



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CAMPUS SOBRAL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

CARLOS EDUARDO RODRIGUES AGUIAR

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIBACTERIANO
E ATIVIDADE SINÉRGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Pogostemon cablin*,
Monarda fistulosa e *Cuminum cyminum*, E DO PATCHOULOL FRENTE A
BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA

Sobral

2024

CARLOS EDUARDO RODRIGUES AGUIAR

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIBACTERIANO
E ATIVIDADE SINÉRGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Pogostemon cablin*,
Monarda fistulosa e *Cuminum cyminum*, E DO PATCHOULOL FRENTE A
BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA

Dissertação de Defesa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, campus de Sobral, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia. Linha de Pesquisa: Bioprospecção de Produtos Naturais. Área Temática: Química de Produtos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Geovany Amorim Gomes.

Sobral

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A228c Aguiar, Carlos Eduardo Rodrigues.

Caracterização química e avaliação do efeito antibacteriano e atividade sinérgica dos óleos essenciais de *Pogostemon cablin*, *Monarda fistulosa* e *Cuminum cyminum*, e do patchoulol frente a bactérias de importância clínica / Carlos Eduardo Rodrigues Aguiar. – 2024.

84 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Sobral, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Geovany Amorim Gomes..

1. Infecções Bacterianas. 2. Patchouli. 3. Monarda-Rosa. 4. Cominho. 5. Ensaios microbiológicos. I. Título.

CDD 660.6

CARLOS EDUARDO RODRIGUES AGUIAR

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIBACTERIANO E
ATIVIDADE SINÉRGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Pogostemon cablin*,
Monarda fistulosa e *Cuminum cyminum*, E DO PATCHOULOL FRENTE A
BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA

Dissertação de Defesa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal do Ceará – *Campus* Sobral, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia. Linha de pesquisa: Bioprospecção de Produtos Naturais. Área Temática: Química de produtos Naturais.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Geovany Amorim Gomes (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Victor Alves Carneiro
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dra. Tigressa Helena Soares Rodrigues
Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, por sempre me ouvir e guiar ao longo de minha vida, tanto pessoal e acadêmica, me dando determinação e força para não desanimar durante esta minha trajetória.

Agradeço ao meu professor e orientador, Prof. Dr. Geovany Amorim Gomes, por toda paciência, dedicação, exemplo, ensinamentos e orientação para comigo.

A banca examinadora, Prof. Dr. Victor Alves Carneiro e a Prof^a. Dra. Tigressa Helena Soares Rodrigues por aceitarem o convite para participar do presente trabalho e pelas valiosas contribuições, que visam enriquecer ainda mais este trabalho.

Agradeço a minha irmã Rayla Larissa Rodrigues Aguiar, por está comigo desde de sempre, mas em especial nesse período de mestrado me apoiando e me animando. E também ao meu irmão Carlos Alan Rodrigues Aguiar, por sempre está comigo. A minha tia, Claudia Albuquerque que sempre me incentivou, me escutou, me apoiou e me deu suporte, para enfrentar todas as adversidades da vida.

Agradeço especialmente aos meus pais, Celeide Rodrigues Albuquerque Aguiar e Everaldo Alves de Aguiar, que sempre estiveram ao meu lado. Não importando as dificuldades, nunca pouparam esforços para me ajudar a superá-las. Eles são meu porto seguro, minha inspiração como seres humanos, minha vida, meu orgulho e meu tudo. Com eles, aprendi a ser quem sou. Muito obrigado, mãe e pai. Amo vocês.

Agradeço a minha amiga que o mestrado me deu, Paloma Santana, que foi durante este tempo, minha dupla, o meu mais sincero obrigado, por ter deixado essa experiência mais leve e divertida. A minha amiga Luziane Santos, uma amizade improvável, mas que o NEFB nos proporcionou, obrigado, por ter deixado a nossa rotina mais divertida. Agradeço também a toda equipe do LABAM UFC, em especial a Rafaela Mesquita, que além de parceira, é uma grande amiga, que sempre me escutou e me aconselhou.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e à EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) pelo apoio inestimável e pela dedicação incansável ao avanço da educação, pesquisa e inovação.

RESUMO

A cárie dental é uma doença crônica infecciosa multifatorial, que se caracteriza pelo acúmulo de microrganismos em superfície dentária, formando o biofilme cariogênico, sendo esta causada principalmente pela bactéria *Streptococcus mutans*. Outro agravo de preocupação mundial a saúde, são as DTA's, que são doenças tóxico-infecciosa, causada pelo consumo de alimentos ou bebidas contaminadas por agente químicos, físicos ou biológicos, sendo esses últimos os de maior incidência e deles se destacam as bactérias. As DTA's resultantes de infecções bacterianas, são causadas principalmente por *Staphylococcus aureus*, *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Escherichia coli*, e *Klebsiela pneumoniae*. Diante destes cenários, se faz necessária pesquisas envolvendo a busca de novos agentes antimicrobianos, como o estudo de plantas medicinais com possíveis propriedades antimicrobianas. Neste sentido, os óleos essenciais de origem vegetal e seus constituintes isolados, são alternativas para o desenvolvimento de novos medicamentos. Estudos prévios realizados com óleo essencial de patchouli e seu componente majoritário, o patchoulol, relatam diversas propriedades biológicas, incluindo atividade antiúlcera, antiinflamatória e antimicrobiana. A monarda-rosa, possui grande enfoque e o óleo essencial de um dos seus quimiotipos apresenta mais de 90% de geraniol e possui propriedades antimicrobiana, antitumoral e anti-helmíntica. Outra planta que merece destaque é o cominho, que possui na composição de seu óleo cerca de 30% de cuminaldeído e exibe atividade antidiabética, antimicrobiana e antioxidante. Portanto, o objetivo do presente estudo é caracterizar quimicamente os referidos óleos e o componente majoritário isolado do óleo de patchulol, bem como avaliar seus efeitos contra bactérias cariogênicas e contaminantes de alimentos. A identificação e a quantificação dos componentes dos óleos, foram feitas por meio de CG/EM e CG/DIC, respectivamente. Já para a elucidação estrutural do constituinte prevalente, foram usadas técnicas espectrométricas de EM e RMN. A atividade antibacteriana foi determinada pelo uso da técnica de microdiluição em poços objetivando encontrar a CIM e CBM das substâncias frente a bactérias de interesse clínico. O efeito sinérgico do óleo de patchouli (OEPC) e do patchoulol com os antibióticos (ampicilina, benzilpenicilina e oxacilina) foi avaliado através do teste de checkerboard, utilizando uma cepa de *S. aureus*. A análise dos óleos resultou na identificação de 26

constituintes, sendo 17 presentes no OEPC, cinco no de monarda-rosa (OEMF) e seis no de cominho (OECC). Os componentes majoritários identificados nos óleos foram: o patchoulol (37,1%), α -bulneseno (17,42%), α -guaieno (13,96%) e seicheleno (8,52%) para OEPC; geraniol (92,3%) para OEMF; e cuminaldeído (51,7%), *o*-cymeno (21,1%) e γ -terpinene (11,7%) para OECC. Com relação a CIM dos OEPC, OEMF e OECC, variaram de 250 a 8000 $\mu\text{g/mL}$ e do patchoulol, constituinte isolado de OEPC, variaram de 31,25 a 62,5 $\mu\text{g/mL}$. Para a CBM dos óleos variaram de 500 a 8000 $\mu\text{g/mL}$ e do isolado de 31,25 a 125 $\mu\text{g/mL}$. O OEPC e o patchoulol apresentaram sinergismo quando combinado com a oxacilina. Dessa forma, dentre os três óleos testados, o OEPC foi o que apresentou melhor atividade, assim como o seu constituinte majoritário, o patchoulol. Portanto, se faz necessário mais estudos sobre o potencial terapêutico destes produtos naturais.

