepáticas, anemias, asma, diarreia, má digestão, úlceras, amigdalites, doenças venéreas, inflamações, amebíase entre outras (17).

Pesquisas recentes têm demonstrado que os extratos de amélia (*Hamelia patens*), possuem propriedades bactericidas e antifúngicas (19). Os extratos aquosos e alcoólicos feitos das folhas são ativos contra *S. aureus* e o extrato aquoso da casca é ativo contra *E. coli* (18). A partir das folhas secas de amélia foram isolados dez metabólitos, sendo eles dois alcaloides, uma flavona, dois esteróis, um sesquiterpeno e quatro triterpenos (20). Estudos envolvendo *H. patens* revelam que a mesma tem poder cicatrizante sobre o epitélio lesado e propriedades antimicrobianas relevantes (19).

Devido à falta de estudos relacionados ao potencial antimicrobiano de amélia e da eficiência de extrato aquoso e hidroalcoólico de alecrim, o objetivo desse trabalho foi verificar o potencial de inibição dos extratos dessas plantas, frente as bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.



## **Material e Métodos**

### **1 Obtenção das plantas**

As amostras de alecrim foram obtidas comercialmente em Curitiba, enquanto as amostras de amélia foram cedidas pelo viveiro de mudas de plantas “Cipreste”, localizada no Estado de São Paulo. A secagem das plantas foi realizada em temperatura ambiente durante uma semana. Após este período, foi colocada em estufa a 50 °C por 8 horas para a obtenção de um teor-padrão de umidade de 20%, de acordo com a farmacopeia brasileira edição IV (2000) (21).

Após o processo de secagem da planta, tanto a amélia quanto o alecrim foram triturados em um processador com hélice, até a obtenção de um pó.

### **2 Preparo dos extratos**

#### *2.1 Extratos Aquosos*

Os extratos aquosos em concentrações de 10%, 20% e 30% (v/v), foram preparados pelo método de decocção, de forma a extrair os princípios ativos das plantas através da água em ebulição (21). Em um becker foram pesados 15 g da planta triturada e 85 g de água. Para que não houvesse perda de compostos voláteis, o becker foi fechado com vidro de relógio e deixado em constante ebulição da água por 15 minutos. Após a decocção os extratos foram filtrados com funil e algodão e envazados em frasco âmbar devidamente identificado e armazenados à temperatura de 4 °C.

#### *2.2 Extratos hidroalcoólicos*

Os extratos hidroalcoólicos em concentrações de 10%, 20% e 30% (v/v), foram obtidos por maceração da planta triturada em álcool 70% (21). Em um becker foram pesados 15 g da planta e 85 g de etanol 70% e deixados durante 7 dias em frasco de vidro âmbar à temperatura ambiente, com agitação esporádica do recipiente. Após este período o extrato foi filtrado com funil e algodão. Aproximadamente 20 ml dos extratos foram adicionados em placa petri e levados a secura, para posterior realização do screening fitoquímico e aferição das diluições em diferentes concentrações.

### **3 Screening fitoquímico**



A Identificação dos metabólitos secundários deu-se por meio de reações químicas características, através de precipitação, turvação e coloração, segundo protocolos específicos propostos por MORITA e ASSUMPÇÃO (1972)(22).

### *3.1 Teste para Agliconas Flavônicas*

Os extratos hidroalcoólicos de amélia e alecrim foram evaporados e ressuspensos em 2 ml de metanol 50% a quente. Após, foram adicionados em limalhas de magnésio e 0,5 ml de ácido clorídrico concentrado. Deixou-se em repouso por aproximadamente 15 minutos e observou-se o aparecimento da coloração avermelhada característica.

### *3.2 Teste para Alcaloides*

Os extratos foram solubilizados em 3 ml de ácido clorídrico 2% e divididos em três porções iguais, nas quais foram gotejadas aos poucos os reagentes de Mayer e Dragendorff. Observou-se a presença ou a ausência de precipitação.

### *3.3 Teste para Antraquinonas*

Colocou-se uma pequena quantidade das plantas trituradas (2 g) em tubo de ensaio e adicionou-se 5 ml de solução de hidróxido de amônio. Observou-se o aparecimento de uma coloração rósea ou avermelhada (reação de Bornträger).

### *3.4 Teste para Cumarinas*

Com o auxílio de um capilar, foram impregnadas duas gotas de aproximadamente 1cm de diâmetro em um papel de filtro. Em uma das amostras foi aplicada uma gota de solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,5 M. Em seguida, as manchas foram expostas a luz ultravioleta e observada a presença ou ausência de fluorescência azul ou verde.

