

Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA

Curso de Medicina

Joel do Amaral Neto  
Felipe Gabriel Dias Faustino  
Gabriel de Medeiros Jardim Pacheco  
José Augusto Mendes Neto  
Leandro Ribeiro da Silva Filho  
Thiago Miranda Soares Caram

**Composição química e eficácia antibacteriana do óleo essencial de  
*Mikania glomerata* Sprengel (ASTERACEAE): bases científicas para  
aplicação em fitoterapia clínica**

Anápolis – Goiás

2025

Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA

Curso de Medicina

**Composição química e eficácia antibacteriana do óleo essencial de  
*Mikania glomerata* Sprengel (ASTERACEAE): bases científicas para  
aplicação em fitoterapia clínica**

Trabalho de Curso apresentado a subárea de  
Iniciação Científica do curso de Medicina da  
Universidade Evangélica de Goiás -  
UniEVANGÉLICA, sob a orientação da Prof. Dra.  
Josana de Castro Peixoto.

Anápolis – Goiás

2025

**RELATÓRIO PARCIAL DE TRABALHO DE CURSO PARECER  
FAVORÁVEL DO ORIENTADOR**

À

**Coordenação de iniciação científica**

**Faculdade de Medicina – UniEVANGÉLICA**

Eu, Professora Orientadora **Josana de Castro Peixoto**, venho respeitosamente, informar a essa coordenação que os acadêmicos Felipe Gabriel Dias Faustino, Gabriel de Medeiros Jardim Pacheco, Joel do Amaral Neto, José Augusto Mendes Neto, Leandro Ribeiro da Silva Filho e Thiago Miranda Soares Caram, estarão sob minha supervisão para desenvolver o trabalho de curso intitulado “Avaliação da composição química do óleo essencial das folhas *Mikania glomerata Sprengel* (ASTERACEAE) e atividade antibacteriana como subsídio à fitoterapia clínica”, o projeto em anexo foi revisado e aprovado e será seguido até a conclusão do mesmo.

**Observações:**

---

**Anápolis, 17 de fevereiro de 2025.**



---

**Professora orientadora**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos, primeiramente, a Deus, pela força, sabedoria e perseverança concedidas ao longo desta jornada. À Prof. Dra. Josana Peixoto por sua orientação precisa, paciência e incentivo, que foram indispensáveis para a realização deste trabalho. Manifestamos também nossa gratidão a nós, autores deste projeto — Felipe Gabriel Dias Faustino, Gabriel de Medeiros Jardim Pacheco, Joel do Amaral Neto, José Augusto Mendes Neto, Leandro Ribeiro da Silva Filho e Thiago Miranda Soares Caram — pela dedicação, comprometimento e espírito de equipe, que tornaram possível a concretização deste estudo. Este trabalho representa não apenas um avanço acadêmico, mas também a superação de desafios e o fortalecimento de nossos vínculos profissionais e pessoais.

## RESUMO

O uso de plantas medicinais é uma prática milenar e, na atualidade, a pesquisa sobre fitoterapia é de muita importância, haja vista a grande quantidade de efeitos adversos e o alto valor dispendioso presentes nas terapias com fármacos alopáticos. Neste contexto, faz-se de suma importância realizar a validação etnofarmacológica de determinadas plantas com potencial farmacológico e fitoterápico. O objetivo deste estudo é avaliar a composição química do óleo essencial extraído de folhas da espécie *Mikania glomerata* popularmente conhecida como guaco e sua possível atividade antimicrobiana como subsídio às pesquisas em fitoterapia clínica. A pesquisa trata-se de um experimento que foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Biodiversidade (LaPeBIO) da Universidade Evangélica de Goiás e as folhas de *Mikania glomerata* foram coletadas na zona rural do município de Anápolis-Go. Foram realizadas análises qualitativas para avaliar a presença das principais classes de metabólitos secundários no resíduo pulverizado das folhas e logo após foi feita a extração do óleo essencial. Por meio de testes de microdiluição em caldo realizados conforme recomendações do *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI), com modificações foi avaliado a atividade antibacteriana do óleo extraído das folhas de *Mikania glomerata* frente a microrganismos gram-positivos e gram-negativos de quatro cepas padrões *American Type Culture Collection* (ATCC). Em amostras que apresentaram Concentração Máxima Inibitória (CMI) menor que  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  resultou em boa atividade antimicrobiana, amostras com CMI entre  $100$  e  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  possuem atividade antimicrobiana moderada, amostras com CMI entre  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  possuem atividade fraca e aqueles que possuem atividade antimicrobiana acima de  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  são considerados inativos. Com a realização do estudo podemos concluir que o guaco contém grande potencial farmacológico já comprovado, principalmente anti-inflamatório, e mostrou alguma atividade antimicrobiana. Dessa forma, faz-se necessário pesquisas a posteriori para a continuidade de testes para utilização segura deste fitoterápico.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos. Fitoterápico. *Mikania*.

## ABSTRACT

The use of medicinal plants is an ancient practice and, nowadays, research on phytotherapy is of great importance, given the large number of adverse effects and the high cost of allopathic drug therapies. One of the first records of substances with antimicrobial properties was Penicillin, showing that humanity has been seeking ways to combat infections and diseases using natural resources for many years. This alternative to conventional medicine is adopted by several developed nations, mainly due to the growing resistance to antimicrobials, which drives greater interest and creates greater demand for this market niche. In this context, it is extremely important to perform ethnopharmacological validation of certain plants with pharmacological and phytotherapeutic potential. The objective of this study is to evaluate the chemical composition of the essential oil extracted from the leaves of the species *Mikania glomerata*, popularly known as guaco, and its possible antimicrobial activity as a subsidy for research in clinical phytotherapy. The research is an experiment that was carried out at the Biodiversity Research Laboratory (LaPeBIO) of the Evangelical University of Goiás and the leaves of *Mikania glomerata* were collected in the rural area of the municipality of Anápolis-Go. Qualitative analyses were performed to evaluate the presence of the main classes of secondary metabolites in the pulverized residue of the leaves and then the essential oil was extracted. Through broth microdilution tests performed according to the recommendations of the Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), with modifications, the antibacterial activity of the oil extracted from the leaves of *Mikania glomerata* against gram-positive and gram-negative microorganisms of four standard strains American Type Culture Collection (ATCC) was evaluated. In samples that presented Maximum Inhibitory Concentration (MIC) lower than 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  resulted in good antimicrobial activity, samples with MIC between 100 and 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  have moderate antimicrobial activity, samples with MIC between 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  and 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  have weak activity and those that have antimicrobial activity above 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  are considered inactive. With the study, we can conclude that guaco has great pharmacological potential, mainly anti-inflammatory, and has shown some antimicrobial activity. Therefore, more research is needed to ensure the safe use of this herbal medicine.

**Key-words:** Antimicrobials. Phytotherapeutic. *Mikania*.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>7</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>10</b>
2.1 Origem dos fitoterápicos, plantas medicinais e atividade antibacteriana .....	10
2.2 Metabólitos secundários em plantas de interesse médico .....	12
2.3 Ações farmacológicas .....	15
2.4 História dos antimicrobianos .....	16
2.5 Métodos para avaliação da atividade antibacteriana .....	18
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
3.1 Objetivo geral .....	21
3.2 Objetivos específicos .....	21
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	<b>22</b>
4.1 Tipo de estudo .....	22
4.2 Coleta, identificação do material botânico e preparo do extrato .....	22
4.2.1 Secagem e extração .....	23
4.3 Controle de qualidade da droga vegetal .....	23
4.3.1 Determinação do teor de umidade .....	23
4.3.2 Determinação de Cinzas Totais .....	23
4.4 Teste de Granulometria e Intumescência .....	24
4.4.1 Determinação da Granulometria do Pó .....	24
4.4.2 Determinação do Índice de Intumescência .....	25
4.5 Triagem fitoquímica da droga vegetal .....	25
4.5.1 Determinação de Parâmetros para controle de qualidade .....	25
4.6 Extração do óleo essencial .....	33
4.6 Teor do óleo essencial .....	34
4.7 Análise quantitativa da composição química do óleo essencial .....	35
4.8 Atividade antibacteriana .....	36
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>
5.1 Controle de qualidade da droga vegetal .....	38
5.3 Identificação da classe de metabólitos secundários .....	39
5.4 Rendimento e composição química do óleo .....	40
5.5 Atividade antimicrobiana .....	42
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	<b>44</b>
6.1 Controle de qualidade da droga vegetal .....	44
6.2 Identificação dos metabólitos secundários .....	45
6.3. Análise da composição do óleo essencial .....	46
6.4 Atividade antimicrobiana .....	46
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>47</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas com fins medicinais é uma prática de saúde milenar e é relatado desde o início das civilizações. Através de registros, fala, saberes empíricos e documentos escritos, esse conhecimento inicial foi repassado de geração em geração e encontra-se presente na contemporaneidade. O hábito de se utilizar certas plantas para ação curativa foi uma das primeiras manifestações em que o homem recorreu à natureza e, com a evolução da ciência, os estudos com os ativos de plantas medicinais se intensificaram e confirmaram a eficácia do uso desses compostos nos primórdios da sociedade por meio de um processo investigativo de ensaio e erro (KUMAR *et al.*, 2021; KANG *et al.*, 2023).

A medicina popular reúne diversos exemplos da aplicação de plantas que substituem completamente ou tem seus princípios ativos presentes nos fármacos em todo o mundo. A utilização da fitoterapia cresce e é desmistificada a cada ano, haja vista a grande quantidade de efeitos adversos presentes nas terapias com fármacos alopáticos e a busca por uma conduta menos agressiva. Essa alternativa à medicina convencional está sendo adotada entre diversas nações desenvolvidas, o que propulsiona um maior interesse e cria maior demanda a este nicho de mercado (SEO *et al.*, 2022).

Além disso, com a grande descoberta de compostos bioativos em plantas, viu-se a necessidade de nomear como “plantas medicinais” aquelas que apresentam alguma atividade farmacêutica, por exemplo pela presença de alguns metabólitos secundários como fenóis, saponinas, flavonoides e outros (BISSO *et al.*, 2022). Os produtos naturais e provenientes do metabolismo secundário das plantas como os óleos essenciais constituem um grupo variável e complexo. As substâncias voláteis produzidas pelo metabolismo secundário, os fenilpropanoides e, especialmente, os terpenoides (do tipo mono e sesquiterpenos) são os principais constituintes dos óleos essenciais (ROCHA; ALVES, 2021).

No contexto da formulação, esses bioativos podem vir a exemplo de óleos essenciais, os quais constituem um grupo variável e complexo. São substâncias integrantes das engrenagens que constituem os ecossistemas, e estudos sobre eles poderão aprofundar o conhecimento da biodiversidade odorífera brasileira e contribuir para o bem-estar e a saúde da população. As substâncias voláteis produzidas pelo metabolismo secundário, os fenilpropanóides e, especialmente, os terpenóides (do tipo mono e sesquiterpenos) são os principais constituintes dos óleos essenciais (SILVA, C., 2021).

Quando se observa esses compostos, a medicina popular já indica o óleo de guaco para problemas inflamatórios respiratórios. As folhas de guaco (*Mikania glomerata* e *M. laevigata*) são utilizadas no tratamento de asma e bronquite. Pesquisas científicas têm demonstrado que os extratos dessas espécies possuem potencial terapêutico significativo no manejo de condições inflamatórias das vias respiratórias (SOUSA *et al.*, 2023). Uma das substâncias que confere identidade ao guaco é a cumarina (1,2-benzopirona), por estar em grande quantidade em suas folhas. Acredita-se que esta substância seja formada durante o processamento da planta por ação enzimática e pelo calor (OLIVEIRA; COSTA, 2017).

Um dos principais constituintes do extrato de guaco, a cumarina, já supracitada, é a responsável pela diminuição da inflamação por vários processos. Isso foi observado verificando-se a redução na produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF-alfa após a aplicação da cumarina (FERREIRA; LIMA, 2020). Além disso, sabe-se que o ácido caurenico encontrado no Guaco tem a propriedade de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, podendo exercer, juntamente com o ácido cinamolgrandiflórico, atividade antibiótica (SOUSA *et al.*, 2023). O uso de substâncias antibacterianas remonta milênios, antes da descoberta das bactérias. Porém, com base em evidências da patogênese desses seres, iniciou-se uma intensa busca por agentes capazes de afetar o crescimento microbiano. Existem hoje uma ampla gama de compostos naturais sintéticos capazes de inibir o crescimento ou de causar a morte de fungos ou bactérias. No entanto, com o uso indiscriminado das classes de antimicrobianos, nos últimos anos o que se observa é uma resistência generalizada a esses fármacos. Portanto, é imperativo procurar em toda a biosfera por novos produtos antibacterianos naturais para perpetuar a história antiga desta classe de medicamentos (ZUCCON, 2023).

A administração de antibióticos para tratar diversas infecções acarretou um quadro de resistência bacteriana aos antibióticos, que está em constante ascensão. É importante ressaltar que alguns microrganismos atualmente só podem ser tratados com antibióticos de amplo espectro e alto custo. Dessa maneira, a busca por novos compostos antimicrobianos, especialmente extraídos de espécies vegetais, tal qual a *Mikania glomerata* é extremamente importante e vantajosa no contexto atual, tanto no ambiente comunitário quanto no ambiente hospitalar (CONTRERAS-OMAÑA; ESCORCIA-SAUCEDO; VELASCO, 2021).