Palavras-chaves: Infecções Bacterianas; Patchouli; Monarda-Rosa; Cominho; Ensaio microbiológicos.

ABSTRACT

Dental caries is a chronic multifactorial infectious disease characterised by the accumulation of microorganisms on the tooth surface, forming a cariogenic biofilm, caused mainly by the bacterium *Streptococcus mutans*. Another health problem of global concern is the DTA's, which are toxic-infectious diseases caused by the consumption of food or drink contaminated by chemical, physical or biological agents, the latter being the most common, especially bacteria. DTA's resulting from bacterial infections are mainly caused by *Staphylococcus aureus*, *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Given these scenarios, research is needed into the search for new antimicrobial agents, such as the study of medicinal plants with possible antimicrobial properties. In this sense, essential oils of plant origin and their isolated constituents are alternatives for the development of new medicines. Previous studies on patchouli essential oil and its main component, patchoulol, have reported various biological properties, including antiulcer, anti-inflammatory and antimicrobial activity. *Monarda rosa* is a plant of great interest and the essential oil of one of its chemotypes contains more than 90% geraniol and has antimicrobial, antitumour and anthelmintic properties. Another plant worth mentioning is cumin, whose oil contains around 30 per cent cuminaldehyde and exhibits antidiabetic, antimicrobial and antioxidant activity. Therefore, the aim of this study is to chemically characterise these oils and the major component isolated from patchoulol oil, as well as to assess their effects against cariogenic bacteria and food contaminants. The components of the oils were identified and quantified using GC/MS and GC/DIC, respectively. MS and NMR spectrometric techniques were used to elucidate the structure of the predominant constituent. Antibacterial activity was determined using the microdilution in wells technique in order to find the MIC and MBC of the substances against bacteria of clinical interest. The synergistic effect of patchouli oil (OEPC) and patchoulol with antibiotics (ampicillin, benzylpenicillin and oxacillin) was assessed using the checkerboard test on a strain of *S. aureus*. Analysis of the oils resulted in the identification of 26 constituents, 17 of which were present in OEPC, five in *monarda rosa* (OEMF) and six in cumin (OECC). The major components identified in the oils were: patchoulol (37.1%), α -bulnesene (17.42%), α -guaiene (13.96%) and seichelene (8.52%) for OEPC; geraniol (92.3%) for OEMF; and cuminaldehyde

(51.7%), o-cymene (21.1%) and γ -terpinene (11.7%) for OECC. The MICs for OEPC, OEMF and OECC ranged from 250 to 8000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and for patchoulol, a constituent isolated from OEPC, from 31.25 to 62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The CBM of the oils ranged from 500 to 8000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and of the isolate from 31.25 to 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$. OEPC and patchoulol showed synergism when combined with oxacillin. Thus, of the three oils tested, OEPC showed the best activity, as did its main constituent, patchoulol. Further studies into the therapeutic potential of these natural products are therefore necessary.

Keywords: Bacterial Infections; Patchouli; Monarda Rose; Cumin; Microbiological tests.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Rota biossintética resumida de terpenos.	32
Figura 02 – Fórmula estrutural do patchoulol.	36
Figura 03 – Estrutura química do geraniol.	37
Figura 04 – Fórmula estrutural do cuminaldeído.	39
Figura 05 – Purificação em coluna de sílica gel.	42
Figura 06 – Esquematização da diluição seriada e determinação da CIM.	45
Figura 07 – Fluxograma para avaliação do efeito sinérgico do OEPC e patchoulol com os antibióticos frente a <i>S. aureus</i>	47
Figura 08 – Estrutura química de patchoulol.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Descrição do gradiente de eluição do tratamento cromatográfico do óleo essencial de folhas de <i>Pogostemon cablin</i>	43
Tabela 02 – Bactérias cariogênicas e causadoras de DTA's e sua codificação.	44
Tabela 03 – Perfil fitoquímico dos óleos essenciais de <i>Pogostemon cablin</i> (OEPC), <i>Monarda fistulosa</i> (OEMF) e <i>Cuminum cyminum</i> (OECC).	48
Tabela 04 – Comparação dos deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C de (1) com os da patchoulol descritos na literatura (Faraldos et al., 2010; Xu, Lin, Sun, 2017- CDCl ₃), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz	52
Tabela 05 – Determinação das CIM e CBM de OEPC, OEMF, OECC e patchoulol frente a bactérias de interesse clínico (µg/mL).	53
Tabela 06 – Efeito sinérgico do OEPC e do Patchoulol combinado com os atibióticos AMP, BZP e OXA frente a <i>S. aureus</i> ATCC 700968.	57

LISTA DE ABREVIATURAS

AMP	Ampicilina
ATCC	Coleção Americana de Tipos de Culturas
BHI	Caldo de Cérebro e Coração
BZP	Benzilpenicilina
CA-MRSA	MRSA Associado a Comunidade
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG/DIC	Cromatografo Gasoso Acoplado a Ionização de Chama
CG/EM	Cromatografia Gasosa Acoplada Espectrometria de Massas
CIF _A	Concentração Inibitória Fracionada dos compostos
CIF _B	Concentração Inibitória Fracionada dos antibióticos
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais
d	Dupleto
dd	Dupleto de dupleto
ddd	Dupleto de dupleto de dupleto
DMAPF	Dimetilalil pirofosfato
DMSO	Dimetil sulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dq	Dupleto de quarteto
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
E4F	Eritrose-4-fosfato
EM	Espectro de Massas
FAL	Fenilalanina amonialiase
FEP	Ácido fosfoenol piruvato
FPF	Farnesil pirofosfato
FPFS	Enzima farnesil pirofosfato sintase
HA-MRSA	MRSA Associado as Cuidados de Saúde
Hz	Hertz
iCIF	Índice de Concentração Inibitória Fracionada
IK	Índices de retenção de Kovats

IPF	Isopentenil pirofosfato
IV	Infravermelho
m	Multipeto
MEF	Via do 2- C -metil- D -eritritol 4-fosfato
MHZ	Megahertz
MRSA	<i>S. aureus</i> resistente à meticilina
MVA	Via do Mevalonato
OECC	Óleo essencial de cominho
OEMF	Óleo essencial de monarda-rosa
OEPC	Óleo essencial de patchouli
OMS	Organização Mundial de Saúde
OXA	Oxacilina
PN	Produtos Naturais
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Próton
RNA	Ácido ribonucleico
s	Simpleto
sl	Simpleto Largo
t	Tripleto

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
+	Mais
®	Marca Registrada
°C	Graus Celsius
°C/min	Graus Celsius por minutos
C	Carbonos
eV	Eletrónv volt
H	Hidrogênio
<i>J</i>	Constante de acoplamento
m	Metro
min	Minutos
mL	Mililitros
mL/min	Mililitros por minutos
nm	Nanometros
UFC/mL	Unidades formadora de colônias por mililitros
UFC's	Unidades Formadoras de Colônias
δ_C	Deslocamento Químico Do Carbono
δ_H	Deslocamento Químico Do Carbono
$\mu\text{g/mL}$	Microgramas por mililitro
μL	Microlitro
μm	Micrometro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS.....	21
2.1	Objetivo Geral.....	21
2.2	Objetivo Específico	21
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	22
3.1	Aspectos Microbiológicos da Cárie Dental	22
3.1.1	<i>Streptococcus mutans</i>	23
3.2	Aspectos Microbiológicos da Contaminação de Alimentos	24
3.2.1	<i>Escherichia coli</i>	26
3.2.2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27
3.2.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	28
3.3	Tratamentos convencionais e alternativos para o controle de microrganismos responsáveis pela cárie e DTA's	29
3.4	Óleos Essenciais de Plantas e seu Potencial Antimicrobiano e Antibiofilme	31
3.5	Óleo essencial de Patchouli	35
3.6	Óleo essencial de Monarda-Rosa.....	37
3.7	Óleo essencial de Cominho.....	38
4	MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1	Estudo Fitoquímico	41
4.1.1	<i>Aquisição dos Óleos Essenciais</i>	41
4.1.2	<i>Análise dos Óleos Essenciais</i>	41
4.1.3	<i>Isolamento de Constituinte de Óleo Essencial</i>	42
4.1.4	<i>Determinação estrutural de substâncias isoladas</i>	43
4.2	Estudo Microbiológico.....	44
4.2.1	<i>Microrganismos e condições de cultivo</i>	44

