



ESTUDO FITOQUÍMICO E ANTIBACTERIANO DO EXTRACTO DE *Melia azedarach* FRENTE À *Escherichia coli*
PHYTOCHEMICAL AND ANTIBACTERIAL STUDY OF THE EXTRACT OF *Melia azedarach* IN FRONT OF *Escherichia coli*

Natalino Manuel Rapieque¹.

Alfredo Bartolomeu¹.

Neivaldo Murrube².

Izaquiel Anselmo³.

¹Universidade Rovuma, Moçambique;

²Universidade Lúrio, Moçambique;

³Hospital Central de Nampula, Moçambique.

RESUMO

Actualmente, vários estudos são realizados para testar actividade antibacteriana de várias plantas medicinais, na tentativa de desenvolver novos antibióticos ou fármacos que sejam mais eficazes no combate das doenças. As infecções causadas por espécies do género *Escherichia* representam uma das principais causas de infecções diarreicas. Por isso, há uma demanda para criar novos fármacos de origem natural para minimizar essa resistência. Diante deste exposto, nesse estudo objectiva-se avaliar a composição química e a actividade antibacteriana do extracto das folhas de *Melia azedarach* frente a *Escherichia coli*. Para a efectivação do trabalho, foram realizados testes fitoquímicos no Laboratório de etnobotânico e fitoquímica da Universidade Lúrio e foram realizadas análises clínicas do extracto das folhas de *M. azedarach* no laboratório de microbiologia de Hospital Central de Nampula. Os resultados apontaram que o extracto etanólico das folhas *M. azedarach* usado para o teste por reacções químicas possui as seguintes classes de metabólicos secundários: Taninos, saponinas e triterpenóides e ausência dos alcalóides. Os testes de sensibilidade do extracto das folhas de *M. azedarach* frente a *E.coli* nas seguintes concentrações: Extracto Puro, C1/1 (1mL do extracto/1mL de solvente extractor), C1/2 (1mL do extracto/2mL de solvente extractor) e C1/8 (v/v), segundo o método de difusão em ágar (método de Kirby-Bauer) revelaram a: ausência de halos de inibição em todas concentrações testadas. Conclui-se que o extracto etanólico das folhas da *M. azedarach* possui as seguintes classes de metabólitos: Taninos, saponinas, triterpenóides e não possui actividade antibacteriana frente a *E. coli*.

Palavras-chave: Análise fitoquímica, Actividade antibacteriana, Extracto de *Melia azedarach* L, *Escherichia coli*.



ABSTRACT

Currently, several studies are carried out to test the antibacterial activity of various medicinal plants, in an attempt to develop new antibiotics or drugs that are more effective in combating diseases. Infections caused by species of the genus *Escherichia* represent one of the main causes of diarrheal infections. Therefore, there is a demand to create new drugs of natural origin to minimize this resistance. Given this, this study aims to evaluate the chemical composition and antibacterial activity of the extract of *Melia azedarach* leaves against *Escherichia coli*. To carry out the work, phytochemical tests were carried out at the Laboratory of Ethnobotanical and Phytochemistry at Lurio University and clinical analyzes of the extract of *M. azedarach* leaves were carried out in the microbiology laboratory of Hospital Central de Nampula. The results showed that the ethanol extract of *M. azedarach* leaves used for testing by chemical reactions has the following classes of secondary metabolites: tannins, saponins and triterpenoids and absence of alkaloids. Sensitivity tests of the extract of *M. azedarach* leaves against *E.coli* at the following concentrations: Pure Extract, C1/1 (1mL of extract/1mL of extracting solvent), C1/2 (1mL of extract/2mL of extracting solvent) and C1/8 (v/v), according to the agar diffusion method (Kirby-Bauer method) revealed the absence of inhibition halos at all concentrations tested. It is concluded that the ethanol extract of *M. azedarach* leaves has the following classes of metabolites: Tannins, saponins, triterpenoids and does not have antibacterial activity against *E. coli*.

Keywords: Phytochemical analysis, Antibacterial activity, *Melia azedarach* L extract, *Escherichia coli*.

O presente estudo não teve financiamento.



INTRODUÇÃO

Desde os tempos antigos a civilização humana utiliza os vegetais não só como fonte alimentar, mas também medicinal. As mais diversas enfermidades são e têm sido tratadas com a preparação dos extractos a partir de plantas. Esses extractos têm sido preparados na forma de chás, sucos, tinturas e banhos. Sendo que as plantas medicinais são usadas pelas populações como uma alternativa para a cura de diversas doenças, elas actualmente têm contribuído como fonte principal na pesquisa de vários compostos bioactivos e fitoquímicos.