Perante o exposto, a resistência adquirida pelos microrganismos supracitados às substâncias sintéticas faz com que procurasse descobrir na natureza algo que possa trazer uma nova possibilidade terapêutica para algo tão prevalente, sendo uma inovação de grande valia. No contexto científico, bioprospectar produtos naturais e validar seus usos potenciais como antibacterianos representa um dos maiores desafios da medicina moderna, exigindo a constante busca por novos agentes antimicrobianos. A descoberta de tais compostos pode contribuir para o desenvolvimento de novos protótipos de medicamentos antibacterianos, oferecendo alternativas eficazes no combate às infecções resistentes e ampliando as opções terapêuticas disponíveis na medicina.

Diante disso, é extremamente importante para a saúde do Brasil e de muita relevância para a comunidade acadêmica e médica a descoberta e testagem de novas moléculas de fitoterápicos que ainda não foram triadas, principalmente ao que tange a atividade anti-inflamatória, haja vista que a busca por alternativa ao uso de medicamentos alopáticos aumenta gradativamente com o passar dos anos. Por conseguinte, o objetivo do presente estudo é avaliar a composição química do óleo essencial extraído de folhas da espécie *Mikania glomerata* popularmente conhecida como guaco e sua possível atividade antimicrobiana como subsídio às pesquisas em fitoterapia clínica.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Origem dos fitoterápicos, plantas medicinais e atividade antibacteriana

Há evidências de que as plantas têm sido utilizadas para fins medicinais desde o início da civilização. O conhecimento original, relacionado ao seu potencial terapêutico como conjunto de conhecimentos experienciais e intuitivos, foi transmitido em sua forma original por meio de registros, falas e documentos escritos. Essas observações desencadearam um processo de pesquisa que possibilitou descobrir as propriedades medicinais de diferentes espécies por meio de tentativa e erro, e esse conhecimento foi transmitido de geração em geração (BRASIL, 2020).

Atualmente, há muitos estudos que contemplam a atividade antibacteriana de plantas, devido ao fácil acesso dessas substâncias na natureza e ao fato de ser uma alternativa mais rentável para as empresas e para a população. Com isso, o estudo dos compostos bioquímicos das plantas identificou os principais metabólitos secundários: fenóis, flavonoides, esteroides, antraquinonas e saponinas (STROTHMANN *et al.*, 2022; BISSO *et al.*, 2022).

Os compostos químicos bioativos, denominados de fitoquímicos, têm a capacidade de defender o organismo contra doenças. Os fitoquímicos atuam como metabólitos primários, como gorduras e açúcares, e em menor número, como metabólitos secundários que são processados em drogas, como inulina, morfina e codeína, quinina e digoxina. Os principais fitoquímicos incluem antioxidantes, anticancerígenos, potenciadores de imunidade, desintoxicantes, triterpenóides e neurofarmacológicos (UGBOKO *et al.*, 2020).

Os fenóis são substâncias químicas que podem ser extraídas de plantas e mostram-se interessantes no tratamento da colite inflamatória, patologia que afeta cronicamente o intestino. Os compostos fenólicos e flavonoides são considerados os mais importantes bioativos encontrados em plantas, que possuem atividade antimicrobiana relatada. Os esteroides derivados de plantas possuem atividade antibacteriana e inseticida. As saponinas têm sido usadas para tratar doenças cerebrovasculares, cardiovasculares e úlceras gástricas. A capacidade antibacteriana vem da inibição da síntese proteica, da disfunção mitocondrial, inibem a formação de biofilmes e bombas de efluxo, todas ações que impedem a continuidade do ciclo bacteriano (BISSO *et al.*, 2022; SANTANA *et al.*, 2017).

Outros compostos de importante ação farmacêutica que podem ser extraídos de plantas são: lignanas, terpenoides, estilbenos, alcaloides, flavonoides e ácidos fenólicos. Sendo dentre esses os flavonoides e ácidos fenólicos mais importantes com atividade antibacteriana (WAWROSCH; ZOTCHEV, 2021).

Nos países em desenvolvimento como o Brasil, cerca de 80% da população utiliza a medicina tradicional (incluindo a fitoterapia) como principal forma de assistência médica primária para atender às suas necessidades de saúde; este é um fato que ocorre devido à falta de acesso à assistência médica ou mesmo a falta dela. Este segmento da população representa aproximadamente 3,5 milhões de pessoas (BRASIL, 2020). No entanto, recentemente, face à mudança das circunstâncias, alguns países desenvolvidos estão a adotar alternativas a esta medicina tradicional, despertando assim o interesse neste nicho de mercado e maior demanda (BRESOLIN; CECHINEL, 2010).

A fitoterapia refere-se ao uso de plantas para tratar doenças específicas. A RDC nº 48, emitida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 16 de março de 2004, classifica os fitoterápicos como medicamentos obtidos exclusivamente a partir de matérias-primas vegetais ativas. A RDC considera fitoterápicos os medicamentos que contêm substâncias ativas em sua composição com eficácia, segurança e riscos conhecidos e validados pelo órgão regulador e, não considera os fitoterápicos com uma substância ativa isolada em sua composição, nem a associação destas com extratos vegetais. A eficácia e segurança são verificadas em levantamentos etnofarmacológicos de uso, documentação técnico-científica em publicações ou ensaios clínicos (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2018).

Produtos naturais têm sido uma fonte de inspiração para a maioria dos ingredientes ativos utilizados no desenvolvimento de medicamentos ao longo da história. A natureza ainda hoje é um importante reservatório de novas substâncias com potencial interesse terapêutico (ATASANOV, *et al.*, 2015). A análise feita por Newman e Cragg (2016), relaciona o registro de novos medicamentos, junto ao *Food and Drug Administration* (FDA), entre os anos de 1981 e 2014, o qual evidenciou que 65% dos registros neste período foram de produtos naturais ou derivados deles, nos mostrando que essa alternativa terapêutica tem grande relevância e faz parte da variedade farmacológica.

No contexto dos produtos naturais e provenientes do metabolismo secundário das plantas, os óleos essenciais constituem um grupo variável e complexo, com necessidade de se

compreender e conhecer os mecanismos que regulam a sua produção e sua expressão na natureza. São substâncias integrantes das engrenagens que constituem os ecossistemas, e estudos sobre esses óleos poderão aprofundar o conhecimento da biodiversidade da flora brasileira e contribuir para o bem-estar e saúde da população (SILVA, 2020). Brasil, China, Índia e Indonésia são considerados os quatro maiores produtores globais de óleos essenciais. Entre 2005 e 2008, o Brasil exportou 287.799 toneladas de óleo essencial de cítricos, o que justifica o posto de terceiro maior exportador mundial de óleos essenciais, com um valor de exportação de aproximadamente US\$ 147 milhões, perdendo apenas para os Estados Unidos e a França (BRITO *et al.*, 2013). Fato que mostra um crescimento do país no que tange a investimentos nessa área e valorização dessa importante via terapêutica.

## **2.2 Metabólitos secundários em plantas de interesse médico**

As substâncias voláteis produzidas pelo metabolismo secundário, os fenilpropanoides e, especialmente, os terpenoides (do tipo mono e sesquiterpenos) são os principais constituintes dos óleos essenciais (SILVA, 2020). São, portanto, misturas complexas, naturais, voláteis, caracterizadas por intenso e agradável aroma, de constituição, na sua maioria, lipofílica, e que se apresentam à temperatura ambiente como líquidos oleosos, o que os diferenciam dos óleos fixos. De uma maneira geral, os óleos essenciais são instáveis, especialmente na presença de luz, calor, umidade, ar, substâncias oxidantes ou redutoras e metais. São, na maioria das vezes, caracterizados por dois ou três componentes majoritários (20 a 70%), podendo conter em sua constituição cerca de 20 a 60 componentes em concentrações muito diferentes (BAKKALI *et al.*, 2008).

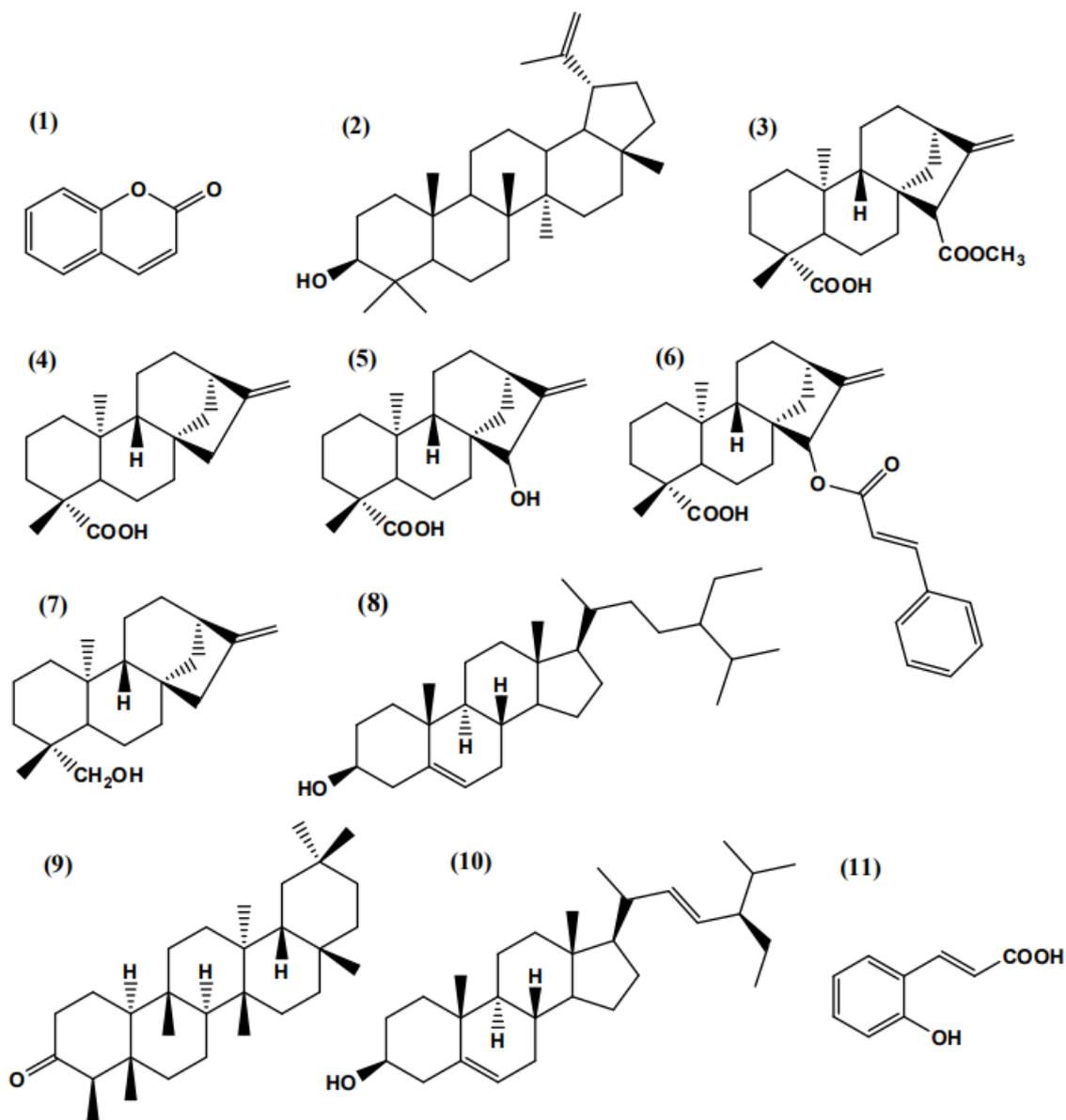
Quando se observa o estudo de Viégas Busato (2014), pode-se perceber que a produção de óleos essenciais pode ser influenciada por fatores intrínsecos, como espécie, cultivar, clone, habitat; por diversos fatores ambientais e ecológicos, tais como índice pluviométrico, temperatura, ritmo circadiano, sazonalidade, tipo de solo, altitude e ciclo vegetativo da planta, origem geográfica, condições climáticas, solo e biotipo; e isso ocorre por essas substâncias apresentarem uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante (VIÉGAS BUSATO *et al.*, 2014).