4.2.2	<i>Determinação da Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima</i>	45
4.2.3	<i>Teste de Checkboard</i>	46
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1	Composição Química dos Óleos Essenciais.....	48
5.2	Fracionamento Cromatográfico do óleo essencial de <i>Pogostemon cablin</i>	50
5.3	Identificação Estrutural da substância (1).....	51
5.4	Atividade Antibacteriana do OEPC, OEMF, OECC e do Patchoulol...	52
5.5	Ação do OEPC e do Patchoulol em combinação com a AMP, BZP e OXA	57
6	CONCLUSÃO	60
	REFERÊNCIAS.....	62
	ANEXO A – Cromatograma por CG-EM da substância (1).....	81
	ANEXO B – Espectro de RMN 1H (600 MHz, CDCl ₃) da substância (1).....	83
	ANEXO C – Espectro de RMN 13C (150 MHz, CDCl ₃) da substância (1).....	84

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 1946, saúde é definida como um estado de completo bem-estar físico, mental e social, e não apenas como a ausência de doença ou enfermidade (Brasil, 2020). A quebra deste bem-estar, significa ruptura no processo de saúde, como as infecções, causadas por microorganismos, que representam um dos grandes desafios atuais da saúde pública, acarretando em altas taxas de morbi-mortalidade, aumento no tempo de internação e nos gastos do sistema de saúde (Trentin; Giordani; Macedo, 2013).

Dessa forma, uma causa muito comum de fragilidade da saúde humana, são as infecções bacterianas resultantes em doenças. Sendo que a maioria das bactérias que constituem a microbiota são inócuas ou mesmo benéficas para os hospedeiros. Por exemplo, a microbiota gastrointestinal modula várias funções intestinais importantes, incluindo absorção e processamento de nutrientes. Entretanto, as infecções por bactérias patogênicas é a causa de numerosas epidemias e doenças graves, como a peste por *Yersinia pestis*, a cólera por *Vibrio cholerae*, a tuberculose por *Mycobacterium tuberculosis*, a gastroenterite por *Listeria monocytogenes* de origem alimentar ou espécies de *Salmonella*, bem como úlceras pépticas e cânceres gástricos por *Helicobacter pylori* (Staedel; Darfeuille, 2013).

A cárie dental é uma enfermidade de importância clínica a nível mundial caracterizada por ser uma doença crônica e multifatorial, que decorre de um processo dinâmico que acontece dos acumulos bacterianos aderidos às superfícies dentárias, formando assim o biofilme cariogênico (Henz *et al.*, 2018). Esta possui caráter multifatorial, uma vez que está relacionada a elementos como hábitos alimentares, higienização oral, qualidade salivar, carga genética e, e condições socioeconômicas. Além disso, caso não seja tratada a tempo, pode resultar na destruição dos tecidos que compõe os dentes (Bezerra *et al.*, 2020).

A cárie é considerada como uma das principais doenças de prevenção e tratamento do ser humano, a qual atinge pessoas de todas as idades. A OMS, em seu Relatório Mundial sobre o Estado da Saúde Oral (2022), estimou que em todo o mundo, cerca de 2 bilhões de pessoas sofrem de cáries em dentes permanentes, enquanto 514 milhões de crianças sofrem de cáries em dentes de leite. Além disso, a prevalência de carie em adultos e crianças até 2019, é maior em países do continente Asiático (OMS, 2022).

Na cavidade bucal, existe um grupo limitado de microrganismos encontrados capazes de produzir ácidos em quantidade suficiente para causar a desmineralização do esmalte dentária, com destaque bactérias da família *Streptococcaceae*, mais especificamente a espécie *Streptococcus mutans*. Esse microorganismo está relacionado com a fase inicial da cárie e os *Lactobacillus spp.* com infecção posterior da doença (Cawahisa *et al.*, 2020).

A virulência do *S. mutans* está associada principalmente a três fatores, o primeiro é a habilidade de formar biofilmes capazes de se aderirem a superfície dentária, o segundo é a eficácia em produzir grandes quantidades de ácidos orgânicos, a partir de carboidratos ingeridos na dieta e, a terceira é a capacidade de tolerar as condições adversas do ambiente bucal (Ferreira; Ferreira; Mello, 2021).

Existem duas formas de controle do biofilme, a primeira é o controle mecânico que promove uma desorganização da placa bacteriana presente no tecido dentário que é uma forma segura para a conservação da saúde bucal. Já a outra, é o controle químico por meio da ação de substâncias antimicrobiana que podem eliminar os agentes etiológicos da cárie e pelo efeito benéfico dos antissépticos bucais, que atuam como coadjuvantes do controle mecânico (Menezes *et al.*, 2020).

Entretanto, o uso contínuo de antissépticos bucais é contraindicado, pois esse apresenta diversos efeitos colaterais, dentre eles cabe citar o aparecimento de manchas acastanhadas nos dentes, erosão do esmalte dentário, perturbação do paladar (Sabbo *et al.*, 2020) e o desenvolvimento de resistência bacteriana quando esses produtos são usados de forma abusiva (Alves *et al.*, 2021). Em adição, os antissépticos bucais atuam como coadjuvantes ou substitutivos ao controle mecânico do biofilme, para pessoas com dificuldade motora de realizar uma boa higiene (Silva *et al.*, 2021).

Outro agravo de importância clínica e de preocupação mundial a saúde, são as infecções por bactérias que causam as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), ocasionando intoxicação ou infecções aos seres vivos, causada pelo consumo de alimentos ou bebidas contaminadas com microrganismos, parasitas ou substâncias tóxicas (Vidal *et al.*, 2022).

De acordo com Fernández *et al.* (2021), as causas da contaminação de alimentos podem ser químicas (compostos inorgânicos tóxicos, antimicrobianos,

promotores de crescimento, aditivos alimentares tóxicos, lubrificantes e tintas, toxinas naturais, desinfetantes, metais pesados, pesticidas e substâncias usadas na agricultura), físicos (fragmentos de vidro, metal, madeira ou outros que podem causar danos ao consumidor) e principalmente biológicos (bactérias, parasitas, vírus e príons).

As bactérias são as que mais se destacam quanto à intoxicação alimentar, por exemplo as bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium spp.* e *Bacillus spp.*) e gram-negativas (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiela pneumoniae*), são as que mais provocam os sintomas das DTA (Abu-Zaid *et al.*, 2022).

As principais DTA são diarreia, vômito, náuseas, choque séptico, hepatite, dores de cabeça e febre (INS, 2018). Que por sua vez podem evoluir para consequências mais graves das DTA, que incluem insuficiência renal e hepática, distúrbios cerebrais e neurais, artrite reativa, câncer e morte (OMS, 2023).

Segundo a OMS (2023), todos os anos, quase 1 em cada 10 pessoas em todo o mundo adoece após ingerir alimentos contaminados, levando a mais de 420.000 mortes, sendo as crianças as mais afetadas de forma desproporcional, com 125.000 mortes em pessoas com menos de 5 anos de idade. AS DTA estão intimamente ligadas à pobreza em países de baixa e média renda, mas são um problema crescente de saúde pública em todo o mundo.

Os antibióticos revolucionaram a medicina, salvando milhares de vidas, tratando doenças ocasionadas por bactérias. No entanto, uma ameaça crescente vem minando a eficácia desses medicamentos, a resistência bacteriana aos antibióticos, definida como a capacidade de uma bactéria de sobreviver a concentrações de antibióticos que inibem/matam outras bactérias da mesma espécie, agravando a problemática de doenças bacterianas (Alós, 2015).