Esses compostos proporcionam uma grande possibilidade de se obter uma molécula protótipo devido à sua diversidade na presença de constituintes químicos com uma complexidade estrutural e potência biológica (Yunes & Calixto, 2001; Clardy & Walsh, 2004).

A utilização de plantas para o tratamento de doenças que acometem os seres humanos é uma prática milenar e que ainda hoje aparece como o principal recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. É nesta vertente que actualmente a flora terrestre e aquática são consideradas um verdadeiro laboratório biossintético capaz de produzir uma grande variedade de substâncias complexas. “A OMS indica que entre 70% a 95% da população nos países em desenvolvimento, principalmente Ásia, África e América Latina, dependem de terapias alternativas, como o emprego de plantas medicinais, na atenção básica de saúde” (Ferreira, 2018).

Importa referir que Moçambique é um dos países em via de desenvolvimento, e essa prática da medicina tradicional se faz sentir para o controle de algumas doenças tais como as diarreias e outras, visto que o país apresenta uma enorme diversidade de plantas.

Os fitofármacos têm sido preparados e administrados de forma empírica, com falta de critério e conhecimento de efeitos farmacológicos. A população moçambicana não constitui excepção a esta regra apesar de possuir certo conhecimento das plantas medicinais porém



ainda é empírico e não formal. Apesar do advento e da expansão da medicina formal no país, existe ainda uma grande dependência nos preparados feitos pelos praticantes da medicina tradicional para a cura de doenças (Simone, 2001).

Deste modo, o Governo de Moçambique, em colaboração com parceiros nacionais e internacionais, fomenta a realização de pesquisas que contribuem para o melhor conhecimento das práticas médicas e avaliação de medicamentos tradicionais, bem como a potenciação do ensino superior a desenhar actividades de formação e investigação nas áreas de medicina e farmacologia tradicional (MISAU, 2004).

Uma das espécies utilizadas pela medicina tradicional de Moçambique é *Melia azedarach* L (cinamomo), pertence à família Meliaceae. Segundo Cronquist (1981) essa planta é classificada como pertencente à ordem Sapindales e gênero *Melia*. Trata-se de uma árvore com altura superior a 10 m, com folhas alternadas, longo-pecioladas, glabras, bipinadas, com folíolos ovais ou lanceolados e agudos. Possui limonóides (tetranotriterpenóides), que têm como precursor um triterpeno que perde quatro carbonos ao originá-lo. Além disso, os extractos de folhas e de sementes de cinamomo contêm cerca de quatro compostos activos, dos quais, azadiractina, salanina, meliantriol e nimbim são os principais e que possuem comprovada acção insecticida (Takeya *et al*, 1996).

Segundo Matias *et al*, (2002) além dos limonóides, outras classes de metabólitos (triterpenóides e esteróides, alcalóides, proteínas, fenóis e fitoesteróis) também estão presentes nos órgãos de *M. azedarach*. No continente Africano encontra-se distribuída por quase toda a África sub saariana, vinda da Índia como árvore ornamental. Na região austral, África do sul, Moçambique e Suazilândia e conhecida como “seringa”, “maksering”, “margosa” (Agroforestrytree, 2009 apud Cala, 2010).

Testes *in vitro* realizados com extractos ricos em taninos ou com taninos puros têm identificado diversas actividades biológicas dessa classe de substâncias. Estudos apontam que dentre essas actividades podem-se citar: acção bactericida e fungicida, antiviral, moluscicida,



inibição de enzimas e acção antitumoral (Simões *et al*, 2007). Propriedades terapêuticas, insecticidas, tóxicas e outras são atribuídas ao *M. azedarach*, algumas com fundamentação científica e outras com base no conhecimento popular. As partes utilizadas da planta são a casca da raiz, casca do tronco, folhas, flores, frutos e sementes (Vieira & Fernandes, 1999).

Tendo em consideração os aspectos referenciados nas literaturas acerca das propriedades bioactivas da espécie, pode-se consagrar uma alternativa para minimizar ao problema de resistência bacteriana aos antibióticos que é considerada como um conjunto de mecanismos de adaptação que faz com que a bactéria resiste a acção dos fármacos aos quais estão sendo expostos (Bertoncheli *et al*, 2008; Nogueira *et al*, 2017 apud Kiza, 2020).