A medicina popular indica o guaco para problemas respiratórios, onde estudam seu emprego terapêutico. Uma das substâncias que confere identidade ao guaco é a cumarina (1,2-benzopirona), por estar em grande quantidade em suas folhas. Alguns autores acreditam que

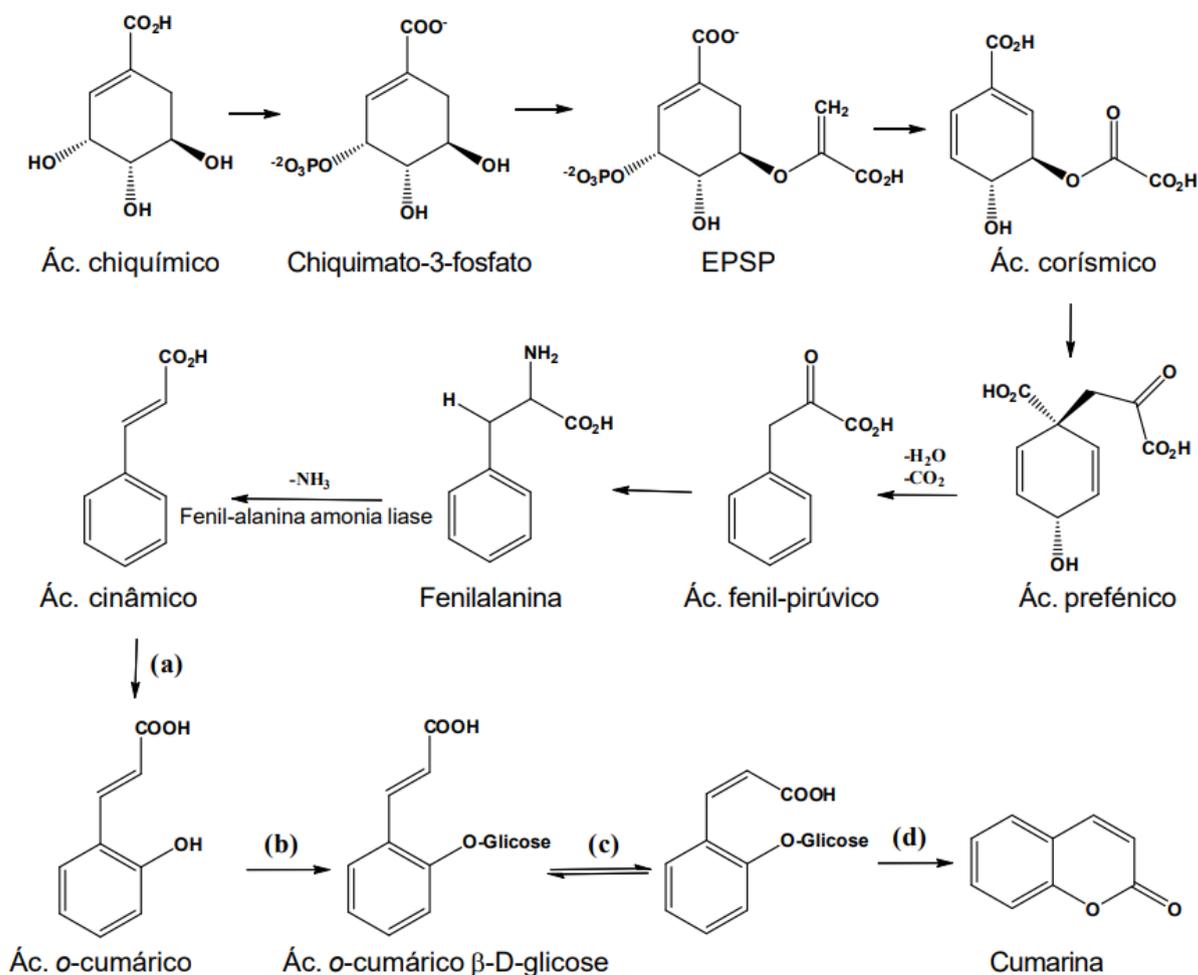
essa substância é formada durante um processo enzimático, com utilização de calor, exercido sobre a planta (OLIVEIRA; COSTA, 2017).

A composição química de *Mikania micantha* inclui cumarina, lupeol e ácido  $\alpha$ -isobutiriloxi-caul-16-en-19. Pode-se encontrar óleos essenciais contendo sesquiterpenos e diterpenos do tipo caureno, como ácido caurênico, ácido ciânico, ácido cinamoilciânico e ácido caurênico. Outros metabólitos secundários como  $\beta$ -sitosterol, lignil, estigmasterol, taninos hidrolisáveis, flavonoides e saponinas também estão presentes na composição de *Mikania micantha*. A cumarina é muito importante na atividade farmacológica. No abacate, a cumarina é utilizada para controle de qualidade na produção do extrato, pois confere aroma característico às folhas (SANTOS, 2005). O ácido caurenóico é um diterpeno encontrado no gênero *Mikania* e, semelhante à cumarina, possui importantes efeitos biológicos (SANTOS, 2005).

As cumarinas são formadas pela junção de dois metabólitos da glicose (fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fosfato), os quais são derivados do ácido chiquímico. A condensação desses ácidos dá origem ao ácido corísmico, dando continuidade à via. Desse modo, há formação de aminoácidos aromáticos, como é o caso da fenilalanina, que sofre ação da ação da fenilalanina-amônio-lipase (PAL), que retira uma amônia da fenilalanina, dando origem ao ácido cinâmico, que por sua vez origina o ácido o-cumárico, como apresentado na figura 1 e 2 (DEWICK, 2002).



**FIGURA 1.** Principais metabólitos secundários encontrados em *Mikania glomerata*: cumarina (1), lupeol (2), ácido  $\langle$ -isobutiriloxi-caur-16-en-19-oico (3), ácidos diterpênicos (4), carenoico (5), grandiflórico (6), cinamoilgrandiflórico (7), carenol (8),  $\text{R}$ -sitosterol (9), friedelina (10) e estigmasterol (11) (adaptado de Santos, 2005).



**FIGURA 2.** Biossíntese da cumarina (CZELUSNIAK, K. E.; PEREIRA, D. F.; FREITAS, G. B. L., 2012).

### 2.3 Ações farmacológicas

Em alguns experimentos, o extrato de guaco foi administrado por via subcutânea e diminuiu o processo inflamatório do peritônio em várias etapas: houve redução da permeabilidade vascular, rolamento e a adesão dos leucócitos aos tecidos inflamados por um mecanismo dependente do óxido nítrico (SOUSA *et al.*, 2023).

Um dos principais constituintes do extrato de guaco, a cumarina, já supracitada, foi a responsável pela inibição da quimiotaxia e migração dos neutrófilos ao foco inflamatório. Além disso, foi observado a redução na produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF-alfa, reduzindo significativamente o processo inflamatório (ALVES *et al.*, 2009). Em outros experimentos, os quais foram feitos com animais, a atividade antiinflamatória também se manteve presente. Nessa abordagem, foi observado melhora dos sintomas flogísticos em tecidos

dentários, onde a aplicação do guaco foi responsável por causar uma menor expressão do ativador do ligante do Nf-kB, o qual pôde ser medido através de imuno-histoquímica, além de também diminuir a migração neutrofílica para o local da lesão (BENATTI *et al.*, 2012).

Sabe-se que o ácido caurenico encontrado no Guaco tem a propriedade de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, podendo exercer, juntamente com o ácido cinamolgrandiflórico, atividade antibiótica. Também apresenta atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* e *Streptococcus pneumoniae*, além de ser ativo contra formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*. Pode ser percebida grande ação contra contração uterina, através de mecanismos independentes de receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos e como antagonista de canais de cálcio (CZELUSNIAK; PEREIRA; FREITAS, 2012).

As folhas de guaco (*Mikania glomerata* e *M. laevigata*), as quais apresentam ação tônica, depurativa, antipirética e broncodilatadora, além de estimulante do apetite e antigripal, são utilizadas no tratamento de asma e bronquite. Extratos e marcadores isolados foram testados no modelo de pneumonite alérgica de camundongos e o perfil histopatológico do tecido pulmonar foi analisado. As amostras estudadas da espécie *M. glomerata* possuem mais cumarina e ácido O-coumárico do que a espécie análoga *M. laevigata*. Tanto a cumarina quanto o ácido O-coumárico compõem o fitocomplexo que é responsável pela atividade anti-inflamatória em *M. glomerata* e *M. laevigata*, o que demonstra que essas duas espécies não devem ser usadas de forma intercambiável. A cumarina, como já foi comprovada, tem ação anti-inflamatória, porém, não é o único componente responsável por essa atividade terapêutica dos extratos do guaco (CZELUSNIAK; PEREIRA; FREITAS, 2012).

## 2.4 História dos antimicrobianos

Há mais de dois mil anos já se utilizam profilaticamente antibióticos, segundo registros. Nessa época, se utilizava cataplasmas tradicionais de pão mofado para tratar feridas abertas na Sérvia, China, Grécia e Egito. Há registros também do documento médico mais antigo, o papiro de Éber de 1500 a.C., prescrevendo pão mofado e solo medicinal. Outra descoberta recente, revelou um suposto documento anglo-saxônico com prescrição para eliminar MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à metilina) há mil anos (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019).

As bactérias, seres unicelulares, foram identificadas somente em 1670 por van Leeuwenhoek e sua patogenia foi cogitada apenas no século XIX por Louis Pasteur, apesar dos usos de substâncias com atividade antimicrobiana reportarem épocas milenares. A partir dessas demonstrações, iniciou-se a busca por substâncias capazes de agir na proliferação de patógenos, mas somente em 1910, Paul Ehrlich desenvolveu o primeiro antibiótico sintético, o Salvarsan, uma pró-droga sintética feita à base de arsênico salvarsan, usado no tratamento da sífilis (ZUCCON, 2023).

Nessa perspectiva, a necessidade por novos medicamentos fez surgir a proflavina, em 1934, muito utilizada em feridos na Segunda Guerra Mundial (ZUCCON, 2023). Nos anos de 1930, também, em uma invenção histórica antes da criação da penicilina, Dogmak demonstrou que o corante prontossil, um pró-fármaco, gerou um produto ativo após a metabolização, a sulfonamida, que seria capaz de inibir a infecção bacteriana. A partir desse momento, muitas sulfonamidas foram desenvolvidas, mas a resistência bacteriana limitou a progressão desta classe, restando apenas alguns fármacos usados contra infecções sistêmicas e de amplo espectro, como o sulfametoxazol (RITTER *et al.*, 2022).

Ademais, a penicilina foi descoberta em 1928, por Alexander Fleming, usando fungos para controlar a proliferação bacteriana, quando a resistência ao Salvarsan e às sulfonamidas já haviam sido identificadas. Entretanto, o uso clínico da penicilina foi aprovado apenas em 1940, quando a substância foi preparada, extraída e seus efeitos antibacterianos foram analisados, iniciando a Era de Ouro para descoberta de produtos naturais com ação antibiótica (ZUCCON, 2023; HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019; RITTER *et al.*, 2022).

Atualmente, há mais de 23.000 produtos naturais antibacterianos e cerca de 25.000 isolados de plantas e animais, mas apenas cerca de centenas possuem uso clínico (WOHLLEBEN *et al.*, 2016). Desta feita, atualmente existem antibacterianos que interferem na síntese ou ação do ácido fólico, como as sulfonamidas e a trimetoprima; os beta-lactâmicos e outros que influenciam a síntese da parede ou membrana celular, como as penicilinas, as cefalosporinas, os carbapenêmicos, os monobactâmicos, os glicopeptídeos e as polimixinas; os que afetam a síntese das proteínas bacterianas, como as tetraciclinas, e cloranfenicol, os aminoglicosídeos, os macrolídeos, as oxazolidinonas, o ácido fusídico, as estreptograminas e a

clindamicina; e por fim, dentre os que afetam a topoisomerase estão as quinolonas (RITTER *et al.*, 2022).

## 2.5 Métodos para avaliação da atividade antibacteriana

É de grande importância a busca por novos agentes antimicrobianos, principalmente devido ao surgimento de microrganismos resistentes e infecções oportunistas fatais. Para isso, vários métodos são utilizados para avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos, frações, óleos essenciais e substâncias isoladas de vegetais. Os mais conhecidos são: método de difusão em ágar por poço, disco-difusão e métodos de macrodiluição e microdiluição, os quais são feitos em caldo (OSTROSKY *et al.*, 2008; BONA *et al.*, 2014; PEREIRA *et al.*, 2022).

Para avaliar a atividade antimicrobiana de extratos vegetais, determina-se uma pequena quantidade da substância requerida para inibir o crescimento do microrganismo-teste, sendo esse valor conhecido como Concentração Inibitória Mínima (CIM) (AMPARO *et al.*, 2018). Diante disso, um dos métodos mais utilizados para a determinação da CIM e avaliação da atividade antibacteriana de plantas medicinais é a diluição em ágar, enquanto a microdiluição, devido ao baixo custo, confiabilidade e sensibilidade, também tem ganhado relevância (PEREIRA *et al.*, 2022).

Vale pontuar que as pesquisas sobre a atividade antimicrobiana são altamente limitadas, devido à ausência de padronização das metodologias. Isso ocorre devido a um caráter multifatorial, desde a espécie de microrganismo utilizada, até a concentração da amostra e do inóculo e o método propriamente dito empregado (BONA *et al.*, 2014). Ademais, diversos fatores interferem na suscetibilidade dos métodos de difusão e diluição, tais quais: meios de cultura (devem proporcionar um crescimento adequado), pH (deve ser compatível com o crescimento microbiano, com a atividade e a estabilidade das substâncias testadas), disponibilidade de oxigênio, inóculo e condições de incubação (OSTROSKY *et al.*, 2008).

Testes como o de difusão em disco tem sido utilizado principalmente para óleos vegetais, consiste na aplicação de 10 µL da solução de agente antimicrobiano em discos de papel de filtro de 6mm de diâmetro, nas diferentes concentrações a serem testadas, variando de 31,25 a 500µg/mL (OSTROSKY *et al.*, 2008; AMPARO *et al.*, 2018). No entanto, com o uso desta técnica, não é possível afirmar a quantidade de solução que cada disco possui, dificultando

a constatação dos resultados. Não obstante, na difusão em poços, considerados de fácil reprodutibilidade e confiáveis, é possível contabilizar de forma clara quanto de extrato cada poço possui e os resultados por ele elucidados (PEREIRA *et al.*, 2022).

A difusão em ágar é amplamente utilizada, devido a sua simplicidade e baixo custo. Também chamado de difusão em placas, baseia-se no contato de um microrganismo com uma substância biologicamente ativa em um meio de cultura sólido, relacionando a concentração da substância ensaiada com o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo. A avaliação é baseada em um padrão biológico de referência (controle positivo) e o halo de inibição de crescimento é medido a partir da circunferência do disco ou poço até a margem onde há crescimento de microrganismos. Conforme a dimensão do halo, os microrganismos podem ser classificados em: sensíveis, moderadamente sensíveis e resistentes. No entanto, esse método não é indicado para determinar a CIM, apenas para direcionar as análises para sua determinação. Isso ocorre devido a variações na espessura do ágar, volume aplicado e propriedades físico-químicas das amostras analisadas (OSTROSKY *et al.*, 2008; AMPARO *et al.*, 2018).

O método de diluição em caldo é utilizado para determinar a relação entre o crescimento do microrganismo em meio líquido e a concentração da substância testada. Neste, não há influência da velocidade de crescimento dos microrganismos, fornecendo resultados quantitativos. No entanto, uma desvantagem desse método é a dificuldade em detectar contaminação em testes. Existem duas variações do método, sendo elas a macrodiluição e a microdiluição. Os fatores principais que influenciam a CIM incluem a sensibilidade do microrganismo, o diluente utilizado, o estágio e a taxa de crescimento bacteriano (PEREIRA *et al.*, 2022).