Neste contexto, a obtenção de novos agentes antimicrobianos se tornou um desafio nos últimos tempos e inúmeras pesquisas têm sido desenvolvidas objetivando a utilização de diferentes espécies de plantas vegetais, pois representam promissoras fontes de matéria-prima para descoberta de novos fármacos que possam ser utilizados para estas aplicações terapêuticas, levando-se em consideração que a diversidade molecular dos produtos naturais (PN) é muito superior àquela derivada de

produtos sintéticos (Neves *et al.*, 2017). Extratos vegetais, óleos essenciais de plantas e seus componentes isolados evidenciam ser potencialmente eficazes no controle de microrganismos, sugerindo a utilização desses produtos naturais (PN) como meio alternativo na terapêutica odontológica (Alves *et al.*, 2021), na conservação de alimentos (Ribeiro *et al.*, 2023) e no tratamento de intoxicações microbianas relacionadas a DTA (Haluch *et al.* 2020).

Os óleos essenciais são misturas de compostos orgânicos voláteis, produzidos a partir do metabolismo secundário vegetal e representam uma importante fonte renovável e natural com potencial para prospecção de novos compostos com propriedades farmacológicas (Chouhan; Sharma; Guleria, 2017; Shafi; Zahoor, 2021). Com relação ao mecanismo de ação antibacteriana, tanto os óleos, quanto seus constituintes isolados são capazes de interagir em diferentes alvos moleculares e nas funções das células bacterianas, principalmente, na inibição da síntese de ácido nucléico e proteínas, na inativação de componentes intracelulares e enzimas, e provocando distúrbios nas propriedades da membrana citoplasmática e no metabolismo energético (Álvarez-Martínez *et al.*, 2021).

Dentre óleos essenciais com reconhecido potencial antimicrobiano, destacam-se os óleos de *Pogostemon cablin*, *Monarda fistulosa* e *Cuminum cyminum*

Pogostemon cablin (Lamiaceae), conhecido popularmente como patchouli, é uma planta empregada na medicina tradicional para o tratamento de resfriados, náuseas, febre, dor de cabeça e diarreia (Junren *et al.*, 2021). O óleo essencial de suas folhas possui propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antiúlcera, anticolite, antimucosite e protetores contra danos cerebrais e pulmonares comprovadas (Li *et al.*, 2023). O principal componente desse óleo é o patchoulol, um álcool sesquiterpênico conhecido por suas atividades farmacológicas como anti-inflamatório, antisséptico, diurético, sedativo, antimutagênico, antiviral e antimicrobiana (Van Beek; Joulain, 2018; Pandey *et al.*, 2022).

Também pertencente família Lamiaceae, a espécie *M. fistulosa* é utilizada popularmente para tratar infecções de pele, feridas e febres (Lawson; Satyal; Setzer, 2021). O óleo volátil de suas folhas possui grande potencial biotecnológico, em especial o quimiotipo rico em geraniol que compõe mais de 90% do óleo (Keefover-Ring, 2022). Assim, tanto o óleo, quanto o geraniol, apresentam diversas propriedades

terapêuticas, por exemplo, efeito antiinflamatório, antimicrobiano e antitumoral (Zhang *et al.*, 2019).

Cuminum cyminum, popularmente conhecida como cominho, é uma planta da família Apiaceae usada na medicina popular para o combate a várias enfermidades, entre elas a diarreia, dispepsia e reduzir a acidez gástrica e a flatulência (Allaq *et al.*, 2020). O óleo das sementes de *C. cyminum*, com elevado teor de cuminaldeído, é conhecido por seus efeitos antinociceptivos, antidiabéticos, antineuropáticos, antiinflamatórios antimicrobianos e entre outros (Ebada, 2017; Merah *et al.*, 2020; Chaudhry *et al.*, 2020).

Além de destacarem a eficácia de óleos essenciais contra uma ampla gama de contra microrganismos patogênicos, trabalhos publicados relatam a atividade antibacteriana de diversas combinações de óleos essenciais com antibióticos comerciais (Rocha *et al.*, 2021). Essa última abordagem tem chamada a atenção da comunidade científica, pois revela que interações sinérgicas entre óleos e antibióticos é mais eficaz em comparação à monoterapia convencional, reduzindo os efeitos colaterais e a dosagem necessária do medicamento (Pirog; Kliuchka, 2024).

Diante do exposto, o presente trabalho visa estudar quimicamente os óleos essenciais de *P. cablin*, *M. fistulosa* e *C. cyminum*, e de patchouli; como também avaliar o seu potencial antimicrobiano contra bactérias causadoras de cárie e contaminantes de alimentos; além de investigar o efeito sinérgico da combinação de antibióticos com os fitoquímicos que se mostraram mais ativos nos ensaios antimicrobianos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Caracterizar quimicamente e avaliar a atividade antibacteriana e sinérgica dos óleos essenciais de *Pogostemon cablin*, *Monarda fistulosa* e *Cuminum cyminum*, e do composto isolado, o patchoulol.

2.2 Objetivo Específico

- Quantificar e identificar os constituintes dos óleos essenciais de *P. cablin*, *M. fistulosa* e *C. cyminum* de origem comercial, através do CGDIC e do CGEM, respectivamente;
- Isolar o composto majoritário do óleo essencial de *P. cablin*;
- Caracterizar quimicamente o componente majoritário isolado do *P. cablin*, por meio de técnicas espectroscópicas de RMN ^1H e de RMN ^{13}C ;
- Avaliar a CIM e CBM dos compostos testados frente as bactérias utilizadas, através do método de microdiluição seriada;
- Verificar a presença da atividade sinérgica do óleo essencial de *P. cablin* e de seu composto majoritário isolado.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Aspectos Microbiológicos da Cárie Dental

A cárie dentária é definida como uma doença marcada por uma alteração ecológica e/ou metabólica no ambiente do biofilme dentário, ocasionada por episódios frequentes de exposição a carboidratos alimentares fermentáveis. Assim, ocorre uma alteração dos microrganismos da doença cárie, que antes eram equilibrados e de baixa cariogenicidade, para uma população de microrganismos desequilibrada de alta cariogenicidade (Batista; Vasconcelos; Vasconcelos, 2020).

Esta é caracterizada como uma doença crônica e multifatorial, que apresenta um desequilíbrio entre a perda de minerais (desmineralização) e o ganho de minerais (remineralização) nos tecidos mineralizados do dente, provocando a doença (Karched; Ali; Ngo, 2019). Assim, a cárie dentária é dependente de quatro fatores principais a microbiota, o hospedeiro, a dieta e o tempo (Bernardes; Dietrich; França, 2021).

As lesões cariosas podem ser classificadas em Mancha Branca, caracterizando o início da dissolução do esmalte, as lesões desintegram as superfícies de esmalte com a formação de microcavidades, apresentando diferentes padrões de dissolução da estrutura. A Cárie Oclusal que possui fóssulas e fissuras presentes na face oclusal e faz com que se relacione a alta incidência de cárie dentária à essa superfície. A Cárie de Superfície Lisa que se caracterizam por estarem localizadas nas superfícies vestibulares e linguais das estruturas dentárias. E a Cárie Radicular, em que a má higiene bucal e a perda de suporte periodontal devido à idade causam retração da margem gengival, expondo a junção amelocementária, ou seja, início da raiz dentária (Batista; Vasconcelos; Vasconcelos, 2020).

Na boca, existe uma comunidade microbiana altamente diversificada que interage constantemente com a película salivar presente na superfície dos dentes, a partir da qual pode se iniciar a formação da placa cariogênica, que se dá, principalmente, pela ação de bactérias, em especial bactérias do gênero *Streptococcus*, que tem presença majoritária na microbiota oral, cerca de 50% (He *et al.*, 2016; Maasi *et al.*, 2022).