### *3.5 Teste para Fenólicos Totais*

Foram colocados aproximadamente 5 ml dos extratos em tubos de ensaio e adicionado cloreto férrico. O aparecimento da coloração verde musgo característica, revela a positividade do teste.

### *3.6 Teste para Taninos*



Colocou-se em tubos de ensaio aproximadamente 5 ml dos extratos e levou-se à fervura em banho-maria. Após a adição de três gotas de solução de cloreto férrico 1% observou-se a presença ou ausência da coloração azul ou verde característica.

### 3.7 Teste para Triterpenoides e Esteroides:

Os extratos foram solubilizados em etanol. Acrescentou-se 10 ml de hidróxido de potássio 0,5 M, sendo submetido a refluxo por 1 hora. Os extratos foram filtrados e adicionou-se 20 ml de água destilada. Em seguida foram evaporados até a total remoção do etanol. As frações aquosas foram extraídas em funil de separação com éter etílico, por três vezes. As frações etéreas foram submetidas à reação de Liebermann-Burchard, que consiste na adição de anidrido acético e ácido sulfúrico concentrado.

### 3.8 Teste para Saponinas:

Os extratos hidroalcoólicos foram agitados por três minutos e foi observada a presença ou ausência de espuma persistente e abundante.

## 4 Microrganismos Testados

Para a pesquisa da atividade antibacteriana dos extratos aquoso e hidroalcoólico, das plantas alecrim e amélia, foram utilizadas cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC) das seguintes espécies: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027).

### 4.1 Meio de cultivo e Suspensão Microbiana

Para a inoculação das cepas testadas foi utilizado o meio comercial ágar Mueller Hinton (NEWPROV®). Este é um meio de cultura recomendado para a realização de antibiograma (teste de suscetibilidade), pela técnica de difusão de discos segundo o CLSI.

Para a padronização das cepas microbianas, inoculou-se as bactérias em caldo BHI (infusão cérebro-coração) à temperatura de  $35 \pm 2$  °C durante 24 horas. Após o período de incubação fez-se as diluições a fim de se obter uma turvação de  $1,5 \times 10^6$  UFC/mL equivalente a 0,5 na escala de McFarland (23).



#### 4.2 Avaliação Antimicrobiana por Difusão em Disco

Os ensaios com os extratos, aquoso e hidroalcolico foram realizados com nove repetições em dois períodos diferentes, pela metodologia de difusão em disco (23). As bactérias foram semeadas em placas de Petri contendo o meio Mueller Hinton ágar e discos de papel estéreis de aproximadamente 6 mm, foram embebidos com 20 µL dos tratamentos nas diluições de 10%, 20% e 30% (v/v). Como controle negativo utilizou-se discos embebidos em etanol 70% e como controle positivo utilizou-se o antibiótico Gentamicina®. Realizou-se a incubação a  $35 \pm 2$  °C por 24 horas para as bactérias. A avaliação da atividade antimicrobiana deu-se pela medição e comparação dos halos de inibição formados ao redor dos discos controle e tratamentos.

#### Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando SISVAR versão 5.6 build 86 (9). One-way ANOVA (análise de variância) no valor  $p < 0.001$  seguido pelo teste de Tukey como Post Hoc com  $p < 0.05$ , foi utilizado para determinar as diferenças significativas entre os resultados obtidos em cada experimento.

## RESULTADOS

### 3.1 Screening fitoquímico

O *screening* fitoquímico determinou os grupos funcionais de cada planta por diversas reações colorimétricas, precipitação ou de turvação. As Tabelas 1 e 2 apresentam respectivamente, os resultados obtidos da avaliação dos metabólitos secundários da amélia e do alecrim. Para a amélia todos os testes mostraram positividade perante os metabólitos secundários testados. Em contrapartida o alecrim apresentou positividade somente para agliconas flavônicas, fenólicos totais, taninos e saponinas.

**TABELA 1.** Classe de compostos detectadas na triagem de metabólitos secundários dos extratos aquoso e hidroalcolico de amélia.

Metabólitos Secundários	Extrato Aquoso	Extrato Hidroalcolico
-------------------------	----------------	-----------------------



Agliconas flavônicas	+	+
Alcaloides	+	+
Antraquinonas	+	+
Cumarinas	+	+
Fenólicos Totais	+	+
Taninos	+	+
Triterpenos e Esteróis	+	+
Saponinas	+	+

Nota: Teste positivo (+), não detectado (N/D).