A macrodiluição engloba testes em tubo de ensaio, com volume em meio de cultura variável (de 1 a 10 mL). Contudo, esse método é trabalhoso, consome tempo, requer espaço no laboratório e forma grande quantidade de resíduos, o que limita a quantidade de réplicas utilizadas. Por outro lado, a microdiluição utiliza microplacas com 80, 96 ou mais poços, com volume de meio de cultura entre 0,1 e 0,2mL. O método é barato, tem reprodutibilidade, é 30 vezes mais sensível que os outros métodos, requer pequenas quantidades de amostra, podendo ser utilizado para grande número de amostras e deixa um registro permanente. Além disso, a forma de solubilização é outro fator importante, pois o solvente pode cessar o crescimento

microbiano, levando a resultados falso-positivos. Dessa maneira, para certificar-se de resultados precisos, é fundamental realizar um controle negativo, quantificando o crescimento no solvente utilizado (AMPARO *et al.*, 2018; PEREIRA *et al.*, 2022).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar a composição química do óleo essencial extraído de folhas da espécie *Mikania glomerata* popularmente conhecida como guaco e sua possível atividade antimicrobiana como subsídio às pesquisas em fitoterapia clínica.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Identificar com base na atual nomenclatura farmacopeica a espécie em estudo;
- Determinar parâmetros para controle de qualidade das folhas do espécime em questão;
- Realizar a triagem fitoquímica e avaliar a composição química do óleo essencial e suas possíveis atividades biológicas para potencial uso fitoterápico;
- Avaliar a atividade antibacteriana do óleo essencial extraído das folhas da espécie medicinal em estudo;

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Tipo de estudo

O estudo trata-se de uma pesquisa experimental realizada no Laboratório de Pesquisa em Biodiversidade (LaPeBio) da Universidade Evangélica de Goiás e em parceria com o Laboratório de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação de Produtos da Biodiversidade (Lab PD&I Bio) da Universidade Estadual de Goiás. Ressalta-se que os experimentos foram conduzidos sob a supervisão da Profa. Josana de Castro Peixoto juntamente com o técnico Lucas Paiva da Universidade Estadual de Goiás e o analista Osmar Vieira da Silva do Centro de Excelência de Pesquisa e Inovação Tecnológica em Saúde (CEPInova) da Universidade Evangélica de Goiás. Destaca-se que os mesmos serão co-autores nas produções científicas.

### 4.2 Coleta, identificação do material botânico e preparo do extrato

As folhas de *Mikania glomerata* foram coletadas na zona rural do município de Anápolis, Goiás (-16.697976 S, -48.63388 W; -16.698048 S, -48.633466 W; -16.698009 S, -48.633386 W), no mês de junho de 2024. A espécie foi identificada pela Profa Dra. Josana de Castro Peixoto e as exsicatas encontram-se depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Goiás, sob o número de tombo 15912. Coletou-se ramos caulinares com as folhas, acima de 20cm da superfície do solo; a partir de 10 AM. Foram feitos registros fotográficos do hábito da planta (Figura 1)

**Figura 1** - Hábito do espécime *Mikania glomerata* e aspectos foliares em coleta realizada no município de Anápolis, Goiás.



Fonte: Peixoto, J.C (2024).

### **4.2.1 Secagem e extração**

As folhas dos espécimes coletados foram secas em temperatura ambiente, durante 21 dias, no Laboratório de Pesquisa em Biodiversidade (LAPEBIO) da Universidade Evangélica de Goiás e pulverizadas em moinho de facas da Tecnel no Laboratório de Biodiversidade da Universidade Estadual de Goiás. Foram obtidos um total de 93,40g de material vegetal pulverizado de *M. glomerata*; o pó obtido foi devidamente identificado, acondicionado em embalagens plásticas e armazenado em temperatura ambiente até a sua utilização nos experimentos.

## **4.3 Controle de qualidade da droga vegetal**

### **4.3.1 Determinação do teor de umidade**

Em duplicata e seguindo a Farmacopéia Brasileira V (BRASIL, 2020), pesou-se 2g de material botânico pulverizado - folhas de *M. glomerata* em balança semi-analítica, logo após transferiu o conteúdo para um cadinho de porcelana - previamente pesado e dessecado em estufa a uma temperatura entre 100 -105°C, por um período de 30 min. Em seguida, o material biológico foi levado à estufa por um período de 2h sob uma temperatura de 100-105°C; após esse período a amostra foi retirada da estufa, levada ao dessecador por 20 min até atingir a temperatura ambiente e pesada. Posteriormente retornamos a amostra para a estufa por 30 min, após este período a amostra foi retirada da estufa, levada ao dessecador por 20 min. É necessário repetir este procedimento até que a diferença entre duas pesagens consecutivas não seja maior que 0,5 mg. A porcentagem de água presente na amostra foi calculada em relação a amostra do material botânico seco ao ar (PREGNOLATTO; PREGNOLATTO, 1985).

### **4.3.2 Determinação de Cinzas Totais**

Pesou-se, exatamente, cerca de 3 g da amostra e transferiu-se para um cadinho previamente tarado. Distribuiu-se a amostra de forma uniforme no cadinho e incinerou-se de forma gradual, aumentando-se gradativamente a temperatura até, no máximo,  $600 \pm 25^\circ\text{C}$ , até que todo carvão fosse eliminado. Resfriou-se em um dessecador e pesou-se o cadinho (BRASIL, 2020). Todo o ensaio foi realizado em triplicata e os resultados expressos como média e desvio padrão. Calculou-se a porcentagem de cinzas com relação à droga seca ao ar, utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Cinzas Totais} = (P3 - P1) / (P2 - P1) \times 100$$

Em que:

P1: peso do cadinho vazio;

P2: peso do cadinho com amostra; P3: peso do cadinho com as cinzas

### **4.3.3 Determinação de Cinzas Insolúveis em HCl**

O resíduo obtido na determinação de cinzas totais foi levado à fervura durante 5 minutos com 25 mL de HCl a 7% (p/v) em um cadinho coberto com vidro relógio. Lavou-se o vidro relógio com 5 mL de água quente, juntando a água de lavagem ao cadinho. Recolheu-se o resíduo, insolúvel em ácido, sobre o papel filtro, isento de cinzas, e lavou-se com água quente até que o filtrado se tornou neutro. Transferiu-se o papel filtro contendo o resíduo para o cadinho original e secou-se sobre a chapa quente e incinerou-se a cerca de 500°C até que o mesmo atingisse peso constante (BRASIL, 2020). E calculou-se a porcentagem de cinzas insolúveis em ácido em relação à droga seca ao ar, utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Cinza insolúvel em HCl} = (A - B) / C \times 100$$

Em que:

A: Peso do recipiente + resíduo; B: Peso do recipiente; C: Peso da amostra original. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão.

## **4.4 Teste de Granulometria e Intumescência**

### **4.4.1 Determinação da Granulometria do Pó**

A granulometria do pó foi realizada em triplicata, com auxílio de tamises operados por um dispositivo mecânico. Este dispositivo reproduz movimentos horizontais e verticais realizados da operação manual, através da ação mecânica de forma uniforme. Este procedimento ocorreu da seguinte forma: Separou-se, 6 tamises (Tamis ABNT 14, Tamis ABNT 25, Tamis ABNT 45, Tamis ABNT 60, Tamis ABNT 80 e Tamis ABNT 120,), com abertura de 1,7 mm, 710 mm, 355 mm, 250 mm, 180 mm e 125 mm (BRASIL, 2020). Montou-se um conjunto com a tamis de maior abertura sobre a de menor abertura. Colocou-se esse

conjunto sobre o receptor de tamises. Pesou-se cerca de 50 g de amostra, transferiu-se a amostra para o tamis superior, distribuindo a amostra de forma uniforme e tampou-se o conjunto.

Acionou-se o aparelho, por cerca de 15 minutos, com vibração adequada. Após passar este tempo, usou-se um pincel adequado para remover toda a amostra, retirando da superfície superior de cada malha e passando para um papel impermeável, e pesou-se o pó (BRASIL, 2020). Pesou-se também o pó que foi retirado do coletor. Calculou-se o percentual retido em cada tamis, usando a seguinte equação:

$$\% \text{ Retida pelo tamis} = P1/P2. 100$$

Em que: P1 = peso da amostra retida em cada tamis (em gramas);

P2 = soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (em gramas)

#### **4.4.2 Determinação do Índice de Intumescência**

Conduziu-se, simultaneamente, três determinações. Pesou-se, exatamente, 1 g do material vegetal pulverizado e colocou-se em uma proveta de 25 mL com tampa esmerilhada. Mediu-se o volume ocupado pelo material vegetal ( $V_i$ ). Adicionou-se 25 mL de água e agitou-se a cada 10 minutos, por uma 1 h. Deixou-se a mistura repousar por 3 horas, à temperatura ambiente. Mediu-se o volume, em mL, ocupado pelo material vegetal ( $V_f$ ) acrescido da mucilagem ou qualquer outro material que foi aderido subtraído do volume inicial da droga (BRASIL, 2020). Os cálculos foram realizados a partir do valor médio das três determinações que foram realizadas de forma individual e relacionou-se com 1 g de material vegetal, utilizando-se os seguintes cálculos:

$$\text{Índice de intumescência} = V_f - V_i$$

Em que:  $V_i$  = Volume inicial da droga vegetal;  $V_f$  = Volume final da droga vegetal.

#### **4.5 Triagem fitoquímica da droga vegetal**

##### **4.5.1 Determinação de Parâmetros para controle de qualidade**

Foram realizadas análises qualitativas para avaliar a presença das principais classes de metabólitos secundários no resíduo pulverizado das folhas de *M. glomerata*. Para isso, deu-se

a utilização das metodologias adaptadas de Costa (2009) e Simões *et al.* (2010) para a caracterização dos metabólitos mais relevantes como, compostos fenólicos, nitrogenados e terpenos, além dos heterosídeos cianogênicos. As análises detalhadas são descritas a seguir.

### ***Flavonoides - Extração***

Para a realização da extração pesou-se em balança de precisão 8g de amostra pulverizada de *M. glomerata* e adicionou-se 80 mL de etanol 70% (v/v). Ferveu-se a mesma durante 5 minutos e filtrou em papel filtro umedecido com etanol a 70% (v/v).

### **Reação de cianidina ou de Shinoda**

Transferiu-se 3 mL do filtrado realizado na reação anterior para um tubo de ensaio. Adicionou-se cerca de 1 cm de fita de magnésio fina e acrescentou-se cuidadosamente 1 mL de HCl concentrado, analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Os derivados flavônicos, de cor amarela, são reduzidos a derivados antociânicos, de coloração vermelha. As chalconas e isoflavonas não determinam o aparecimento de cor.

### **Reação Oxalo-Bórica**

Evaporou-se 5 mL de solução extrativa em uma cápsula de porcelana. Junte ao resíduo semi-seco 3 mL de solução de ácido bórico a 3% (p/v) em 1 mL de solução de ácido oxálico a 10% (p/v). Evaporou-se até à secura e adicionou, ao resíduo seco, 7 mL de éter etílico P.A. Analisou-se os resultados sob uma luz ultravioleta e verificou o aparecimento de fluorescência amarelo-esverdeada. Esta reação é exclusiva de flavonóis. Os outros compostos (flavonas, flavanonas e isoflavonas) podem corar-se, mas não apresentam fluorescência.

### **Reação de Ácido sulfúrico concentrado**

Adicionou-se 3 mL da solução extrativa numa cápsula de porcelana e deixou evaporar até a semi-secura. Juntou cerca de 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado e analisou-se os resultados sobre uma luz ultravioleta, e analisou o resultado quanto a fluorescência. Esta reação se baseia na formação de sais de ozônio, e suas soluções apresentam fluorescência variável conforme a posição de íon ozônio na molécula.

### ***Compostos fenólicos***

### **Reação com Hidróxidos alcalinos**

Transferiu-se 3 mL da solução extrativa para um tubo de ensaio. Adicionou-se 1 mL de NaOH a 20% (p/v) e agitou o tubo. Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Caso existam heterosídeos flavônicos na amostra, haverá desenvolvimento de coloração amarela. Em meio alcalino, alguns grupos de flavonóides apresentam cor amarela. As chalconas podem desenvolver coloração vermelho-amarelada.

### **Reação com Cloreto de Alumínio**

Transferiu-se cerca de 5 mL da solução extrativa para um béquer ou cápsula de porcelana. Concentrou-se até a metade e transferiu-se para um pedaço de papel de filtro espalhado sobre toda a superfície. Após, umedeça uma das regiões do papel com solução de cloreto de alumínio a 5% (p/v). Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Levou-se para a luz ultravioleta e observou-se quanto ao aparecimento de fluorescência. Os compostos flavonoides, em presença de cloreto de alumínio, possuem fluorescência amarela intensa quando observados sob luz UV.

### **Reação com Cloreto Férrico**

Transferiu-se 3 mL da solução extrativa para um tubo de ensaio. Adicionou-se 2 gotas de cloreto férrico a 4,5% (p/v). Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: observou o aparecimento de coloração negra, azul, amarela, verde, marrom ou vermelha.

### **Heterosídeos antraquinônicos**

#### **Reação de Bornträger Indireta**

Para a realização da caracterização desta classe de metabólitos secundários, transferiu-se 10 mL do filtrado para um béquer de 40 mL, identificando o mesmo como (I) e 10 mL para outro béquer, identificando o mesmo como (II). No conteúdo do béquer (I) acrescentou-se 0,5 mL de HCl a 10% (v/v) e levou à fervura por 2 minutos em chapa aquecedora. Realizou-se o mesmo procedimento para o béquer (II).