A cárie é um dos principais agravos relacionados a saúde bucal, podendo interferir no bem-estar e na qualidade de vida, de quem é acometido. Além disso, a cárie dentária ainda é um dos maiores problemas de saúde pública do mundo, responsável pela maior causa de perda dentária na população (Silva *et al.*, 2018). Cabe salientar ainda, que de acordo com a última Pesquisa Nacional de Saúde Bucal no Brasil, em 2010, cerca de 37 mil pessoas de todas as faixas etárias, equivalentes há 12,2% da população pesquisada, apresentaram caries dentárias, o que mostra a urgência em combater esse problema de saúde (Brasil, 2012).

O *Streptococcus mutans* é o principal agente etiológico da cárie, além dele, cabe destacar o *S. mitis*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sobrinus*, *S. gordonii* e *S. sanguinis*, que também participam do processo de formação do biofilme cariogênico (Chen *et al.*, 2020).

Além dessas, outras evidências apontam que espécies bacterianas produtoras de ácidos dos gêneros *Veillonella*, *Scardovia*, *Lactobacillus* e *Propionibacterium*, podem estar presentes no dente como colonizadores e indutores de condições cariogênicas na cavidade oral (Chen *et al.*, 2020).

O tratamento minimamente invasivo da cárie dentária é uma abordagem que considera o tratamento de lesões cariosas com técnicas conservadoras para preservar a estrutura máxima do dente. Este tratamento também é uma estrutura conceitual que abrange desde a prevenção primária e o gerenciamento do processo da doença cárie até o gerenciamento de lesões cariosas por meios cirúrgicos e não cirúrgicos (Giacaman *et al.*, 2018).

3.1.1 *Streptococcus mutans*

O *S. mutans* está consistentemente relacionado ao início e desenvolvimento da cárie, podendo se tornar dominante nos biofilmes orais e levando ao desenvolvimento de cáries dentárias. Além disso, para a dominância desta bactéria sobre as demais, depende da expressão e densidade celular das bacteriocinas mutacina IV e mutacina V, que inibem o desenvolvimento de outras bactérias na cavidade oral (Pezzotti *et al.*, 2023).

O potencial cariogênico dessa bactéria reside em três atributos principais: (1) a capacidade de sintetizar grandes quantidades de polímeros extracelulares de glucana

(exopolissacarídeos) a partir da sacarose que auxiliam na colonização permanente de superfícies duras e no desenvolvimento da matriz polimérica extracelular *in situ*, (2) a capacidade de transportar e metabolizar uma ampla gama de carboidratos em ácidos orgânicos (acidogenicidade), através de genes que codificam a glicosiltransferase e (3) a capacidade de se adaptar sob condições de estresse ambiental, particularmente baixo pH, com características acidúricas, por meio de um sistema de agmatina deiminase e F-ATPase codificados pelo *aguBDAC* operon e gene *atpD* (Garcia *et al.*, 2021; Kalpavriksha *et al.*, 2021).

A desmineralização da superfície dental é causada pelos ácidos orgânicos produzidos durante a metabolização dos carboidratos pelas bactérias, esses ácidos tornam o fluido do biofilme insaturado em relação às propriedades de solubilidade do esmalte dental, ocorrendo um desequilíbrio entre o biofilme e o hospedeiro, resultando na perda de mineral que podem variar entre condições leves, lesões em estágio subclínico e estágios avançados, podendo resultar na destruição coronária total (Henz *et al.*, 2018).

Cabe salientar, que a virulência do *S. mutans* está diretamente relacionado com a dieta do hospedeiro, por exemplo a ingestão frequente de sacarose, podem servir como catalisador para a formação de biofilme cariogênico, uma vez que este açúcar serve como substrato para a produção de exopolissacarídeos (EPS) e ácidos. Assim, o *S. mutans* é o principal produtor de EPS na cavidade oral, sendo ao mesmo tempo acidogênico e acidúrico. Os patógenos embutidos na matriz rica em EPS persistem e produzem nichos ácidos com valores de pH próximos a 4,5, que corroem o esmalte-apatita dos dentes e levam ao aparecimento de cáries dentárias. A presença de matriz extracelular, com suas barreiras locais e microambiente alterado, reduz o acesso aos medicamentos, desencadeia a tolerância bacteriana aos antimicrobianos, ao mesmo tempo que aumenta a estabilidade mecânica dos biofilmes, tornando-os difíceis de tratar ou remover (Gao *et al.*, 2016).

3.2 Aspectos Microbiológicos da Contaminação de Alimentos

Os microorganismos podem se associar aos alimentos durante qualquer etapa do processo de produção, como manuseio, processamento, acondicionamento, estocagem, distribuição e no preparo para o consumo, ocasionando a contaminação

dos alimentos e permitindo que estes produtos cheguem aos consumidores. Os microorganismos que sobreviverem aos processos de produção aplicados durante o preparo e acondicionamento dos alimentos poderão causar danos a saúde do consumidor (Coutinho *et al.*, 2020).

No Brasil, no período de 2007 a 2020, foram notificados, por ano, uma média de 662 surtos de DTA's, com o envolvimento de 156.691 doentes (média de 17 doentes/surto), 22.205 hospitalizados e 152 óbitos (Brasil, 2023). As principais bactérias causadoras de DTA's no Brasil, são a *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os sintomas associados a infecção são: diarreia, náuseas, vômitos, dores abdominais, febre e falta de apetite, já manchas e prurido pelo corpo são característicos de intoxicação (Amaral *et al.*, 2021).

Assim, as DTA's são parte de um dos maiores problemas de saúde pública, atingem toda população e em sua maioria as camadas menos favorecidas, crianças e idosos (Soragni; Barnabe; Mello, 2019). E o tratamento, normalmente, baseia-se em medidas de suporte para evitar a desidratação e óbito, pois, em sua maioria, são doenças autolimitadas, ou seja, os sintomas dependem de cada caso (Amaral *et al.*, 2021).

Existem vários agentes etiológicos causadores de DTA's que, somados a fatores como as más condições de higiene e a exposição a água e alimentos contaminada, geram riscos para a ocorrência de patologias seja na forma de infecções ou intoxicações, acometendo de forma crônica ou aguda, podendo caracterizar surtos epidêmicos - sendo disseminada ou localizada - e se apresentando de variadas formas clínicas (Soragni; Barnabe; Mello, 2019).

Dessa forma, as DTA's são causadas e disseminadas em todo mundo devido a contaminação por microorganismos, parasitas, agentes químicos ou físicos de água e alimentos. Diversos são os agentes microbianos causadores de DTAs, sendo os mais frequentes as bactérias do gênero *Salmonella spp.*, *E. coli*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* (Sirtoli; Comarella, 2018; Soragni; Barnabe; Mello, 2019).

Assim, as DTA podem se manifestar das seguintes formas: infecções, que são doenças que resultam da ingestão de um alimento que contenha organismos prejudiciais à saúde, como exemplo a salmonelose, hepatite viral tipo A e toxoplasmose. As intoxicações alimentares, que ocorre quando uma pessoa ingere

alimentos com substâncias tóxicas, incluindo as toxinas produzidas por microrganismos, como bactérias e fungos, a citar o botulismo, intoxicação estafilocócica e toxinas produzidas por fungos. E as tóxico-infecção, que são doenças resultantes da ingestão de alimentos que apresentam organismos prejudiciais à saúde, sendo que eles ainda liberam substâncias tóxicas, como a cólera (Brasil, 2008).

3.2.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli é uma bactéria gram-negativa, causadora tanto de infecção quanto toxinfecção alimentar, seu período de incubação é de 12 a 72 horas e a doença dura entre 2-7 dias e seus principais sintomas são diarreia e vômito (Soragni; Barnabe; Mello, 2019). Esta uma espécie bacteriana pertencente à família *Enterobacteriaceae*, e é altamente diversificada que inclui cepas comensais intestinais inofensivas e patógenos intestinais e extraintestinais virulentos. (Bonten *et al.*, 2021).