Actualmente, a resistência bacteriana está associada a diversos ambientes para além de ocorrer em ambientes hospitalares, pode atingir indivíduos saudáveis (Guimarães *et al*, 2010). Segundo Fernandes (2006), o uso da terapia combinada ou associada é uma alternativa que pode ser adoptada na tentativa de resolver o problema da resistência bacteriana (Fernandes apud Kiza, 2020).

Entretanto, o uso excessivo e não apropriado dos antibióticos, más condições de higiene, fluxo contínuo de viajantes, o aumento de pacientes imuno comprometidos e a demora no diagnóstico das infecções bacterianas têm favorecido o aumento da resistência (Guimarães *et al*, 2010). Desta forma, a utilização de extractos vegetais tem sido um bom caminho para a pesquisa de novas drogas contra microrganismos indesejáveis, visto que alguns destes já se encontram resistentes aos fármacos sintéticos de última geração lançados no mercado (Bonella *et al*, 2011).

A espécie *E. coli* é a mais comum e clinicamente importante do género, causadora de mais de 80% de todas as infecções do trato urinário adquiridas na comunidade, assim como muitas infecções hospitalares, e gastroenterite em países em desenvolvimento (Murray *et al*, 2010; Nogueira *et al*, 2009). De acordo com Nogueira *et al* (2009), este microrganismo é



bacilo Gram-negativo classificado como um fermentador da lactose, anaeróbio facultativo e oxidase-negativo (Nogueira *et al* apud Kiza, 2020).

Em Moçambique as doenças diarreicas são uma realidade muito verificada, visto que a diarreia é uma doença comum em países em desenvolvimento, particularmente na África subsahariana, devido a problemas de saneamento, acesso a água potável e higiene. Estima-se que 2,5 bilhões de pessoas carecem de instalações de saneamento, e quase um bilhão de pessoas não têm acesso à água potável (WHO, 1992). E em vários estudos, já foi constatada a resistência deste agente patogénicos a antibiótico de primeira escolha, incluindo cloranfenicol e ampicilina. Pois é um dos principais causadores de doenças diarreicas, que são a segunda causa principal de mortalidade infantil em todo mundo (Sigauque *et al*, 2015).

Devido ao crescimento da resistência bacteriana, há uma demanda para criar novos fármacos de origem natural para minimizar essa resistência. Assim o objectivo desse estudo é avaliar a composição química e a actividade antibacteriana do extracto das folhas de *Melia azedarach* frente a *Escherichia coli*.

MATERIAL E MÉTODOS

Colecta do material vegetal

As folhas de *Melia azedarach* foram colectadas na cidade de Nampula, província de Nampula, no bairro de Murrapaniua 1, no dia 01 de dezembro de 2020, pelas 5:00 h da manhã. A identificação da espécie *M. azedarach* foi realizada comparando as características desta com outras espécies existentes nas literaturas (herbário escolar, localizada em Madrid, no Museo Nacional de Ciencias Naturales, número 31-V-934). O corte das folhas foi feito com auxílio de faca, depois foram condicionadas num saco limpo e por fim encaminhadas para o laboratório de etnobotânica e fitoquímica da Universidade Lúrio-Nampula para secagem (Menezes Filho & Castro, 2019).



Depois o material vegetal foi submetido a um pré-tratamento, onde as folhas foram imersas em solução de hipoclorito de sódio a 10% por tempo de 20 minutos, para eliminar alguns interferentes patogênicos. A secagem foi realizada ao abrigo do sol, a uma temperatura ambiente, por um período de 5 dias, depois de trituradas e peneiradas, obteve-se 814g gramas do pó fino e homogêneo (Simões *et al*, 2007).

Obtenção do extrato vegetal

A preparação do extracto vegetal foi realizada no laboratório de etnobotânico e fitoquímica da Faculdade de Ciências de Saúde da Universidade Lúrio, cidade de Nampula. Através do método de maceração, 814 gramas do pó das folhas secas foram deixadas em contacto com 12,210 litros de etanol a 50%, na proporção de 1/25 g/mL e, ocasionalmente agitada durante 7 dias, num ambiente seco, sem luz directa e a temperatura ambiente. Posteriormente, filtrou-se com coador, por três vezes, e obteve-se o extracto etanólico (Simões *et al*, 2007; Goes *et al*, 2016). O extracto etanólico foi submetido ao evaporador rotatório à pressão reduzida e a temperatura de 78,5° C, durante 3 horas para evaporação de etanol.

Testes qualitativos de identificação de metabólitos secundários

O extracto bruto de *M. azaderach*, foi submetida às análises fitoquímicas, para a identificação das seguintes classes de metabólitos secundários: triterpenóides, taninos, saponinas e alcalóides em duplicatas. Os reveladores que foram utilizados, foram específicos para cada classe de metabólitos pesquisados.