Transferiu-se os líquidos para os tubos identificados por (I) e (II) e, após o resfriamento, adicionou-se, a cada um dos tubos, 10 mL de éter etílico P.A, agitando- os

levemente. Logo após, separou-se a estérea dos tubos (I) e (II), e acrescentou-se 4 mL de amônia 50% (v/v) em cada um dos tubos, deixando-os em repouso por 5 minutos. Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: a presença deste metabólito secundário é evidenciada pelo aparecimento de coloração do róseo ao vermelho na fase amoniacal.

O reconhecimento dos heterosídeos antraquinônicos, na reação de Bornträger, consiste na formação de fenatos de amônia, de coloração rósea, após a extração das agliconas e das libertadas por hidrólise ácida. A cor desenvolvida, no máximo em 5 min, intensifica-se progressivamente pela oxidação das formas livres reduzidas – antrona e antranol – em antraquinona.

### **Cumarinas - Extração**

Pesou-se 2g da amostra pulverizada e realizou-se a extração com 30 mL de água a quente. Filtrou-se o mesmo e adicionou 1 mL de HCl 1N. transferiu-se para um funil de separação e extraiu-se com 10 mL de éter, reduziu-se o volume e gotejou sobre duas regiões distintas de um papel filtro e marcou-as.

### **Reação com NaOH**

Acrescentou-se 1 gota de NaOH 1N em uma das regiões onde foi aplicado o extrato estéreo e observou-se na luz UV. Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Reação positiva para fluorescência verde ou azulada.

### **Taninos - Extração**

Para a extração dos taninos presentes na amostra pulverizada pesou-se 2 gramas da mesma, em balança de precisão. Adicionou-se 50 mL de água destilada e ferveu-se durante 5 minutos. Após filtrou-se a mistura ainda quente, utilizando papel filtro. Completou-se o volume para q.s.p 100 mL. Chamou-se a mesma de solução extrativa. Separou-se 12 tubos de ensaio em uma estante. Em 6 dos 12 tubos colocou-se 5 mL da solução extrativa. Nos 6 tubos restantes adicionou-se o controle positivo, 5 mL de ácido tânico 0,5% (p/v).

### **Reação com gelatina**

Adicionou-se ao tubo identificado como (I) (amostra e controle), 5 gotas de solução de gelatina a 2,5% (p/v) em solução de NaCl a 5% (p/v). Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Comparou-se os tubos e verificou-se há presença de taninos pelo aparecimento de um precipitado branco, pois eles reagem com os aminoácidos da gelatina (prolina, por exemplo), pelo grupamento amina formando precipitado.

### **Reação com alcaloides**

Adicionou-se ao segundo tubo (amostra e controle), 5 gotas de solução de sulfato de quinino a 1% (p/v) em ácido sulfúrico a 5% (v/v). Ao terceiro tubo (amostra e controle), adicionou-se 5 gotas de solução de brucina a 1% (p/v) em ácido sulfúrico 5% (v/v). Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Comparou-se os tubos e verificou-se quanto a presença de precipitado, indicando a presença de taninos. Taninos reagem com alcalóides pelo fato destes conterem o grupamento amina na molécula (mais especificamente o N).

### **Reação com sais metálicos**

Ao quarto tubo (amostra e controle) adicionou-se 5 gotas de acetato de cobre a 4% (p/V). Ao quinto tubo (amostra e controle) adicionou-se 2 gotas de cloreto férrico a 2% (p/v). Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Comparou-se os tubos e verificou-se quanto a coloração dos tubos e a ocorrência de precipitado. Os taninos têm a propriedade de reagir e precipitar com sais metálicos, tais como, chumbo, cobre, zinco, cromo e ferro. Com sais de ferro formam precipitados enegrecidos (fenatos férricos e ferrosos).

### **Reação com Hidróxidos alcalinos**

Ao sexto tubo (amostra e controle) adicionou-se 5 gotas de solução de hidróxido de sódio ou potássio a 20% (p/v). Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Comparou-se a coloração dos tubos. A presença de taninos na amostra é observada pelo escurecimento da solução. Os taninos não precipitam pelos hidróxidos alcalinos, pois os grupos fenólicos reagem formando fenatos solúveis.

### **Alcaloides - Extração ácida**

Pesou-se 2g da amostra pulverizada. Adicionou-se 20 mL de ácido sulfúrico a 5% (v/v). Levou-se à fervura por 3 minutos e, em seguida, filtrou-se em papel filtro e resfriou o mesmo. Transferiu-se o filtrado para um funil de separação e alcalinizou o mesmo com NH<sub>4</sub>OH a 10%. Extraíu-se com 2 porções de 10 mL de clorofórmio. Logo após adicionou-se na fração orgânica 20 mL de HCl diluído. Separou-se a fração ácida e submeteu-se a pesquisa de alcaloides usando reagentes gerais dos alcaloides.

### **Reação de caracterização**

Distribuiu-se a fração ácida, igualmente, em 6 tubos de ensaio, sendo que em cada tubo, respectivamente, acrescentou-se de 3 a 6 gotas dos reativos gerais para alcaloides: Reativo de Mayer, Reativo de Dragendorff, Reativo de Bouchardat, Reativo de Bertrand, Reativo de Hager e Ácido Tânico. Montou-se, em paralelo, uma outra bateria com 6 tubos de ensaio, contendo 3 ml de solução padrão de sulfato de quinina 1% (p/v). Em cada um dos tubos adicionou-se 3 a 6 gotas dos reagentes citados acima, a fim de servirem como um padrão para comparação com a primeira bateria de tubos de ensaio. Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: A presença de alcaloides foi demonstrada pelo aparecimento de precipitado nos tubos.

Em que:

Reativo de Mayer – precipitado branco.

Reativo de Dragendorff – precipitado vermelho tijolo.

Reativo de Bouchardat – precipitado marrom-avermelhado.

Reativo de Bertrand – precipitado branco.

Reativo de Hager – precipitado amarelo

Ácido Tânico – precipitado bege.

### **Heterosídeos Cardioativos - Extração**

Para a extração dos possíveis heterosídeos cardioativos digitálicos presentes na amostra pulverizada pesou-se 2,5 g da mesma, adicionou-se 25 mL de etanol a 50% (v/v) e 10 mL de solução de acetato de chumbo a 10% (p/v) e levou-se a fervura por 4 minutos. Resfriou-se e filtrou-se o volume para 25 mL de etanol a 50% (v/v). Transferiu-se o filtrado para um funil de

separação e extraiu-se por 2 vezes com 15 mL de clorofórmio P.A. A fração clorofórmica foi utilizada nas reações abaixo.

### **Reação de Liebermann-Burchard**

Transferiu-se 3 mL da fração clorofórmica para um tubo de ensaio e evaporou-se até à secura em banho-maria. Ao resíduo do tubo, adicionou-se 1 mL do reagente de Liebermann-Burchard, recém preparado. Deixou-se o tubo em repouso por 5 minutos. Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Analisou-se quanto a coloração, sendo reação positiva para cores castanho (dedaleira); verde (cila e estrofanto). Esta reação caracteriza compostos esteroides e triterpenóides, uma vez que o reagente (anidrido acético + ácido sulfúrico) promove desidratação e desidrogenação do CPPHF, resultando em derivados com ligações duplas conjugadas, portanto, corados.

### **Reação de Pesez**

Transferiu-se 3 mL da fração clorofórmica para uma cápsula de porcelana e evaporou-se até à secura em chapa aquecedora. Adicionou-se ao resíduo, após esfriar, 3 a 6 gotas de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> P.A. Misturou-se com auxílio de um bastão e levou-se para luz UV. Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Reação positiva para aparecimento de fluorescência verde-amarelada.

### **Reação de Keller-Kiliani**

Evaporou-se, até à secura, 5 mL da fração clorofórmica num tubo de ensaio em banho maria. Ao resíduo do tubo, adicionou-se 3 mL de um reagente recém preparado que contém ácido acético glacial P.A. e clorofórmio férrico 9% (p/v) na proporção de 3:0:1.

Homogeneizou-se o conteúdo do tubo e, lentamente, verteu-se para outro tubo de ensaio contendo 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Reação positiva quanto ao desenvolvimento de um anel de coloração castanho-avermelhada na zona de contato, bem como aparecimento de coloração azul-esverdeada na camada acética. Esta reação somente é positiva se o desoxiaçúcar estiver na extremidade glicídica. Se houver glucose ou outro açúcar, a reação será negativa, mesmo havendo desoxiaçúcares na molécula.

### **Reação de Kedde**

Transferiu-se 6 mL da fração clorofórmica para um tubo de ensaio e evaporou-se até à secura em banho-maria. Ao resíduo do tubo acrescentou-se 2 mL de etanol 50% (v/v), 2 mL de água destilada, 2 mL de reagente ácido 3-5 dinitrobenzoico a 1% (p/v) recém preparado em etanol a 96% (v/v) e 2 mL de hidróxido de potássio 1M. após um repouso de 5 minutos analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: analisou-se o desenvolvimento de uma coloração castanho- avermelhada a vermelho-violeta que indica reação positiva. Esta reação é atribuída à dissociação do anel lactônico pentacíclico insaturado (cardenólido) em meio alcalino, que se une ionicamente com um reagente nitrato, como o ácido dinitrobenzóico, pícrico etc., resultando em compostos fortemente coloridos.

### **Saponinas**

#### **Determinação do índice de espuma**

Pesou-se, exatamente, 1 g da droga vegetal e transferiu-se para um erlenmeyer contendo 50 mL de água fervente. Manteve sob fervura moderada por 30 minutos. Resfriou-se e filtrou-se o mesmo para um balão volumétrico de 100 mL. Completou-se, através do filtro, até 100 mL. Distribuiu-se o decocto obtido em 10 tubos de ensaio com tampa, em série sucessiva de 1 até 10 mL, e ajustou-se o volume do líquido em cada tubo a 10 mL de água destilada. Tampou-se os tubos e agitou-os com movimentos verticais por 15 segundos, com duas agitações por segundo. Deixou-se em repouso por 15 segundos e mediu-se a altura da espuma. Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Se a altura da espuma de todos os tubos for inferior a 1 cm, o índice de espuma é menor do que 100. Se, em qualquer um dos tubos, a altura da espuma medida for 1 cm, a diluição do material vegetal nesse tubo (A) é o índice observado. Se esse tubo for o primeiro ou o segundo na série, é necessário fazer uma diluição intermediária, pelo mesmo método descrito acima, para obter um resultado mais preciso.

Se a altura da espuma for maior do que 1 cm em todos os tubos de ensaio, o índice de espuma é maior do que 1000. Nesse caso, a determinação precisa ser feita com uma nova série de diluições do decocto para se obter um resultado mais preciso. O Índice de Espuma (IE) é calculado segundo a equação:

$$IE = 1000/A$$

Em que:

A= Volume, em mL do decocto usado na preparação da diluição no tubo.

## **Heterosídeos Cianogênicos**

### **Pesquisa de Heterosídeos Cianogênicos pela técnica de Guignard**

Triturou-se cerca de 10 a 15 g de vegetal fresco num gral com auxílio de um pistilo e transferiu-se para um Erlenmeyer com boca esmerilhada. Adaptou-se o papel reativo de Guignard na boca do Erlenmeyer, prendendo-o com a tampa, de modo que a tira não encoste nas paredes internas do frasco e nem no material triturado. Foi aquecido ligeiramente. Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Analisou-se quanto a cor do papel, se o mesmo passou de amarelo para alaranjado e, finalmente, para vermelho indicando reação positiva para este metabólito secundário.

### **Pesquisa de Heterosídeos Cianogênicos numa solução do azul de Prússia**

Num tubo de ensaio, adicionou-se 2 mL de água de amêndoas ou 2 mL de uma solução obtida pela trituração e filtragem do vegetal fresco. Acrescentou-se 5 gotas de NaOH 10%, 5 gotas de FeSO<sub>4</sub> 10% e 1 gota de FeCl<sub>3</sub> 9%. Agitou-se. Adicionou-se 10 gotas de HCl diluído. Agitou-se. Analisou-se o resultado utilizando as seguintes observações: Analisou-se quanto a formação da cor Azul da Prússia para reação positiva.

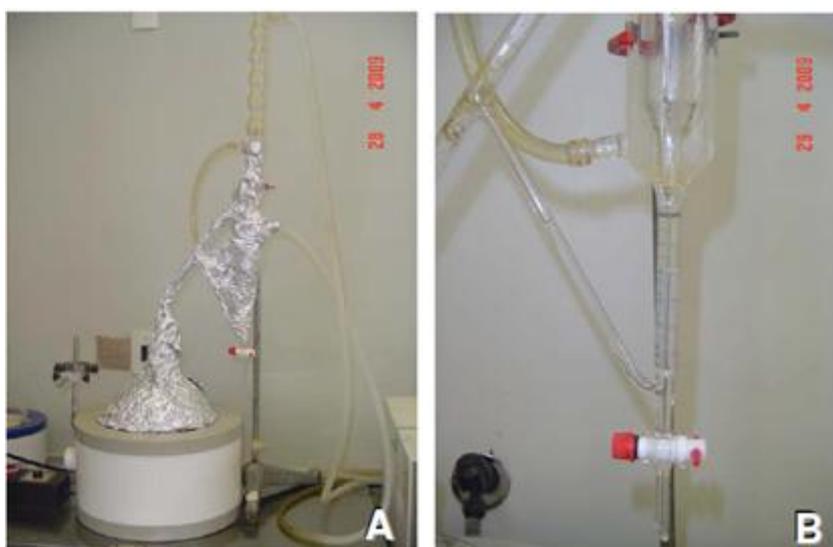
## **4.6 Extração do óleo essencial**

Foram pesados 40 g do material botânico submetido à extração por hidrodestilação pelo método de Clevenger, modificado por Wasick (1963). A droga vegetal foi transferida para um balão volumétrico de 500 mL de fundo chato, adicionou-se ao balão aproximadamente 300 mL de água destilada que foi acoplado ao aparelho de Clevenger modificado (figura 1-A), utilizando manta aquecedora como fonte de calor. O sistema foi coberto com papel alumínio, para ficar ao abrigo da luz, e monitorado a cada 30 minutos até um total de 3 horas. O volume do óleo essencial foi medido no tubo graduado do próprio aparelho (figura 1-B) e o rendimento, em porcentagem, foi calculado em relação à quantidade inicial de material botânico empregado na extração. O óleo essencial assim obtido foi dessecado com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, submetido à atmosfera de nitrogênio e acondicionado em pequeno frasco de vidro âmbar, livre de impurezas

e hermeticamente fechado. O material obtido foi armazenado sob refrigeração (a  $-20^{\circ}\text{C}$ ) até a sua utilização. (Figura 2)

**Figura 2** – Aparelho tipo Clevenger modificado para extração de óleos essenciais. A - aspecto geral do aparelho durante o processo de extração; B - detalhe do tubo graduado onde o óleo extraído é reunido e medido.