A *E. coli* é uma bactéria aeróbica predominante na microbiota intestinal, embora seja superada em número por bactérias anaeróbicas. As cepas de *E. coli* podem causar patologias extraintestinais como infecções do trato urinário, diversas infecções intra-abdominais, pulmonares, de pele e tecidos moles, meningite neonatal e bacteremia, além das patologias intestinais a citar a diarreia, incluindo a síndrome hemolítica e urêmica (Denamur *et al.*, 2020).

A gama de infecções causadas por *E. coli* pode ser atribuída à extensa mutação no conteúdo de DNA que existe entre os diferentes tipos de cepas. Estas mutações refletem a variação no conteúdo genético e estão tipicamente associadas a patogenicidade e a resistência adquiridas contra antibióticos (Sarowska *et al.*, 2019). A *E. coli* patogênica pode ser distinguida de sua contraparte não patogênicas pela presença de genes de virulência, que codificam adesinas, invasinas, fatores de absorção de ferro, protetinas e toxinas (Sora *et al.*, 2021).

A virulência dessa bactéria se baseia em três mecanismos principais, o primeiro, é a aquisição de um novo gene e/ou uma nova função, por meio da transferência horizontal de genes mediada por elementos genéticos móveis, incluindo plasmídeos, fagos e elementos integradores e conjugadores. O segundo mecanismo é a inativação de genes cuja expressão é incompatível com a virulência. Já o terceiro

é o mecanismo envolve mutações pontuais que levam a uma mudança de função (Denamur *et al.*, 2020).

3.2.2 *Klebsiella pneumoniae*

A *Klebsiella pneumoniae* pertence à família *Enterobacteriaceae* e é descrita como uma bactéria gram-negativa, encapsulada e imóvel. Esta bactéria normalmente coloniza as superfícies mucosas humanas da orofaringe e do trato gastrointestinal, uma vez que a bactéria entra no corpo, ela pode apresentar altos graus de virulência e resistência a antibióticos. Além disso, ela tem sido associada à pneumonia em populações de pacientes com transtorno por uso de álcool ou diabetes mellitus (Ashurst; Dawson, 2023).

Assim, a *K. pneumoniae* é um patógeno oportunista capaz de causar diversas infecções. Classicamente, sabe-se que *K. pneumoniae* causa pneumonia, infecções do trato urinário e bacteremia em pacientes imunocomprometidos ou frequentemente expostos aos cuidados de saúde. Entretanto, com o passar do tempo estas adquiriram resistência aos carbapenêmicos pertencem às *Enterobacteriaceae* resistentes aos carbapenêmicos (CRE) e representam uma preocupação a OMS (Choby; Howard-Anderson; Weiss, 2019).

Existem quatro fatores virulentos identificados em *K. pneumoniae*, o primeiro são as adesinas pili do tipo 1 e 3, e promove adesão bacteriana a células epiteliais, imunes e superfícies abióticas. O segundo é a cápsula e desempenha um papel vital na proteção de *K. pneumoniae* a partir das respostas imunes do hospedeiro, sua virulência pode ser causada por outros fatores como o gene *RmpA* que regula sua síntese. Já o terceiro são os lipopolissacarídeos, e fazem com que a *K. pneumoniae* não seja reconhecido pela célula hospedeira, inibindo a resposta inflamatória e reduzindo a depuração para bactérias. E o quarto são os transportadores de ferro, uma vez que o ferro é fundamental para o crescimento e replicação das bactérias, sendo o sistema de absorção de ferro mais importante, a enteromicina que tem a maior afinidade pelo ferro (Wang *et al.*, 2020).

Contudo, uma característica crítica da *K. pneumoniae* que permitiu a sua evolução contínua é a capacidade de adquirir novo material genético, entre ele vários genes de virulência, e como resultado, dois patótipos denominados *K. pneumoniae*

clássica e *K. pneumoniae* hipervirulenta. Sendo o patótipo hipervirulento capaz de infectar pessoas saudáveis e ocasionar infecções em quase todas as partes do corpo. Alguns exemplos dessas síndromes infecciosas incluem abscessos não hepáticos, pneumonia, fascíte necrosante, endoftalmite e meningite (Russo; Marr, 2019).

3.2.3 *Staphylococcus aureus*

O *S. aureus* é uma bactéria comensal gram-positiva da microflora humana que existe, aparentemente de forma benigna, em vários locais do hospedeiro. No entanto, como agente patogénico oportunista, também pode causar uma série de doenças graves. As doenças causadas por *S. aureus* variam desde pequenas infecções cutâneas, intestinais e respiratórias até bacteremia e meningite (Pidwill *et al.*, 2021).

As infecções por *S. aureus* são particularmente problemáticas devido à ocorrência frequente de resistência a antibióticos em *S. aureus*, entre os quais cepas resistentes a penicilina. Além disso, o *S. aureus* resistente à meticilina são os mais importantes clinicamente, essas infecções são acompanhadas por aumento de mortalidade, morbidade e internação hospitalar, em comparação com aquelas causadas por *S. aureus* sensível à meticilina (Guo *et al.*, 2020).

O processo de virulência desta bactéria se dá por meio de uma infinidade de toxinas e fatores de evasão imunológica, além de uma vasta gama de fatores proteicos e não proteicos que permitem a colonização do hospedeiro durante a infecção. E ainda, a os mecanismos de resistência a antibióticos adquiridos ao modificar o genoma (Cheung; Bae; Otto, 2021).

Vale salientar, que a intoxicação alimentar é um caso especial de infecção aguda ocasionada por *S. aureus* em que são ingeridos alimentos contaminados contendo enterotoxinas estafilocócicas, que causam êmese e envolve a indução da liberação de histamina dos mastócitos intestinais, provovendo a evasão do sistema imunológico. Os principais sintomas da intoxicação alimentar estafilocócica incluem náuseas, cólicas abdominais e vômitos, que se desenvolve após a ingestão dos alimentos contaminados com *S. aureus* (Ono *et al.*, 2019).

No final da década de 1990, foi observada uma mudança notável na epidemiologia do *S. aureus* com o surgimento de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA). O MRSA foi responsável por surtos hospitalares (MRSA associado aos

cuidados de saúde (HA-MRSA)) em muitas partes do mundo. Porém, foi observada uma mudança substancial na epidemiologia do MRSA quando este foi detectado em diferentes comunidades (CA-MRSA) pelo o mundo, como na Europa, Norte da África, Estados Unidos e no Médio Oriente durante as décadas de 1990 e 2000 (Baig *et al.*, 2020).

3.3 Tratamentos convencionais e alternativos para o controle de microrganismos responsáveis pela cárie e DTA's

O principal agente anticariogênico utilizado no tratamento da cárie é a clorexidina, que atua na desestruturação da membrana celular bacteriana, interferindo na função osmótica das bactérias. Entretanto, esta possui efeitos adversos, quando utilizada por tempo prolongado, como a pigmentação dentária, a formação de tártaro e a alteração do paladar (Romo *et al.*, 2020). Em casos mais graves de cárie, pode-se utilizar antibióticos como coadjuvantes no tratamento da cárie, como a amoxicilina e a cefalexina, que vão inibir a síntese da parede celular das bactérias (Fernandes *et al.*, 2021).