Testes para identificação de Triterpenóides

Quanto ao teste de triterpenóides, 2mL do extracto bruto foi transferido para um tubo de ensaio, adicionado 1mL de ácido acético e agitado suavemente. 20 gotas de H₂SO₄ concentrado foi introduzida e a solução agitada suavemente de novo. Rápido desenvolvimento de cor verde persistente evidenciou a presença de triterpenóides (Bonella, *et al*, 2011).



Testes para identificação de Taninos

No teste para taninos, 2mL do extracto bruto foi transferido para um tubo de ensaio, adicionado 10 mL de água destilada e foi filtrado. 20 gotas, utilizando a pipeta de Pasteur, foi adicionado uma solução de cloreto férrico a 10%. A possível coloração azul indicou a presença de taninos hidrolisáveis (Silva e Lima, 2016).

Testes para identificação de Saponinas

Quanto ao teste de saponinas, 2mL do extracto bruto foi transferido para um tubo de ensaio, adicionado 5,0 mL de água destilada, agitado vigorosamente por 2 a 3 minutos e deixado em repouso por 20 minutos (Silva e Lima, 2016). A presença de espuma persistente e abundante indicou a presença de saponinas.

Testes para identificação de Alcalóides

Para análise de alcalóides, seguiu conforme descrito por Menezes Filho e Castro (2019). Onde 2 mL de extracto bruto foi acrescido com 3 mL de uma solução aquosa de HCl 10% (m/v). Em seguida adicionou-se 20 gotas de reactivo de Wagner (1,27 g de I₂ e 2 g de KI diluído em 5 mL de água destilada, completando-se para 100 mL). A solução foi homogeneizada manualmente por 1 minuto. Não houve formação de uma leve turbidez ou precipitado no fundo do tubo, e não apresentou coloração (roxa a alaranjada, ao branco, creme e marrom) evidenciando a não presença de alcalóides (Barbosa *et al*, 2008).

Avaliação antibacteriana

A avaliação antibacteriana do extracto etanólico das folhas de *M. azedarach* foi realizada em duplicata usando o método de difusão em ágar (método de Kirby-Bauer), no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Nampula, no sector de Microbiologia. Preparou-se a suspensão das bactérias com NaCl a 0,9%, com densidade próxima a escala padrão nº 0,5 de Mac Farland. Depois, pela técnica de lençol fez-se a semeadura da suspensão em ágar Muller Hington. Em seguida, fez-se a impregnação, em triplicata, dos discos de papel de filtro de 0,4cm de diâmetro, com as concentrações de 100%



(Concentração pura), C1/1 (v/v), C1/2 (v/v), e C1/8 (v/v), do extracto etanólico das folhas de *M. azedarach*. Os meios de culturas foram distribuídos em placas de Pétri de 90 mm de diâmetro, e estas foram incubadas a 37°C por 24h para verificar a esterilidade.

Preparação dos discos

Na preparação dos discos usou-se o papel de filtro limpo "Whatman no 1". Os discos foram acondicionados nas placas de Petri impregnados com soluções de diferentes concentrações de extracto previamente preparados, usando um micro pipeta com volume de 1000 µL para cada disco. Após a impregnação, os discos foram secos em estufa a 37 °C e conservaram-se num frigorífico a 4°C. Estes discos foram usados para a determinação de sensibilidade.

Teste de sensibilidade ao antibacteriano

Após a preparação das placas com meios de cultura contendo Ágar Mueller Hinton (AMH) para bactéria, seguiu-se a sementeira do respectivo microrganismo e a repicagem. Para o controlo positivo utilizou-se Amoxicilina e para controlo negativo etanol a 50%. Após a incubação, fez-se a determinação dos diâmetros dos halos em milímetros com ajuda de uma régua milimétrica (Gadea, 2008; Xavier, 2019; Amparo, 2018). Este procedimento preliminar teve como objectivo de identificar se o extracto foi activo ou não contra o microrganismo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise dos testes fitoquímicos ao extracto de *M. azedarach*

Os testes fitoquímicos preliminares do extracto etanólico das folhas da planta *Melia azedarach* revelaram a presença de taninos, saponinas e triterpenóides e ausência de alcalóides (**Quadro 1**). A presença das três primeiras classes converge com a vasta informação sobre a química de *M. azedarach* onde, conforme Matias *et al* (2002), os triterpenos são os precursores dos limonóides, classe química activa contra insectos existentes em espécies de Meliaceae e que dá o sabor amargo a essa espécie.