Fonte: Peixoto, J.C (2024).



#### 4.6 Teor do óleo essencial

O rendimento do óleo obtido das amostras coletadas foi calculado por regra de três simples levando em consideração que 40 g da amostra pulverizada, submetida à hidrodestilação, equivale a 100%. Portanto, a porcentagem do teor do óleo foi obtida em relação à quantidade de óleo extraída:

#### 4.7 Análise quantitativa da composição química do óleo essencial

O óleo essencial extraído foi submetido à análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) em um equipamento modelo QP5050A, utilizando-se uma coluna capilar de sílica fundida SBP-5 (30m x 0,25mm x 0,25 $\mu\text{m}$ ; filme de 5% de

fenilmetilpolisiloxano), mantendo-se uma vazão de 1ml.min<sup>-1</sup> de hélio, como gás de arraste, e aquecimento com temperatura programada (60° C com uma isoterma de 2 min; seguido de um gradiente de 3° C. min<sup>-1</sup> até 240° C, e em seguida, com um gradiente de 10° C. min<sup>-1</sup> até 280°C, mantendo-se uma isoterma de 10min, com um tempo total de corrida de 70 min). A energia de ionização do detector foi medida em 70 eletronsvolts, sendo o volume de injeção da amostra de 0,5µl diluído em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (~10%). A análise foi conduzida no modo varredura, com um intervalo de massas de 40-400 m/z e uma razão de split de 1:5. A análise quantitativa foi obtida pela integração do Cromatograma Total de Íons (TIC).

A identificação dos componentes do óleo essencial foi realizada por comparação (automática e manual) dos espectros de massas com os das bibliotecas NIST/EPA/NIH (1998), além da comparação dos espectros de massas de amostras autênticas e Índices de Retenção (IR) calculados com os da literatura (ADAMS, 2007). Os Índices de Retenção foram calculados por meio da co-injeção com uma mistura de hidrocarbonetos, C<sub>8</sub>-C<sub>32</sub> (Sigma, USA), e com aplicação da equação de Van den Dool e Kratz (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963; ADAMS, 2007).

Equação 1- proposta por Van den Dool e Kratz:

$$IR = 100N [(t_x - t_{n-1}) / (t_n - t_{n-1})] + 100 C_{n-1}$$

Onde:

N = C<sub>n</sub> - C<sub>n-1</sub> C<sub>n</sub> = número de carbonos do n-alcano que elui após a substância analisada

C<sub>n-1</sub> = número de carbonos do n-alcano que elui antes da substância analisada

t<sub>x</sub> = tempo de retenção da substância analisada

t<sub>n</sub> = tempo de retenção do n-alcano que elui após a substância analisada

t<sub>n-1</sub> = tempo de retenção do n-alcano que elui antes da substância analisada.

#### 4.8 Atividade antibacteriana

Foi submetido aos testes de atividade antibacteriana o óleo essencial obtido das folhas de *M. glomerata*. Os testes de microdiluição em caldo para o ensaio microbiológico foram realizados conforme recomendações do *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI), com modificações, para testes de susceptibilidade antimicrobiana de bactérias aeróbias (CLSI M7-A6, 2010). As leituras das placas foram feitas com a utilização da resazurina (7-hidroxi-

3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido) como indicador visual de viabilidade bacteriana (SARKER; NAHAR; KUMARASAMY, 2007) e colorimétrico de óxido-redução (SALVAT; ANTONNACCI; FORTUNATO, 2001). Os ensaios foram realizados em triplicata e em câmara de fluxo laminar (para evitar contaminações).

Foram utilizadas cepas-padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) mantidas no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Goiás (UEG), câmpus Anápolis, descritas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Microrganismos utilizados na determinação da concentração mínima inibitória (CMI).

<i>MICROORGANISMOS</i>	<i>ATCC</i>
Bactérias Gram (+)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228
Bactérias Gram (-)	
<i>Escherichia coli</i>	25312
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853

Para realização dos ensaios microbiológicos, as cepas padrão foram mantidas e conservadas de acordo com o procedimento descrito por Silva (2008), com modificações.

Para o preparo dos inóculos, os eppendorfs foram retirados do freezer até adquirirem temperatura ambiente. As cepas foram reativadas pela técnica do esgotamento. Os microrganismos foram inoculados com auxílio de alça de platina em placas contendo ágar *Muller Hinton* (MH) e em seguida incubados à 35°C por 24 horas.

A amostra do óleo essencial foi solubilizada acrescentando Tween 80<sup>®</sup> a 0,02% e diluída em caldo MH de modo a obter uma concentração de 2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5 e 31,25 µg mL<sup>-1</sup>. As diluições do antibiótico cloranfenicol foram preparadas conforme recomendado pelo CLSI (2010), e ilustrado nas figuras 4 e 5, nas concentrações de 64, 32, 16, 8, 4, 2 e 1 µg mL<sup>-1</sup>, sendo utilizadas como controle para validação da técnica. Todos os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar para evitar contaminações cruzadas.

Para o ensaio microbiológico para determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI), após o preparo das diluições, foram pipetados em microplacas estéreis de 96 poços, providas de tampas, 100 µL de cada concentração do óleo da coluna 1 até a coluna 7 e das linhas A a D. Na coluna 9, da letra A até a letra D, foram pipetados 100 µL de caldo *Muller Hinton* com o inóculo, sendo este, portanto, o controle de viabilidade de crescimento bacteriano – controle positivo - CP. Na coluna 11, da letra A até a letra D, foram pipetados 100 µL da solução de Tween 80® 0,02% em caldo *Muller Hinton*, sem amostra, sendo este, portanto, o controle do referido surfactante. Na linha F, da coluna 1 a 7, foram pipetados 100 µL de MH sem inóculo, com as respectivas concentrações do óleo, sendo este, portanto, o controle da amostra. Na coluna 10, da linha F até a H, foram pipetados 100 µL de MH sem inóculo que foram utilizados como controle da esterilidade do meio – controle negativo – CN. Após o preenchimento das placas, 5 µL de cada inóculo das bactérias a serem testadas foram depositados nos orifícios dos poços das colunas 1 a 7 e 11 e das linhas A a D. A microplaca foi tampada, incubada a 35°C por 22 horas e fotografada. Após o período de incubação na estufa, foram acrescentados em todos os poços 20 µL de resazurina 0,001% em solução fisiológica 0,9% e a placa foi novamente incubada por 2 horas e fotografada.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Controle de qualidade da droga vegetal

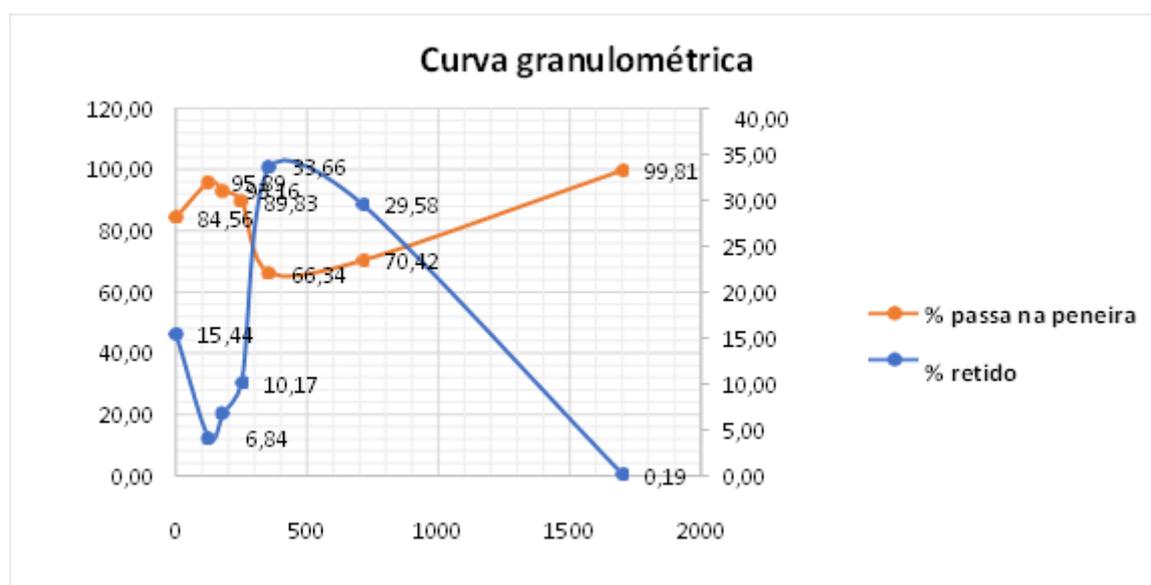
Os resultados dos parâmetros de qualidade da matéria-prima vegetal de *M. glomerata* para perda por dessecação, teor de cinzas totais, teor de cinzas insolúveis em HCl e índice de intumescência estão apresentados na Tabela 2 e o de granulometria de pós está demonstrado na figura 3.

**Tabela 2:** Parâmetros de qualidade da matéria-prima vegetal em pó obtida das folhas de *M. glomerata*

Parâmetros	Resultados (média $\pm$ desvio padrão)
Perda por dessecação	8,5% $\pm$ 0,19
Teor de cinzas totais	1,36% $\pm$ 0,16
Teor de cinzas insolúveis em HCl	0%
Índice de intumescência	0,5 mL $\pm$ 0,0

Fonte: Próprio autor, (2024).

**Figura 3:** Curva granulométrica representando os resultados da granulometria de pós dos resíduos das folhas de *M. glomerata*.



Fonte: Próprio autor, (2024).

### 5.3 Identificação da classe de metabólitos secundários

A tabela 3 apresenta os resultados, a partir das análises da prospecção fitoquímica, para flavonoides, compostos fenólicos em geral e heterosídeos antraquinônicos, cumarinas, taninos, alcaloides, heterosídeos cardioativos e saponinas das folhas de *M.glomerata*.

**Tabela 3** – Resultados observados na triagem fitoquímica qualitativa da droga vegetal das folhas de *Mikania glomerata*.

Classe de Compostos	Reações/Testes	Resultados
Flavonoides	Reação da cianidina ou de Shinoda	-
	Reação Oxalo-Bórica	-
	Reação com Ácido Sulfúrico Concentrado	+
Compostos Fenólicos em Geral - caracterização de hidroxilas fenólicas	Reação com Hidróxidos Alcalinos	+
	Reação com Cloreto de Alumínio	+
	Reação com Cloreto Férrico	+
Heterosídeos antraquinônicos	Reação de Bornträger Indireta	
Cumarinas	Reação de caracterização	+
Taninos	Reação com gelatina	+
	Reação com alcalóides	+
	Reação com sais metálicos	+
	Reação com Hidróxidos Alcalinos	+
Alcalóides - Reagentes iodados	Reativo de Mayer	-
	Reativo de Dragendorff	-
	Reativo de Bouchardat:	-
Alcalóides - Reagentes com poliácidos	Reativo de Bertrand	-
	Reativo de Hager	

Alcalóides - Reagentes à base de ácidos orgânicos	Ácido Tânico	-
Heterosídeos Cardioativos	Reação de Liebermann-Burchard	+
	Reação de Pesez	+
	Reação de Keller-Kiliani	-
	Reação de Kedde	-
Saponinas	Determinação do índice de espuma	-
Heterosídeos Cianogênicos	Papel reativo de Guignard	-

Legenda: Presente (+); Ausente (-)

Fonte: Próprio Autor (2024).

#### 5.4 Rendimento e composição química do óleo

Os rendimentos dos óleos essenciais, em porcentagem (V/p), calculados a partir das amostras coletadas na área de cultivo e empregadas na extração, encontram-se expressos na Tabela 4.

**Tabela 4:** Teor de óleo essencial, em porcentagem (V/p), das amostras de *Mikania glomerata* (guaco) coletadas em Anápolis, Goiás.

<i>Componentes</i>	<b>Teor de óleo essencial % (V/p)</b>
Amostra I	0,05
Amostra II	0,03
Amostra III	0,09
Amostra IV	0,19
Amostra V	0,05

Fonte: Próprio autor, (2024).

Os componentes principais, com os respectivos teores: mínimos e máximos, expressos em porcentagem, encontram-se listados nas Tabelas 5, 6 e 7.