**TABELA 2.** Classe de compostos detectadas na triagem de metabólitos secundários dos extratos aquoso e hidroalcolólico do alecrim.

Metabólitos Secundários	Extrato Aquoso	Extrato Hidroalcolólico
Agliconas flavônicas	+	+
Alcaloides	N/D	N/D
Antraquinonas	N/D	N/D
Cumarinas	N/D	N/D
Fenólicos Totais	+	+
Taninos	+	+
Triterpenos e Esteróis	N/D	N/D
Saponinas	+	+

Teste positivo (+), não detectado (N/D).

### 3.2 Avaliação da atividade antimicrobiana

Na avaliação antimicrobiana pela técnica de difusão em disco, não houve o desenvolvimento de halo de inibição para os extratos aquosos. A Tabela 3 demonstra os resultados obtidos com o extrato aquoso do alecrim e da amélia nas concentrações de 10%, 20% e 30% (v/v) realizada em nove repetições.

**TABELA 3.** Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos aquosos de alecrim e amélia em diferentes concentrações pelo método de disco difusão.

Extrato Aquoso	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Alecrim 10%	N/D	N/D	N/D
Alecrim 20%	N/D	N/D	N/D
Alecrim 30%	N/D	N/D	N/D
Amélia 10%	N/D	N/D	N/D
Amélia 20%	N/D	N/D	N/D

Amélia 30%

N/D

N/D

N/D

Nota: Não detectado - (N/D).

Em contrapartida, verificou-se que todos os extratos hidroalcoólicos inibiram a maioria das bactérias, com a formação de halos de inibição ao redor dos discos onde foram depositadas as soluções testadas. A Tabela 4 demonstra a inibição bacteriana frente aos extratos hidroalcoólicos da amélia e do alecrim nas concentrações de 10%, 20% e 30% (v/v).

**TABELA 4.** Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de Alecrim e Amélia em diferentes concentrações pelo método de disco difusão.

Extrato Hidroalcoólico	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Alecrim 10%	13,4 bc	9 b	N/D
Alecrim 20%	12,6 bc	10,1 b	N/D
Alecrim 30%	16,1 a	9,9 b	N/D
Amélia 10%	8,7 c	8,6 b	7,7 c
Amélia 20%	14,8 ab	11,9 b	12,8 b
Amélia 30%	8,1 c	9,7 b	12,5 b
Álcool 70% (C-)	2,6 d	3,8 c	2 d
Gentamicina (C+)	18,6 a	19,7 a	19,7 a

Nota: Valores representam diâmetro da zona de inibição em mm. Médias obtidas a partir de nove repetições onde as que apresentam letras semelhantes na mesma coluna, não diferem estatisticamente (ANOVA, Tukey a  $p \leq 0,05$ ). N/D: Não detectado.

## Discussão

A família Rubiaceae vem ganhando importância na pesquisa de metabólitos secundários por possuir forte atividade antimicrobiana. No presente estudo foi demonstrado um potencial antimicrobiano de grande relevância para o extrato hidroalcoólico de amélia frente as cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. Estudos realizados por ABUBACKER *et al.* (2013) demonstraram que o extrato aquoso das folhas, flores e frutos da amélia são potenciais agentes antifúngicos eficazes no controle de fungos patogênicos, resultando em 100% de inibição no crescimento para *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani* (24). SANABRIA-GALINDO *et al.* (1998) demonstraram que os extratos de amélia possuem atividade antimicrobiana frente *S. aureus* e *Bacillus subtilis* (19). De acordo com LORENZI



& MATOS os extratos aquosos e alcoólicos feitos das folhas secas da amélia são ativos contra *S. aureus* e o extrato aquoso da casca é mais ativo contra *E. coli* (18).

Há relatos da atividade antimicrobiana em outras espécies da família Rubiaceae. FIGUEIREDO *et al.* (2009) demonstraram que o extrato etanólico bruto das partes aéreas e das raízes de *Richardia brasiliensis*, apresentaram atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas esporuladas e não esporuladas, Gram-negativas e contra a levedura *C. albicans* (25). Um estudo conduzido por KHAN *et al.* (2001) mostrou que os extratos metanólicos das folhas e das raízes de *Psychotria microlabrasta* apresentaram amplo espectro de atividade antimicrobiana (26).