As plantas que possuem limonóides apresentam, além da actividade insecticida, muitas outras aplicações como antitumorais, antifúngicas, bactericidas e antivirais, o que sugere o papel deles na defesa das plantas contra determinados microrganismos (Champagne *et al*, 1992). A ausência dos alcalóides pode ser devido a ausência dos reagentes de reconhecimento e a falta das condições necessárias para a preparação do reagente de Wagner, o reagente usado para a identificação dessa classe de metabólitos secundários.

A época da colecta da planta, o ritmo circadiano, desenvolvimento, temperatura, pluviosidade, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica, idade da planta, estímulos mecânicos ou ataque de patógenos podem ser os factores que influenciaram para ausência dos alcalóides (Gobbo-Neto *et al*, 2007).

A presença e a ausência de alguns metabólitos secundários está em consonância com alguns resultados encontrados na literatura científica. Segundo Archanjo *et al* (2012) ao realizarem a análise fitoquímica de extracto das folhas de *M. azedarach* foram constatadas a presença de taninos, triterpenóides, saponinas e ausência de alcalóides. Os estudos acima referenciados mostram um pouco de divergência com os estudos realizados por Araújo *et al* (2009), que revelaram a identificação dos seguintes compostos: triterpenos, esteróides e alcalóides nas falhas do cinamomo utilizando metanol como solvente.

Quadro 1: Análise fitoquímica do extracto das folhas de *Melia azedarach*

Classes de metabólitos secundários	Extracto das folhas de <i>Melia azedarach</i>
	E.EtOH
triterpenóides	+
Taninos	+
Saponinas	+
Alcalóides	-

E.EtOH-Extracto etanólico. Ausência do composto (-) / Presença do composto (+).

Fonte: (Adaptado pelo autor 2021).



Análise dos testes da actividade antibacteriana

Em relação a actividade antibacteriana realizada no extracto etanólico das folhas de *M. azedarach* frente a *E.coli* nas seguintes concentrações: Extracto puro, C1/1 (v/v), C1/2 (v/v), e C1/8 (v/v), revelou que não houve nenhum halo de inibição em todas concentrações testadas (**figura 1**). Esse resultado não condiz com o que foi encontrado na abordagem fitoquímica, onde se tem a presença de compostos triterpenóides e taninos, sendo que estes têm actividade antibacteriana (Simon *et al*, 2008).

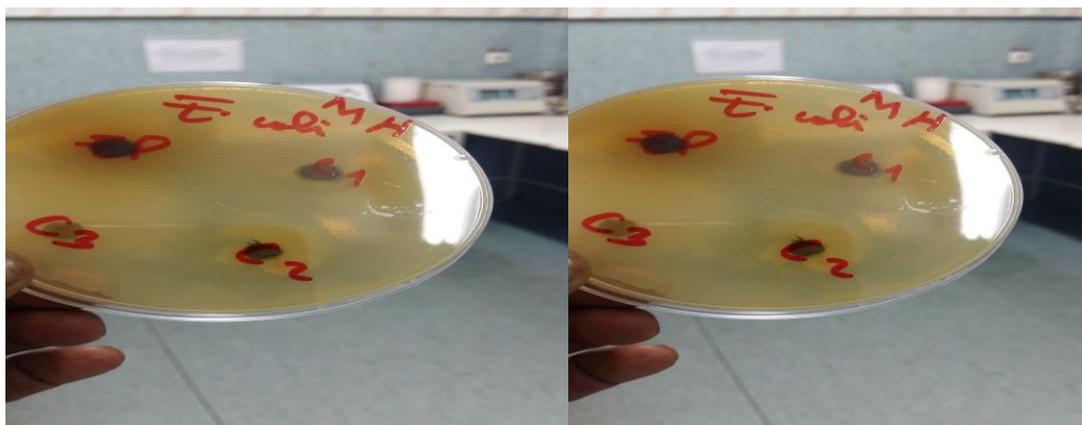


Figura 1: Ilustração do resultado do teste de sensibilidade de *Melia azedarach* frente a *E.coli* (Fonte: Adaptado pelo autor 2021).

O microrganismo testado foi considerado resistente visto que não se observou nenhum halo de inibição do extracto etanólico em todas concentrações preparadas, e sensível para o controlo positivo, visto que os halos de inibição foram de 21 a 19 mm, onde a media final dos halos é 20 ± 1 (**Quadro 2**).