**Tabela 5:** Componentes do óleo essencial das folhas de *Mikania glomerata* (guaco) coletadas em Anápolis, Goiás.

<i>Componentes</i>	<i>RI<sup>a</sup></i>	<i>RI / (LIT.)<sup>b</sup></i>
Sabineno	974	975
1-octen-3-ol	977	979
Beta-pineno	978	979
o-cimeno	1024	1022
Beta-felandreno	1029	1029
Não identificado	–	–
Não identificado	–	–
Não identificado	–	–
1,3,8-p-mentatrieno	1121	1110
<b>Isopulegol</b>	1145	1145
Não-identificado	–	–
Não-identificado	–	–
<b>Iso-isopulegol</b>	1157	1155
Formato de nerila	1270	1280
Alfa-copaeno	1378	1376
<b>Beta-bourboneno</b>	1387	1387
Beta-elemeno	1392	1390
Geosmina	1404	1399
Dodecanal	1407	1408
Alfa-cedreno	1410	1410
<b>(E)-cariofileno</b>	1420	1419
Alfa-trans-bergamoteno	1439	1432

Fonte: Próprio autor, (2024).

Legenda: <sup>a</sup>Índice de retenção obtido nas análises; <sup>b</sup>Índice de retenção obtido na literatura: Adams (2007). Nota: Em negrito, componentes com maior teor de óleo na espécie *M. glomerata*

**Tabela 6:** Teor, expresso em porcentagem, dos componentes principais do óleo essencial das folhas de *Mikania glomerata* (guaco) coletadas em Anápolis, Goiás.

<b>Componente químico óleo essencial</b>	<b>Teor (%)</b>				
	I	II	III	IV	V
Isopulegol	1,29	9,3	1,23	0	1,7
Iso-isopulegol	0,71	0	3,96	0	3,3
Beta-bourboneno	1,93	3,6	18,6	2,7	6,2
(E)-cariofileno	8,09	6	5,47	6,9	5,20

Legenda: I – V: Espécimes de *M. glomerata*

Fonte: Próprio autor, (2024).

**Tabela 7:** Teores mínimos e máximos, expressos em porcentagem, dos componentes principais do óleo essencial das folhas de *Mikania glomerata* (guaco) coletadas em Anápolis, Goiás.

<b>Componentes principais</b>	<b>RI<sup>a</sup></b>	<b>RI / (LIT.)<sup>b</sup></b>	<b>Teor (%)</b>	<b>Teor (%)</b>
			<b>mínimo</b>	<b>máximo</b>
Isopulegol	1145	1145	0.00	9.3
Iso-isopulegol	1157	1155	0.00	3.96
Beta-bourboneno	1387	1387	1.93	18.6
(E)-cariofileno	1420	1419	5.20	8.09

Fonte: Próprio autor, (2024).

Legenda: <sup>a</sup>Índice de retenção obtido nas análises; <sup>b</sup>Índice de retenção obtido na literatura: Adams (2007).

### 5.5 Atividade antimicrobiana

Os resultados para o teste de viabilidade como controle da técnica do ensaio microbiológico utilizando cloranfenicol encontram-se destacados na tabela 8.

**Tabela 8.** Concentração Mínima Inibitória - CMI ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) do antibiótico cloranfenicol frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas das cepas ATCC testadas.

<b>BACTÉRIAS TESTADAS</b>	<b>Cloranfenicol (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	2
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25312	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	2

Fonte: Próprio autor, (2024).

Os resultados da concentração mínima inibitória (CMI) do ensaio microbiológico para avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* do óleo essencial obtido das folhas de *M. glomerata* estão elencados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Concentração Mínima Inibitória - CMI ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) do óleo essencial de *M. Glomerata* frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas das cepas ATCC testadas.

<b>BACTÉRIAS TESTADAS</b>	<b>OE (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	125
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	125
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25312	> 2000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1000

Legenda: OE = óleo essencial de *M. glomerata*.

Fonte: Próprio autor, (2024).

Utilizou-se a classificação de Holetz *et. al.* (2002) para a determinação da atividade antimicrobiana da amostra do óleo testado. De acordo com esta classificação, amostras que apresentam CMI menor que  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  possuem boa atividade antimicrobiana, amostras com CMI entre  $100$  e  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  possuem atividade antimicrobiana moderada, amostras com CMI entre  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  possuem atividade fraca e aqueles que possuem atividade antimicrobiana acima de  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  são considerados inativos.

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 Controle de qualidade da droga vegetal

A umidade em materiais vegetais é propícia à ação de diversas enzimas, possibilitando o desenvolvimento de fungos e bactérias, hidrólise e conseqüentemente deterioração dos constituintes da espécie (COUTO *et al.*, 2009); O percentual de perda por dessecação para as folhas de *M. glomerata* foi de  $8,5\% \pm 0,19$ . Tendo que os valores de umidade para matérias-primas vegetais de acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2020) são de 8 a 14%. Valores entre 8 a 14% atendem as especificações para a maioria das drogas vegetais descritas na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2020) como é o caso de *M. glomerata* analisada. De acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª edição, umidade elevada em produtos vegetais pode levar à deterioração precoce e ao crescimento de microrganismos indesejados.

O teor de cinzas totais e o teor de cinzas insolúveis em HCl foram de  $1,36\% \pm 0,16$  e 0%, respectivamente expressados na (Tabela 1). A presença de cinzas totais e cinzas insolúveis em HCl pode estar relacionada à concentração de minerais ou outros compostos inorgânicos presentes na matéria-prima, e a presença de impurezas inorgânicas ou compostos indesejados na matéria-prima. A determinação do teor de cinzas totais de um vegetal representa a soma do material inorgânico da espécie *M. glomerata* analisada com as substâncias que têm origem terrosa citado acima, cuja especificação é de no máximo 14%. O teor de cinzas insolúveis em HCl permite que seja verificado contaminantes como resíduos de terra ou areias na amostra analisada como citado acima, tendo especificação de no máximo 3% (BRASIL, 2020). Sendo assim, os valores que foram obtidos desses parâmetros neste estudo foram conforme os padrões e efetivos para os parâmetros de qualidade para a droga vegetal analisada (SIMÕES *et al.*, 2010).

O índice de intumescência da *M. glomerata* foi de  $0,5 \text{ mL} \pm 0,0$ , cujo resultado indica o volume ocupado pelo inchamento a cada 1 g de droga vegetal analisada com adição de água. Essa propriedade pode ser relevante para aplicações onde a capacidade de absorção de líquidos é desejada, como em formulações de alimentos ou cosméticos. A determinação desse índice evidencia presença de mucilagem na matéria-prima vegetal (COUTO *et al.*, 2009; SOARES; SILVA, 2023).

A granulometria é uma etapa essencial para a padronização de um processo extrativo. Segundo Vasconcelos *et al.* (2005) é importante determinar a granulometria, além do método de extração e solvente extrator, pois esses parâmetros podem alterar o rendimento do processo de extração. A granulometria de pó causa impacto na qualidade do processo extrativo e do produto. Os pós grossos, moderadamente grossos e semifinos são considerados, de acordo com a literatura, como os ideais para a produção de extratos. Isto se deve exclusivamente às características das partículas formadas a partir da moagem do material vegetal. Insumos farmacêuticos ativos de origem vegetal para uso na produção industrial de extratos devem ter classificação de pó moderadamente grosso ou semifino. Desse modo o pó obtido no presente trabalho pode ser considerado viável à produção de extratos comerciais (Simões *et al.*, 2010).

## 6.2 Identificação dos metabólitos secundários

A Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM) permitiu detectar 22 componentes comuns nos óleos essenciais das amostras de *M. glomerata*, em estágio vegetativo, sendo que cinco destes componentes não foram identificados. Dentre os componentes identificados, 47,06% são monoterpenos, 35,30% são sesquiterpenos e 17,64% correspondem a outros compostos orgânicos, tais como álcoois alifáticos, hidrocarbonetos cíclicos e aldeído láurico.

Ainda de acordo com Heinzmann, Spitzer e Simões (2010), monoterpenoides (10C) e sesquiterpenoides (15C) constituem a maioria dos componentes dos óleos voláteis obtidos por processos de destilação, enquanto diterpenoides (20C), principalmente quando oxigenados, aparecem apenas em óleos obtidos por extração com solventes e por fluido supercrítico. Nos vegetais, existem duas rotas biossintéticas distintas que levam à biossíntese dos terpenoides: uma ocorre no citoplasma (rota do ácido mevalônico), e a outra, nos plastídeos (rota do 2-C-metileritritol-4-fosfato, abreviado como MEP)

Na análise observada do extrato das folhas de *Mikania Glomerata*, na reação para prospecção de saponinas, um importante metabólito de plantas medicinais, foi negativo. No entanto, para outros metabólitos secundários como flavonoides, compostos fenólicos e cumarinas foi evidenciado a presença em sua composição. Nas descrições feitas por Silva *et al.* (2008), houve resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, sugerindo que as propriedades farmacológicas atribuídas à planta devem ser induzidas por diferentes princípios ativos, possivelmente as cumarinas.

### 6.3. Análise da composição do óleo essencial

Os estudos de rendimento e composição de óleos essenciais para espécies do gênero *Mikania* são para outras espécies. Castro (2002), em estudo sobre a influência de preparados homeopáticos sobre espécies medicinais, encontrou rendimento de 2,9% para o óleo essencial de *Mikania glomerata*. Portanto, os espécimes avaliados neste trabalho apresentaram também rendimento de óleo essencial abaixo do relatado na literatura citada. Este fato pode ser atribuído a fatores, tais como: época do ano em que foi feita a coleta, estágio de desenvolvimento do vegetal, localidade geográfica (altitude), dentre outros fatores ambientais (OLIVEIRA; AKISUE; AKISUE, 1998). Paula (2011) ressalta que o ciclo vegetativo da planta e fatores extrínsecos, como tipo de cultivo e o ambiente de desenvolvimento do vegetal, são preponderantes para o teor de óleo essencial na planta.

### 6.4 Atividade antimicrobiana

A maioria dos óleos voláteis, quando empregada em concentrações adequadas, apresenta a propriedade de inibir o crescimento e/ou matar microrganismos, resultando nas atividades antimicótica, antibacteriana e antiviral (SIMÕES, 2010). Rocha (2013) destaca que, cientificamente, tem sido estabelecido que cerca de 60% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas. Desta forma, os óleos essenciais exercem papel fundamental na defesa contra microrganismos. Há inúmeros estudos na literatura que analisaram a atividade antibacteriana de óleos essenciais extraídos de diversas espécies vegetais.

Para outras espécies de potencial medicinal e utilizadas por pacientes, a atividade antibacteriana dos óleos essenciais do alfavacão (*Ocimum gratissimum*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e sálvia (*Salvia officinalis*) foi verificada, em estudo de Pereira *et al.* (2022), frente a 100 cepas de bactérias isoladas de indivíduos com diagnóstico de infecção urinária. Das 100 amostras analisadas, 79% eram da espécie *Escherichia coli*, e as demais eram de *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella oxytoca* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os autores concluíram que a atividade bactericida dos óleos das ervas medicinais estudadas foi satisfatória, principalmente da *S. officinalis*, que apresentou 79% de inibição sobre as cepas amostradas. *O. gratissimum* e *C. citratus* apresentaram atividade antimicrobiana em 16% das bactérias testadas.

A ação antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) e palmarosa (*Cymbopogon martinii*) foi avaliada para os microrganismos

*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella thyphimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Clostridium perfringens* em estudo de Scherer *et al.* (2009). Os autores concluíram que o óleo obtido das duas espécies investigadas demonstraram moderada a forte ação antimicrobiana frente aos microrganismos testados.

Em paralelo aos estudos, foi perceptível na avaliação da atividade antimicrobiana do extrato da *Mikania glomerata*, uma ação moderada contra os agentes *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, uma ação fraca contra o agente *Pseudomonas aeruginosa* e uma ação antimicrobiana inativa contra o agente *Escherichia coli*. O que nos permite dizer que o óleo de guaco possui atividade antimicrobiana, porém a sua eficácia e potência depende da espécie analisada, variando de moderada a fraca ação a depender do agente microbiano.

### **6.5 Importância médica dos fitoterápicos na Atenção Primária à Saúde**

Soares e Silva *et al.* (2012) evidenciam a gama química e o potencial terapêutico em amplos aspectos, como anti-inflamatório, antitumoral, anticonvulsivante, antiviral, antibacteriano, isso nos permite uma ampla abordagem na prática clínica. De modo semelhante, o guaco possui algumas dessas substâncias, propriedades em sua composição e amplo uso na prática. Esses estudos corroboram o fato de que o uso de fitoterápicos é amplamente disseminado na forma de terapia alternativa por diversas pessoas. Isso é de extrema importância quando são utilizados fitoterápicos que são comprovadamente eficazes no combate a algum tipo de afecção e, especialmente, para pacientes poli medicamentosos, para gestantes que possuem contraindicação à medicamentos convencionais e para pacientes que possuem efeitos adversos exorbitantes no uso de medicamentos convencionais, por exemplo, que possuem, assim, uma forma alternativa de tratamento.

Para isso, a Atenção primária é importante para uma maior disseminação do uso desses fitoterápicos para pacientes que se beneficiaram do uso, por ser a porta de entrada do sistema de saúde. A pesquisa sobre a composição química e a atividade antibacteriana do óleo essencial de *Mikania glomerata* (guaco) justifica-se por múltiplos fatores médicos e científicos, destacando-se: O guaco é tradicionalmente usado no tratamento de bronquites, gripes e asma, com eficácia broncodilatadora e anti-inflamatória validada em estudos.