Tal atividade pode ser explicada por RIOS *et al.* (2006) que isolaram a partir das folhas da amélia, dez metabólitos secundários, sendo eles dois alcaloides, uma flavona, dois esteróis, um sesquiterpeno e quatro triterpenos (20), corroborando com os metabólitos secundários obtidos em nosso *Screening* fitoquímico. Considerando a riqueza de metabólitos da família Rubiaceae, o estudo fitoquímico de espécies que representam os gêneros dessa família é ainda pouco conhecido. Algumas espécies dessa família são denominadas como bioprodutoras de alcaloides, taninos, saponinas, esteroides, terpenos e flavonoides, além do que algumas espécies são de suma importância para a medicina tradicional ou popular (27).

No entanto, para o alecrim, vários estudos vêm sendo realizados para comprovação de sua ação antimicrobiana e a participação dos metabólitos secundários nesse cenário. Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com os dados achados por PORTE & GODOY (2001) que relatam a ação antimicrobiana do óleo essencial do alecrim contra *S. aureus*, pouca ação contra *E. coli* e nenhuma ação contra *P. aeruginosa*. O óleo essencial do alecrim também foi observado e constatou-se alta sensibilidade de bactérias Gram positivas, entre elas *S. aureus*, *Micrococcus* sp. e *Sarcina* sp. Entretanto, relatam ainda nenhum ou pouquíssimo efeito contra as bactérias Gram negativas, *Pseudomonas fluorescens*, *E. coli* e *Serratia marcescens* (29).

De acordo com SOUSA & CONCEIÇÃO (2007) o alecrim demonstrou atividade inibitória contra o *S. aureus* nas concentrações 100%, 50% e 25% a partir do extrato aquoso a 1%, mas não apresentou atividade na concentração



10%. Em relação às diluições do extrato hidroalcoólico 3%, somente foi visualizado halo de inibição na concentração 100% (28), o que não confere com os resultados obtidos em nosso trabalho, uma vez que não houve atividade inibitória a partir do extrato aquoso e apresentou halo de inibição nas concentrações de 10%, 20% e 30% a partir do extrato hidroalcoólico da planta. Concentrações de 40 mg, 20 mg e 10 mg de solução alcoólica do alecrim também foram testadas por LIMA et al. (2014) contra 35 cepas de *S. aureus* e 35 de *E. coli*, tendo como resultado a inibição de 60% das cepas testadas com solução de 40 mg, 20 mg inibiram 48,57%, 10 mg inibiram 14,28%. Para a *E. coli*, apenas as concentrações de 40 mg e 20 mg do extrato apresentaram capacidade de inibição, com 37,14% e 5,71% das cepas inibidas, respectivamente (14).

Levando-se em conta o fato das plantas não apresentarem resultados positivos a partir do extrato aquoso, nos permite dizer que os metabólitos que apresentam a referida atividade biológica, podem não ter sido extraídos em quantidades suficientes por este método. Assim, a água utilizada como solvente pode não ter sido apropriada para extrair determinadas classes de compostos, inviabilizando sua detecção por reações qualitativas.

Outro fator que não deve ser descartado é a idade e a época em que as plantas foram coletadas e processadas, pois estudos demonstram que a variação sazonal pode ter grande importância na quantidade e até mesmo na produção de alguns ativos, os quais não são produzidos constantemente durante o ano, diminuindo desta forma sua atividade (6).

## **Conclusão**

O alecrim e a amélia são plantas medicinais amplamente utilizadas por determinados grupos étnicos em todo o mundo. Os extratos hidroalcoólicos da amélia e do alecrim são antimicrobianos eficazes perante cepas bacterianas. A identificação do potencial antimicrobiano dos metabólitos secundários da amélia e do alecrim podem vir a colaborar na descoberta de novas moléculas para a fabricação de novas formulações de antibióticos, uma vez que há a escassez de moléculas para novos alvos antibiótico-terapêuticos.