Quadro 2: Resultados dos testes antibacterianos de extracto de folhas de *Melia azedarach* pelo método de difusão em disco nas concentrações: extracto Puro, C1/1 (v/v), C1/2 (v/v) e C1/8 (v/v) (Halos de inibição em mm).

Diâmetro dos halos de inibição (mm)

Concentrações	Forma do extracto EtOH	do Controle (Amoxicilina)	positivo	Controle Negativo (Etanol a 50%)
C1:1/1	0.0±0.0			
C2:1/2	0.0±0.0			
C3:1/8	0.0±0.0			
EP: 1ml do extracto puro	0.0±0.0	20±1		0.0±0.0

Fonte: autor, 2021.

Nota: (C) concentração; ± desvio padrão

Diversos trabalhos têm descrito esta planta como possuidora de inúmeras propriedades, como actividade anti-fúngica (Carpinella *et al*, 1999), insecticida (Gajmer *et al*, 2002), anti-viral, anti-malária (Khan *et al*, 2001). Na medicina popular suas raízes, caule, folhas, frutos e flores têm sido amplamente empregados contra uma variedade de doenças. Suas folhas e flores são usadas para aliviar dores de cabeça e, mais especificamente, suas folhas são utilizadas como anti-helmíntico, anti-lítico, diurético na Índia e na China (Oelrichs *et al*, 1983).

É utilizada também em doenças de pele, dor estomacal, desordens intestinais, doenças uterinas e cistites, bem como diurético e febrífugo (Khan *et al*, 2001). Além disso, *M. azedarach* tem sido avaliada também contra *Rhodnius prolixus* (Cabral *et al*, 1996), *Triatoma infestans* Klug *Oncopeltus fasciatus* (Cabral *et al*, 1999) e parasitos gastrointestinais.

Khan *et al* (2001), testando a actividade anti-microbiana dos extractos das folhas, caule e raiz da *M. azedarach*, observaram um alto espectro de actividade anti-bacteriana do



extracto metanólico contra *Bacillus coagulans*, *Enterobater aerogenes*, *Proteus mirabillis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*. A actividade aumentou com o fraccionamento, particularmentena fracção diclorometano extraída do caule. Porém, não foi verificada actividade contra os fungostestados. O extracto etanólico obtido dos frutos maduros da *M. azedarach* apresentou acção fungistática e fungicida contra *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, *Microsporium*.

Testes *in vitro* realizados com extractos ricos em taninos ou com taninos puros têm identificado diversas actividades biológicas dessa classe de substâncias. Estudos apontam que dentre essas actividades podem-se citar: acção bactericida e fungicida, anti-viral, moluscicida, inibição de enzimas e acção anti-tumoral (Simões *et al.*, 2007). Propriedades terapêuticas, insecticidas, tóxicas e outras são atribuídas ao *M. azedarach*, algumas com fundamentação científica e outras com base no conhecimento popular. As partes utilizadas da planta são a casca da raiz, casca do tronco, folhas, flores, frutos e sementes, (Vieira & Fernandes, 1999).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições do estudo, conclui-se que o extracto etanólico das folhas da *Melia azedarach* possui os seguintes compostos fitoquímicos: Taninos, saponinas, triterpenóides e não possui actividade antibacteriana frente à *Escherichia coli*. O estudo trás uma contribuição científica, especialmente por se tratar de uma espécie vegetal Africana, utilizada e indicada pelo conhecimento tradicional. Apresentou um resultado diferente do indicado tradicionalmente, como gastroenterite, e de outros estudos com outros tipos de extractos. Sugere-se que, pesquisas dessa natureza continuem sendo feitas para avaliar a sensibilidade dos microrganismos frente a extractos dessa planta.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Amparo, Tatiane Roquete, et al (2018). Métodos para avaliação *in vitro* da actividade antimicrobiana de plantas medicinais: *a necessidade da padronização*. Disponível em: <http://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/10844>. Acesso em: 11/08/2020.
2. Araújo, e tal (2009). Usos potenciais de *Melia azedarach* L. (meliaceae): um levantamento. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.76, n.1, p.141-148, jan./mar.
3. Archanjo e tal (2012). *Estudo do potencial antimicrobiano de extracto de melia azedarach L. Na desinfecção de mesas hospitalares veterinárias*. Disponível em: http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2012/anais/arquivos/RE_1113_1057_01.pdf. acesso em: 04 de Março de 2021.
4. Bertoncheli, Claudia de Mello, et. Al (2008). Uma revisão sobre metalo- β -lactamases. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 44, n. 4, out-dez. (577-99). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322008000400005&lng=en&nrm=iso. ISSN 1516-9332. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322008000400005>. Acesso em: 10/08/2020.
5. Bonella, *et al* (2011). Estudo fitoquímico e actividade antibacteriana de extractos de folhas de *Acanthospermum australe* (LOERFL.) KUNTZE. *Enciclopédia Biosfera*. 7 (13): 1329-1335.
6. Cabral, M.M.O. Azambuja, P.; Gottlieb, O.R.; Garcia, E.S. (2000). Effects of some lignans and neolignans on the development and excretion of *Rhodnius prolixus*. Tallahassee: *Fitoterapia*, v.71, p.1-9.
7. Cala, A. C. (2010). Avaliação da actividade de *Artemisia annua* L., *Melia azedarach* L. e *Trichilia clausenii* C. Sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos. Jaboticabal – São Paulo – Brasil.
8. Carpinella, M.C.; Herrero, G.G.; Alonso, R.A.; Palácios, S.M (1999). Antifungal activity of *Melia azedarach* fruit extract. *Fitoterapia*, v.70, p.296-298.