Normalmente, o tratamento de DTA's, se faz por meio de repouso, hidratação e soro antitoxinas, se necessário. A antibióticoterapia só é recomendada em casos mais graves de infecção. Contudo, quando há o agravamento das infecções, os antibióticos são utilizados como tratamento auxiliar, a citar a tetraciclina e a doxiciclina para combater a cólera (*Vibrio cholerae*), o sulfametoxazol+trimetropim para intoxicações severas por *E. coli* e clofenicol, amoxicilina, ampicilina ou sulfametoxazol+trimetropim para tratar casos mais graves e invasivos de febre tifoide, ocasionado por *S. typhi* e *S. paratyphi* (Barretto; Silva, 2006). Além disso, PN de origem vegetal, em especial os condimentos e seus derivados, exibem potencial relevante como agentes antimicrobianos utilizados na conservação de alimentos. Alguns dos condimentos que se destacam por apresentarem forte atividade antimicrobiana são os óleos essenciais do cravo-da-índia, orégano e alecrim, que possuem compostos químicos, tais como eugenol, carvacrol e cinamaldeído, respectivamente, que são os principais responsáveis pela atividade antimicrobiana (Coutinho *et al.*, 2020).

Devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, cada vez mais patógenos estão se tornando resistentes e representam uma ameaça a terapia bem-sucedida das doenças. Com a ascensão na resistência bacteriana vários agentes antimicrobianos sintéticos, há um interesse considerável e uma tendência crescente no campo de fitoterápicos (Silva; Oliveira; Oliveira, 2022).

Dessa forma, a utilização de PN, se tornou uma alternativa encontrada para o controle da cárie e de DTA, estes são produtos de origem vegetal, animal ou microbiológica, e são pontos de partida clássicos para a descoberta de novos medicamentos (Banerjee *et al.*, 2015). Os PN são biologicamente relevantes porque podem interagir com proteínas que, por exemplo, servem como receptores, ou enzimas, e co-evoluíram juntamente com pequenas moléculas de ligação específica (Karageorgis *et al.*, 2021).

Todos os medicamentos fitoterápicos são derivados de compostos de origem natural (Banerjee *et al.*, 2015). Alguns exemplos bem conhecidos incluem o agente anticâncer paclitaxel (Taxol[®]), originalmente extraído do teixo do Pacífico, o medicamento antiarrítmico digoxina, extraído da planta dedaleira, o antiinflamatório aspirina[®], derivada de um precursor encontrado nas folhas do salgueiro (Gallo *et al.*, 2023) e a penicilina (Bezetacil[®]) secretada por alguns fungos do gênero *Penicillium spp.* (Giraldo-Hoyos, 2021). Todos esses exemplos evidenciam o potencial dos PN.

Desde a pré-história, o homem procurou aproveitar os princípios ativos encontrado nas plantas medicinais, embora de modo totalmente empírico ou intuitivo, baseado em descobertas ao acaso. As plantas medicinais ou drogas vegetais, são aquelas que têm princípios ativos de caráter medicinal, servindo para o tratamento de doenças (Lara *et al.*, 2019). De acordo com a definição proposta pela ANVISA, “as plantas medicinais são aquelas capazes de aliviar ou curar enfermidades e têm tradição de uso como remédio em uma população ou comunidade” (Brasil, 2020).

Fitoterápicos são substâncias naturais oriundas de plantas. E podem ser obtidas a partir de derivados de droga vegetal, ou seja, um produto de extração da matéria-prima vegetal, entre eles tem-se o extrato, a tintura, o óleo essencial, a cera, o exsudato, o suco, o composto isolado e outros (Brasil, 2006).

Segundo dados do próprio sistema público de saúde, 25% dos medicamentos comercialmente existentes na atualidade, são derivados de maneira direta ou indireta

das plantas medicinais, as quais deveriam ser consideradas, principalmente por meio da aplicação de tecnologias modernas ao conhecimento tradicional (Brasil, 2012).

Nesta busca, muitos PN, como extrato de alho, óleo de canela, óleo de tomilho, óleo de romã, óleo de copaíba, Aloe vera etc., mostraram ser antimicrobianos potentes contra infecções orais causadas por fungos e bactérias, vale salientar que o óleo de copaíba e de romã, além do eugenol, isolado do óleo de cravo-da-índia, apresentaram boa atividade frente ao *S. mutans* (Silva; Oliveira; Oliveira, 2022). E com relação aos PN usados no tratamento das DTA's o extrato de alho se mostrou eficiente no tratamento de infecções do trato gastrointestinal ocasionadas por *S. aureus* e *E. coli* (Ferreira *et al.*, 2021), também vale citar, que o óleo essencial de alecrim e de gengibre inibiu bactérias causadoras de infecções intestinais, como é o caso da *E. coli* e *S. aureus* (Cutrim *et al.*, 2019).

Assim, a utilização de PN como óleos essenciais e compostos isolados, como antibióticos para o tratamento de cárie e DTA's, se mostra muito promissor, devido a riqueza de produtos que as plantas medicinais possuem.

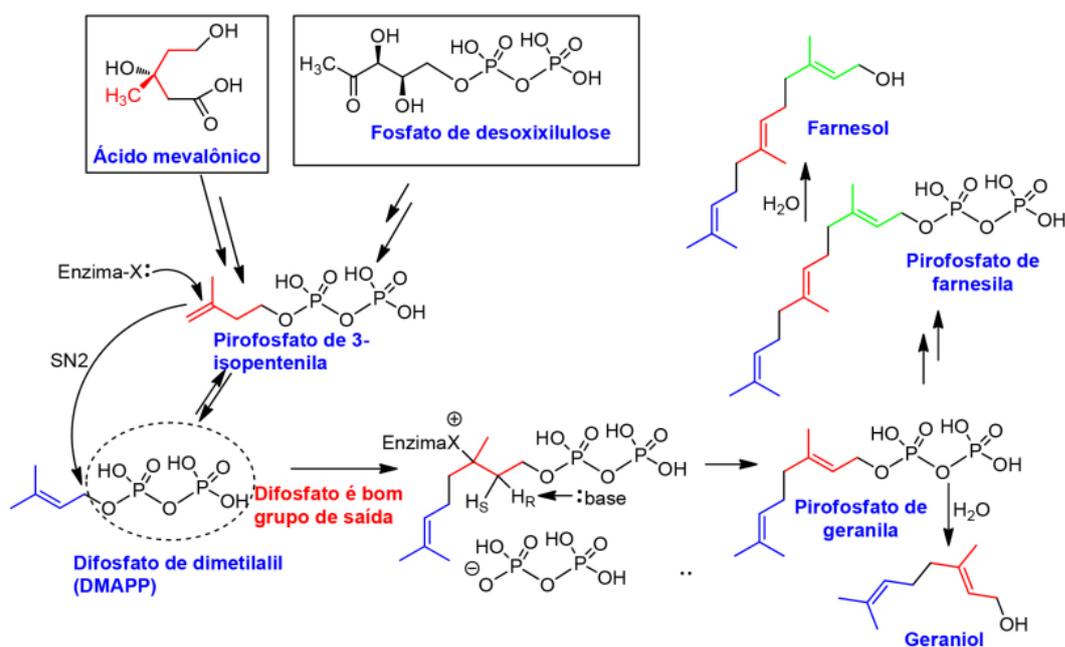
3.4 Óleos Essenciais de Plantas e seu Potencial Antimicrobiano e Antibiofilme

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis e líquidas à temperatura ambiente, com odor e sabor fortes derivados dos metabólitos secundários das plantas (Ferreira *et al.*, 2022). Na planta, os óleos essenciais desempenham um papel central na polinização, comunicação e proteção: eles atraem inimigos naturais de herbívoros, protegem contra patógenos como fungos e bactérias, são mensageiros entre plantas, atraem dispersores de sementes e particularmente polinizadores, protegem contra flutuações extremas de temperatura, etc (Bunse *et al.*, 2022). As variações nas condições ambientais e nos fatores ecológicos impactam diretamente na capacidade de uma planta de produzir óleos essenciais, afetando também o tipo de compostos produzidos e a qualidade e quantidade dos óleos (Ferraz *et al.*, 2022).

Os óleos essenciais podem ser extraídos das raízes, caules, folhas e flores por destilação a vapor, hidrodestilação e flúido supercrítico. E a sua atividade biológica está diretamente relacionada a diversidade de seus constituintes químicos presentes nesses óleos voláteis, e podem incluir atividades antibacterianas, antifúngicas e antioxidantes (Simões *et al.*, 2017; Mahizan *et al.*, 2019).