## **REFERÊNCIAS**



1. Maciel MAM, Pinto AC, Veiga VF, Grynberg NF, Echevarria A. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim Nova*. 2002;25(3):429–38.
2. Firmo WDCA, Menezes VAM De, Passos CEDC, Dias CN, Alves LPL, Dias ICL, et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. *Cad Pesq*. 2011;18(n. especial):90–5.
3. Veiga VF, Pinto AC, Maciel MAM. Plantas medicinais: Cura segura? *Quim Nova*. 2005;28(3):519–28.
4. (OMS). OM da S. Cuidados primários de saúde. Relatório da conferência internacional sobre cuidados primários de saúde. Brasília: Organização Mundial da Saúde/Fundo das Nações Unidas para a Infância; Alma-Ata 1978. 1979;1979.
5. Simões CMO, Schenkel EP. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. *Rev Bras Farmacogn Brazilian J Pharmacogn* [Internet]. 2002;12(1):35–40. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v12n1/a05v12n1.pdf>
6. Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosman G et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, Porto Alegre: 2007.
7. Lima RK, Cardoso MG. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. *Rev Fitos*. 2007;3(3):14–24.
8. Penteadó JG, Cecy AT. Alecrim *Rosmarinus officinalis* L. Labiatae (Lamiaceae): uma revisão bibliográfica. 2006;1–7.
9. FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, 35: 1039-1042, 2011.
10. May A, Suguino E, Martins A., Barata LE., Pinheiro M. Produção de biomassa e óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em função da altura e intervalo entre cortes. *Rev Bras Plantas Med*. 2010;12(2):195–200.
11. Porte A., Godoy RLO. Propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. *Bol Cent Pesqui Process Aliment*. 2001;19(193–210):2001.
12. Hentz S, Santin N. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) contra *Salmonella* sp. *Rev Evidência* [Internet]. 2007; 7(2):93–100. Available from: <http://editora.unoesc.edu.br/index.php/evidencia/article/view/1863>.
13. Serpa R., Castelli RM., Bobrowski VL., RIBEIRO GA. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L.



- sobre patógenos veiculados por alimentos. An do XV Congr Iniciação Científica (XV CIC). 2006;15.
14. Lima A, Grosso E. Efeito Antimicrobiano do Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sobre Cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* Isoladas de Pacientes de um Hospital Escola do. ... Ciências Em Saúde [Internet]. 2014;(77). Available from: [http://200.216.240.50:8484/rcsfmit/ojs-2.3.3-/index.php/rcsfmit\\_zero/article/view/230](http://200.216.240.50:8484/rcsfmit/ojs-2.3.3-/index.php/rcsfmit_zero/article/view/230)
  15. Miatelo J. Biodiversidade e distribuição da família Rubiaceae no Distrito Federal e nos estados de Goiás e Tocantins; 2008.
  16. Islands USV, Vuono D. Inflorescência. Vol. 5. 2007. 259-460 p.
  17. Salvador E El, Salvador E. *Genipa americana*. (1759):543–6.
  18. Lorenzi H, Matos FJ de A. Plantas medicinais no Brasil : nativas e exóticas. Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2008.
  19. Sanabria-galindo A. Actmdad antimicrobiana In vitro de angiospermas colombianas. 1998;51(27):47–51.
  20. Rios MY, Aguilar-Guadarrama AB. Alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides de las hojas de *Hamelia patens* Jacquin (Rubiaceae). *Rev Cuba Plantas Med*. 2006;11(1):1–5.
  21. Farmacopeia Brasileira, 4º edição Parte 1. 1998.
  22. Morita T, Assumpção R. Manual de Soluções, Reagentes e Solventes. 2nd ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda; 1972.
  23. Koneman E, Junior WW, Jands W, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Diagnóstico microbiológico. 6th ed. RIO DE JANEIRO; 2006.
  24. Abubacker MN, Sathya C, Prabakaran R. In vitro antifungal potentials of *Hamelia patens* Jacq. (Rubiaceae) aqueous extracts of leaves, flowers and fruits. *Biosci Biotechnol Res Asia*. 2013;10(2):699–704.
  25. Figueiredo ADL, Bustamante KGL, Soares ML, Pimenta FC, Bara MTF, Fiuza TS, et al. Avaliação da atividade antimicrobiana das partes aéreas (folhas e caules) e raízes de *Richardia brasiliensis* Gomez (Rubiaceae). *Rev Ciencias Farm Basica e Apl*. 2009;30(2):193–6.
  26. Kan MR, Omoloso A. Antimicrobial activity of extractives of *Sarcocephalus coadunatus*. *Fitoterapia*. 2003;74(7–8):695–8.
  27. Garcia DR, et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. 2007;185–92.
  28. Sousa TMP de, Conceição DM. Atividade antibacteriana do alecrim (



*Rosmarinus officinalis* L.). 2005;(15):7–13.

29. Porte a, Godoy R. Alecrim ( *Rosmarinus officinalis* L. ): Propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. Bol do Cent Pesqui e Process Aliment. 2001;19:193–210.