9. Champagne, D.E (1992). Biological activity of limonoids from the rutales. *Review article number 65. Phytochemistry*, v. 31, p. 377-394.
10. Clardy, J.; Walsh, C (2004). Lessons from natural molecules – nature, v.432.
11. Cronquist, A (1988). The evolution and classification of flowering plants. *New York Botanical Garden*.
12. Fernandes, Prabhavathi (2006). Antibacterial discovery and development—the failure of success?. *Nature biotechnology*, v. 24, n.12, (1497-1503). Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nbt1206-1497>. Acesso em: 11/08/2020.
13. Ferreira, Hélder (2018). Avaliação da Actividade Antibacteriana dos Extractos de Plantas Mediciniais: Significância Sanitária em região de Tríplice Fronteira. *Ribeirão Preto*.
14. Gabrielle et al (2003). Controle de qualidade de ervas medicinais. *Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, n.31, julho/Dezembro, (68-73). Disponível em: <file:///E:/MANUAIS%20METODOLOGICOS/Artigo%20Analise%20fitoquimica/MOUC%20Biotecnologia.pdf>. Acesso em: 11/08/2020.
15. Gadéa, Suzana Ferreira Magalhaes (2008). Avaliação da actividade antimicrobiana do extracto bruto e suas frações de *glischrothamnusulei* (molluginaceae) do semi-árido baiano. Dissertação (Dissertação em Biotecnologia), Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana. Disponível em: http://www2.uefs.br/ppgbiotec/portugues/arquivos/corpo%20discente/mestrado/2006/suzana_ferreira_magalhaes_gadea-dissertacao.pdf. Acesso em: 11/08/2020.
16. Gajmer, T.; Singh, R.; Saini, R.K.; Kalidhar, S.B (2002). Effect of methanolic extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and bakain (*Melia azedarach*) seeds on oviposition and egg hatching of *Earias vittella* (Fab) (Lep., Noctuidae). *Journal Applied Entomology*, v.126, p.238-243.
17. Gobbo-Neto, Leonardo; Lopes, Norberto P (2007). Plantas medicinais: factores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quím. Nova*, v.30, n.2, (374-381).



- Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000200026&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 10/08/2020.
18. Goes, ThiagoZucov de Faria, et al (2016). Prospecção fitoquímica e antimicrobiana dos extratos de *Lantana Camara L.* e *LantanaTrifolia L.* *Saber Científico*, Porto Velho, v. 5, n. 1.(1 – 11). Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/28105>. Acesso em: 10/08/2020.
19. Guimarães, Denise Oliveira, et. Al (2010). Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Quim. Nova*, v. 33, n. 3, (667-679). Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000300035&lng=en&nrm=iso>. Acessoem: 10/08/2020.
20. Khan, et. al (2001). Antimicrobial activity of *Symplocoscochinchinensis*. *Phytotherapy*, v.72, n.7, (825-828).
21. Khan, M.R, et al (2001). Antimicrobial activity of *Horsfieldiahelwiigiand Meliaazedarach*. *Fitoterapia*. v.72, p.423-427.
22. Kiza, atal (2020). Análise fitoquímica e atividadeantibacteriana de extrato das folhas da lantanacamara I. Universidade Lúrio, Nampula-Moçambique.
23. Matias, R, etal (2002). *Melia azedarach*, uso popular x estudos químicos e farmacológicos: breve revisão. *Ensaio e Ciência*. Campo Grande, v.6, n.1, p. 91-121.
24. Menezes Filho, Antonio Carlos Pereira de; Castro, Carlos Frederico de Souza (2019). Identificação das classes de metabólitos secundários em extratosetanólicofoliares de *Campomanesiaadamantium*, *Dimorphandramollis*, *Hymenaeastigonocarpa*, *Kielmeyeralathrophytum* e *Solanumlycocarpum*. *Estação Científica (UNIFAP)*, Macapá, v. 9, n. 1, p. 89-101, jan./mar.