A padronização do óleo essencial pode ampliar suas aplicações, oferecendo uma alternativa fitoterápica segura e acessível, especialmente em regiões com limitações de acesso a medicamentos sintéticos. A *M. glomerata* já consta em formulários oficiais brasileiros, como o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira. Pesquisas que detalhem sua

composição química e mecanismos de ação são essenciais para garantir eficácia, dosagens seguras e evitar interações medicamentosas (por exemplo, o efeito anticoagulante da cumarina). Apesar do uso popular e o fitoterápico xarope e tintura, há carência de ensaios clínicos para o óleo essencial que comprovem a eficácia antibacteriana *in vivo* e estabeleçam protocolos terapêuticos. Esta pesquisa preenche essa lacuna, alinhando-se às diretrizes da OMS para integração de medicina tradicional aos sistemas de saúde.

Esta pesquisa faz parte de um macroprojeto intitulado: Fitoterapia Aplicada à Medicina: Eficácia e Segurança no uso de plantas medicinais e fitoterápicos cuja investigação proposta não apenas valida cientificamente um recurso terapêutico tradicional, mas também contribui para o desenvolvimento de práticas integradas e complementares no estudo de infecções bacterianas, em consonância com as demandas globais por terapias seguras e eficazes.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Logo, conclui-se que estudos fitoquímicos são importantes para obtenção de matéria-prima farmacêutica e na descoberta de substâncias ativas de plantas como protótipos de fármacos para a obtenção e desenvolvimento de fitoterápicos que podem ser prescritos por médicos e dispensados aos pacientes. Ressalta-se ainda que considerando a rica biodiversidade de flora medicinal do Brasil é de responsabilidade dos profissionais da área da saúde contribuir com o conhecimento do potencial terapêutico, bem como de possíveis riscos oriundos da utilização para fins medicinais, já que a literatura apresenta escassez de estudos farmacognósticos e de atividades farmacológicas direcionados a determinadas utilização da droga vegetal do guaco.

Portanto, evidencia-se o potencial terapêutico do óleo essencial de *Mikania glomerata* (guaco), demonstrando suas propriedades antibacterianas e capacidade de reduzir processos inflamatórios. Porém ainda é necessária uma melhor análise química das substâncias bioativas presentes no guaco e uma validação etnofarmacológica com testagem em pacientes, contribuindo para o uso seguro e eficaz das plantas medicinais. Novos estudos sobre a farmacopeia desta droga vegetal ajudam a estabelecer melhores padrões de qualidade para garantir a eficácia e a segurança do uso terapêutico. Diante de uma crescente resistência aos antimicrobianos e os efeitos adversos aos fármacos em geral, a fitoterapia torna-se uma alternativa relevante. A pesquisa com o guaco amplia o conhecimento científico, oferecendo tratamentos menos invasivos e com menor risco de interações. Assim, este estudo destaca a importância das plantas medicinais na saúde pública e incentiva o uso sustentável dos recursos naturais.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4 ed. **Carol Stream: Allured Publishing Corporation**, 2007.
- ALMEIDA, C. F. B. Plantas medicinais da caatinga e floresta atlântica nordestina: aspectos químicos, ecológicos e culturais. **Recife –PE: Universidade Federal de Pernambuco**; 2009.
- ALMEIDA, F.; OLIVEIRA, M. Evidências científicas sobre a eficácia e segurança dos fitoterápicos: aspectos regulatórios e clínicos. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 28, n. 1, p. 25-33, 2018.
- ALVES, C., *et al.* Anti-inflammatory activity and possible mechanism of extract from *Mikania laevigata* in carrageenan-induced peritonitis. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, n. 8, p. 1097-104, 2009.
- AMPARO, T.R., *et al.* Métodos Para Avaliação In Vitro Da Atividade Antimicrobiana De Plantas Medicinais: A Necessidade Da Padronização. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 30, n. 1, p. 50–59, 2018.
- AGYARE, C., *et al.* Evaluation of Antimicrobial and Wound Healing Potential of *Justicia flava* and *Lansea welwitschii*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 1, n. 10, p. 2, 2013.
- ATASANOV, *et al.* Discovery and Resupply of Pharmacologically Active Plant-Derived Natural Product. **Biotechnology Advanced**, v. 5, n. 1, p. 1-33, 2015.
- BAKKALI, F., *et al.* Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.
- BENATTI, B., *et al.* Effects of a *Mikania laevigata* extract on bone resorption and RANKL expression during experimental periodontitis in rats. **Journal of Applied Oral Science**, v. 20, n. 2, p. 340-6, 2012.
- BENGTSSON-PALME, J.; KRISTIANSSON, E.; LARSSON, D.G.J. Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 42, n. 1, 2017.
- BISSO, B. N., *et al.* Triagem fitoquímica, atividades antioxidantes e antimicrobianas de sete plantas medicinais pouco investigadas contra patógenos microbianos. **Avanços em Ciências Farmacológicas e Farmacêuticas**, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2022.
- BONA, E.A.M.D., *et al.* Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 218–225, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 48, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de

medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da União, Brasília**, DF, 17 março. 2004.

Disponível em:

[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/rdc0048\\_16\\_03\\_2004.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/rdc0048_16_03_2004.html)

BRASIL. Farmacopeia Brasileira. 6. ed. **Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, 2020.

BRESOLIN, T. M. B.; CECHINEL FILHO, V. **Fármacos e medicamentos: uma abordagem multidisciplinar**. São Paulo, n. 1, p. 416, 2010.

BRITO, A. M. G., *et al.* Aromaterapia: da gênese a atualidade. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 789–793, 2013.

CASTRO, D. M. Preparações homeopáticas em plantas de cenoura, beterraba, capim-limão e chambá. **Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa**, p. 240, 2002.

CAVALCANTE, G. M., *et al.* Atividade antimicrobiana de *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Moraceae) sobre o desenvolvimento de *Streptococcus pneumoniae* e *Escherichia coli*. **Scientia Plena**, v. 9, n. 2, p. 1 – 7, 2013.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-first informational supplement. 6. ed. M7-A6. **Wayne: CLSI**, 2010.

CHAMBERS, H.F.; DELEO, F.R. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, n. 9, p. 629–641, 2009.

CZELUSNIAK, K. E.; PEREIRA, D. F.; FREITAS, G. B. L. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania Laevigata* Schulyz. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 400-409, 2012.

COUTO, M. F., *et al.* A umidade em materiais vegetais e sua relação com a ação de enzimas e deterioração. **Revista Brasileira de Armazenagem**, v. 34, n. 1, p. 47-55, 2009.

COSTA, C. H.; RUFINO, R.; LAPA E SILVA, J. R. Células inflamatórias e seus mediadores na patogênese da DPOC. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, n. 3, p. 347–354, 2009.

CONTRERAS-OMÑA R.; ESCORCIA-SAUCEDO A., VELARDE-RUIZ VELASCO J. Prevalence and impact of antimicrobial resistance in gastrointestinal infections: **A review**. **Revista de gastroenterologia do México**, v. 86, n. 3, p. 265-275, 2021

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2002.

FERREIRA, R.; LIMA, J. Impacto da cumarina sobre a modulação do TNF-alfa em processos inflamatórios agudos e crônicos. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 24, n. 6, p. 18-28, 2020.

GIL-GIL, T., *et al.* Antimicrobial resistance: A multifaceted problem with multipronged solutions. **Microbiology Open**, v. 8, n. 11, 2019.

GIONO-CEREZO, S.; IGNACIO, S.P.J; MORFÍN-OTERO, M.D.R. Resistência antimicrobiana: Importancia y esfuerzos por contenerla. **Gaceta Médica de México**, v. 156, n. 2, 2020.

HOLETZ, F. B., *et al.* Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HUTCHINGS, M.I.; TRUMAN, A.W.; WILKINSON, B. Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology**, v. 51, p. 72-80, 2019.

HUEMER, M., *et al.* Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. **EMBO reports**, v. 21, n. 12, 2020.

KANG, E., *et al.* Regulation of anti-inflammatory and antioxidant responses by methanol extract of *Mikania cordata* (Burm. f.) B. L. Rob. leaves via the inactivation of NF- $\kappa$ B and MAPK signaling pathways and activation of Nrf2 in LPS-induced RAW 264.7 macrophages. **Biomed Pharmacother**, v. 168, n. 1, p. 115746, 2023.

KUMAR, S., *et al.* Herbal medicines for diabetes management and its secondary complications. **Curr Diabetes Reviews**, v. 17, n. 4, p. 437-456, 2021.

LISTER, P.D.; WOLTER, D.J.; HANSON, N.D. Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* : Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 22, n. 4, p. 582–610, 2009.

NEWMAN, D.; CRAGG, M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades. **Journal of natural products**, v. 83, p. 770-803, 2020.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, p. 32-33, 1998.

OSTROSKY, E.A., *et al.* Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301–307, 2008.

OLIVEIRA, S.; COSTA, F. J. O guaco e suas propriedades terapêuticas: um estudo sobre a composição química e os efeitos farmacológicos. **Journal of Medicinal Plants**, v. 12, n. 5, p. 587-598, 2017.

PAULA, R. F. Influência de fatores extrínsecos no rendimento de óleo essencial em plantas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 6, n. 4, p. 640-645, 2011.

PEREIRA, M.S.V., *et al.* Study on methods used to determine the antimicrobial activity of medicinal plants extracts: clearance and limitations of the techniques. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 26085–26104, 2022.

PITOUT, J.D.; LAUPLAND, K.B. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 8, n. 3, p. 159–166, 2008.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**, 1985.

RITTER, J.M., *et al.* **Rang & Dale Farmacologia**. 9. ed., Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. p. 660-677, 2022.

ROCHA, R. Propriedades antimicrobianas de óleos essenciais: eficácia antifúngica e antibacteriana. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 45, n. 2, p.129-136, 2013.

ROCHA, M.; ALVES, L. R. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e18210918282, 2021.

SALVAT, G.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, S. Testes colorimétricos de óxido-redução aplicados a ensaios microbiológicos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 82, p. 150-157, 2001.

SANTOS, S. C. Caracterização cromatográfica de extratos medicinais de guaco: *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker e *M. glomerata* Sprengel e ação de *M. laevigata* na inflamação alérgica pulmonar. **Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)** - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, p. 93, 2005.

SARKER, S. D.; NAHAR, L.; KUMARASAMY, Y. Microtitre Plate-Based Antibacterial Assay Incorporating Resazurin as an Indicator of Cell Growth, and its Application in the in Vitro Antibacterial Screening of Phytochemicals. **Methods**, v. 42, p. 321-324, 2007.

SEO, J., *et al.* Anti-inflammatory and antioxidant activities of methanol extract of Piper betle Linn. (*Piper betle* L.) leaves and stems by inhibiting NF- $\kappa$ B/MAPK/Nrf2 signaling pathways in RAW 264.7 macrophages. **Biomed Pharmacother**, v. 155, n. 1, p. 113734, 2022.

SILVA, C., *et al.* Método espectroscópico para determinação de cumarina em xarope de *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 18, n. 1, p. 594-599, 2008.

SILVA, P. **Farmacologia**. 8. ed. Ed. Guanabara Kogan, Bahia. p. 147-159, 2010.

SILVA, C. Óleos essenciais: aspectos gerais e potencialidades. **Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) — Instituto Federal Farroupilha**, 2021

SILVA, G. A. *et al.* Utilização de óleos essenciais extraídos da Caatinga como alternativa terapêutica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 22, n. 1, p. 1-10, 2020.

SIMÕES, C. M. O., *et al.* Farmacognosia da planta ao medicamento. 6 ed. Porto Alegre: **Editora da UFGRS**, 2010.

SOARES; SILVA, L., *et al.* Preparation of Dry Extract of Mikania glomerata Sprengel (Guaco) and Determination of Its Coumarin Levels by Spectrophotometry and HPLC-UV. **Molecules**. 2012; v. 17, n. 9, p. 10344-10354. <https://doi.org/10.3390/molecules170910344>.

SOUSA, K.A., *et al.* O uso de Mikania glomerata Spreng. (Guaco) no tratamento de alergia respiratória: uma revisão integrativa. **Diversitas Journal**, v. 8, n. 1, p. 4138-4151, 2023.

SCHERER, R., *et al.* Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*caryophyllus aromaticus* L.), citronela (*Cymbopogon winterianus*) e palmarosa (*cymbopogon martinii*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 442-449, 2009.

STROTHMANN A.L., *et al.* Antiparasitic treatment using herbs and spices: A review of the literature of the phytotherapy. **Brazilian journal of Veterinary Medicine**. v. 44, 2022.

UGBOKO, H. U., *et al.* Importância antimicrobiana das plantas medicinais na Nigéria. **The Scientific World Journal**, p. 1-10, 2020.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. J. A.; Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal Chromatography**, v. 11, n. 1, p. 463-471, 1963.

VASCONCELOS, E. A. F., *et al.* Influência do processo extrativo, solvente e tamanho da partícula do material vegetal no teor de sólidos totais da solução extrativa da *Schinus terebinthifolius raddi*. **Revista Fitos**, v. 1, n. 1, p. 74-79, 2005.

VIÉGAS BUSATO, N., *et al.* Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Revista Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p. 1574-1582, 2014.

WASICKY, J. **Manual de farmacognosia**. São Paulo: Guanabara Koogan, 1963.

WAWROSCH, C.; ZOTCHEV, S.B. Produção de metabólitos secundários de plantas bioativas por meio de tecnologias in vitro - status e perspectivas. **Microbiologia Aplicada e Biotecnologia**, v. 105, p. 6649-6668, 2021.

WINTER, M., *et al.* Antimicrobial resistance acquisition via natural transformation: context is everything. **Current Opinion in Microbiology**, v. 64, p. 133–138, 2021.

WOHLLEBEN, W., *et al.* Antibiotic drug discovery. **Microbial Biotechnology**, v. 9, p. 541-548, 2016.

ZUCCON, B.T. Perspectivas sobre a resistência antimicrobiana: uma breve revisão bibliográfica. **Academia de Ciência e Tecnologia**, São José do Rio Preto, 2023.