25. Misau (2004). Política de Medicina Tradicional, Acessado em 23 de Abril de 2021 de http://www.portaldogoverno.gov.mz/docs_gov/fold_politicas/saude/politica%20de%20medicina%20tradicional.pdf
26. Murray P.R., Rosenthal K. S. E. & Pfaller, M. A (2010). Microbiologia Médica, 6ª edição, Elsevier Editora Ltda., Rio de Janeiro. Brasil.
27. Nogueira, Hadison Santos, et. Al (2016). Antibacterianos: principais classes, mecanismos de ação e resistência. *Unimontes Científica*, v. 18, n.2 - jul./dez (96-108). Disponível em: <http://www.ruc.unimontes.br/index.php/unicientifica/article/view/523> Acesso em: 10/08/2020.
28. Nogueira, Joseli Maria da Rocha; Miguel, Luceny de Faria Souza (2009). Bacteriologia. *Fundação Oswaldo Cruz/EPSJV*, (222-397). Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/15170/2/cap3.pdf>. Acesso em: 11/08/2020.
29. Oelrichs P.B.; Hill M.W.; Vallely P. J.; Macleod J.K.; Molinsky, T.F (1983). Toxic tetranortriterpenes of the fruit of *Melia azedarach*. *Phytochemistry*, v.22, n.2, p.531-534.
30. Organization. W. H. (1992), *ICD-10: international statistical classification of diseases and related health problems*, World Health Organization, Geneva.
31. Sigauque, Betuel, et. Al (2015). Análise situacional e Recomendações: Uso e resistência aos antibióticos em Moçambique. *Center for Disease Dynamics Economics*, v.1. (1-15). Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Evangelina_Namburete/publication/281906350SITUACIONAL-ANALYSIS-AND-RECOMMENDATIONS-Use-and-Resistance-to-Antibiotics-in-Mozambique/links/55fddeb708ae07629e31ec37/SITUACIONAL-ANALYSIS-AND-RECOMMENDATIONS-Use-and-Resistance-to-Antibiotics-in-Mozambique.pdf. Acesso em: 08/08/2020.
32. Silva e Lima (2016). Identificação das classes de metabólitos secundários. *REGET* - V. 20, n. 1, jan.-abr.p.381-388.



33. Simões, C.M.O. et al (2007). Farmacognosia, da planta ao medicamento. *Porto Alegre*: editora UFRGS. 1104p.
34. Simon, M.K., Ajanusi, J.O., George, B.D., Abubakar, M.S. & Meduna, J.A (2008). In-Vivo Evaluations Of The Stem Bark Of Combretum molle“R.Br/G. Don” (Keay,1989) For Anthelmintic Properties. *Continental Journal of Veterinary Sciences*2: 1 –11.
35. Simone, M. (2001). Estudo de plantas medicinais em uso pelas comunidades locais no posto administrativo de Mahel e sua propagação. Tese de Licenciatura em Biologia, Universidade Eduardo Mondane, Maputo.
36. Takeya, K.; Qiao, Z.; Hirobe, C.; Itokawa, H (1996). Cytotoxic trichilin-type timonoids from *Melia azedarach*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.4, n.8, p.1355-1359.
37. Vieira, P. C. & Fernandes, J. B (1999) Plantas Insecticidas. In: Simões, C. M. O., coord. Farmacognosia: da planta ao medicamento. *Porto Alegre/Florianópolis*: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. Da UFSC.
38. Vieira, P. C. & Fernandes, J. B (1999) Plantas Insecticidas. In: Simões, C. M. O., coord. Farmacognosia: da planta ao medicamento. *Porto Alegre/Florianópolis*: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. Da UFSC.
39. Xavier, Glaydson Jhonnys Queiroz, et al (2019). Exame da acção antibacteriana do óleo de abacate: contribuições possíveis para a saúde e o meio ambiente. IV congresso internacional das ciências agrárias, COINTER-PDVAgro. (1-6).
40. Yunes, R.A.; Calixto, J.B (2001). Plantas medicinais sob a óptica de química medicinal moderna. Ed. ARGOS. Chapecó.