Estruturalmente, os constituintes químicos dos OE podem ser classificados em dois grupos: terpenos e fenilpropanóides. Os terpenos, são uma importante classe de metabólitos secundários, formados de unidades de isopreno, ou seja, possui 5 átomos de carbono em sua estrutura (C₅), e são hidrocarbonetos com a fórmula geral (C₅H₈)_n (Tongnuanchan; Benjakul, 2014; Forezi *et al.*, 2022). Estes são produzidos pelas vias 2- C -metil- D -eritritol 4-fosfato (MEF) ou mevalonato (MVA) (figura 01). Estas vias se baseiam na condensação de moléculas de isopentenil pirofosfato (IPF) e uma de seu isômero dimetilalil pirofosfato (DMAPF), através de reações enzimáticas. Os tipos de terpenos mais comuns na composição dos óleos essenciais, são os monoterpênicos, seguidos pelos sesquiterpenos (Masyita *et al.*, 2022). Como no caso dos monoterpênicos (C₁₀), que são formados por 1 molécula de IPF e 1 de DMAPF, sob a atuação de enzimas como a geranyl difosfato sintase. Ou do caso dos sesquiterpenóides (C₁₅), utilizam o Farnesil pirofosfato (FPF) como precursor pela condensação de 2 moléculas de IPP e uma de seu isômero DMAPF, pela enzima farnesil pirofosfato sintase (FPFS). Os produtos sesquiterpênicos são gerados a partir do FPF pelas sesquiterpenos sintases (Keefover-Ring, 2022; Reyes-Calderón *et al.*, 2023).

Figura 01 – Rota biossintética resumida de terpenos.



Fonte: Forezi *et al.*, 2022

Os terpenoides são outro tipo de terpenos que contêm moléculas de oxigênio que são construídas por meio de modificações bioquímicas (remoção ou adição de grupos metil) (Masyita *et al.*, 2022).

Os fenilpropanóides, são sintetizados nas plantas a partir da via do ácido chiquímico, que consiste na condensação do ácido fosfoenol piruvato (FEP) e eritrose-4-fosfato (E4F), derivados do metabolismo da glicose e pentose, respectivamente, esta reação é catalisada por enzimas do tipo sintase, desidrogenase e quinase para formar o ácido chiquímico (Wu *et al.*, 2022). Posteriormente, o ácido chiquímico sofre uma descarboxilação e produz o aminoácido fenilalanina, que é catalisada pela enzima fenilalanina amonialiase (FAL), elimina uma molécula de amônia para formar o ácido cinâmico. As reações químicas que ocorrem depois levam à adição de mais grupos hidroxilas e outros substituintes, formando compostos simples nomeados fenilpropanoides, principais itens para formação de compostos fenólicos. Os fenilpropanoides também são precursores das ligninas, lignanas e cumarinas (Barreto; Gaspi; Oliveira, 2020).

Embora os óleos essenciais tenham diversas aplicações potenciais, eles são utilizados principalmente como matéria-prima nas indústrias alimentares, cosméticos, perfumarias e horticulturas. Já nas indústrias farmacêuticas são usados para obtenção de derivados estruturais naturais ou sintéticos (produtos vegetais), que servirão como princípios ativos ou excipientes em suas formulações (Simões *et al.*, 2017).

A introdução de antibióticos no cenário médico, ocorreu na década de 40 e reduziu drasticamente as taxas de mortalidade por infecções bacterianas. Revolucionando o tratamento de doenças que requerem procedimentos cirúrgicos, melhorando significativamente a expectativa de vida em todo o mundo (Dias *et al.*, 2022). Entretanto, o aumento do acesso sem o devido controle sanitário resultou no uso indiscriminado de antibióticos, e vem contribuindo significativamente para o desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos (Oliveira; Pereira; Zamberlam, 2020).

Durante os últimos anos, óleos essenciais têm atraído a atenção das comunidades farmacêuticas e científicas, e evidências têm demonstrado o potencial promissor desses óleos e de seus constituintes puros contra microrganismos de importância clínica. Dentre os óleos essenciais que tem exibido elevado poder antibacteriano, têm-se os óleos de tomilho, orégano, cravo-da-Índia, tea-tree, capim-

limão, canela, louro e pau-rosa. Já o mentol, timol, carvacrol, linalol, limoneno e 1,8-cineol, são alguns exemplos de componentes puros, presentes em óleos voláteis, conhecidos por sua bioatividade frente a diversas cepas de bactérias (Basavegowda; Baek, 2021).

A exploração de óleos essenciais na prevenção da resistência bacteriana é promissora, porque são multicomponentes com diferentes alvos de ação e interações sinérgicas, comparados a vários agentes antimicrobianos convencionais que possuem apenas um único alvo (Chouhan; Sharma; Guleria, 2017; Basavegowda; Baek, 2021).

Com relação a atividade antibacteriana, o mecanismo de ação dos óleos essenciais depende principalmente do tipo e da concentração dos seus constituintes. Diferentes componentes químicos podem atuar através de diferentes mecanismos. Por exemplo, a principal função dos compostos fenólicos é perturbar a estrutura e a permeabilidade das membranas celulares e os grupos hidroxila presentes nos compostos fenólicos podem prejudicar a atividade das enzimas nos microrganismos, a citar, a atividade da enzima no ciclo do ácido tricarbóxico (Ju *et al.*, 2019).

O mecanismo de ação dos fenilpropanóides envolve a perturbação da membrana celular bacteriana, ocasionando a lise da mesma (Tanaka, 2020). Já o mecanismo antimicrobiano dos terpenos está intimamente associado às suas características lipofílicas. Os monoterpenos impactam preferencialmente nas estruturas da membrana, rica em ácidos graxos, aumentando sua fluidez e permeabilidade. (Khameneh *et al.*, 2019; Ju *et al.*, 2019). Além disso, esta classe também é capaz de alterar a topologia das proteínas bacterianas, como a bomba de efluxo, e também inibindo a captação de oxigênio, causando distúrbios na cadeia respiratória (Mahizan *et al.*, 2019; Dias *et al.*, 2022).

Os efeitos bacteriostáticos e bactericidas podem ter ocorrido devido à lipofilicidade dos óleos essenciais, os quais tendem a se acumular na bicamada lipídica da membrana citoplasmática da bactéria, resultando em um aumento da permeabilidade. Essa permeabilidade, por sua vez, é influenciada pelo efeito dos solutos presentes no meio em que as bactérias estão inseridas. Neste caso, a capacidade dos componentes do óleo essencial em se distribuírem na fase lipídica da

membrana é determinante para desencadear ou não efeito sobre as cepas bacterianas (Luchesi, 2017).

Um determinado óleo essencial com uma composição química fixa, também pode atuar por mecanismos diferentes quando aplicada a diferentes tipos de microrganismos, porque a composição e a espessura das membranas celulares de diferentes espécies microbianas são diferentes, como exemplo as bactérias Gram-positivas e bactérias Gram-negativas (Ju *et al.*, 2019).

3.5 Óleo essencial de Patchouli

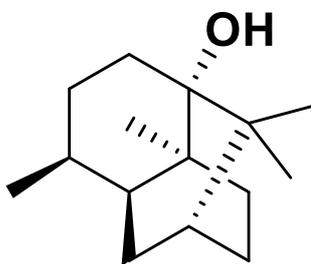
A *Pogostemon cablin* Benth, também conhecida como patchouli, é uma erva aromática membro da família das *Lamiaceae*. Esta planta está registrada na Farmacopeia Chinesa (China Pharmacopoeia Committee, 2015) devido a sua importância medicinal e econômica. Ela é nativa do sul e sudeste da Ásia e seu caule e folhas, comumente conhecidos como “Guanghuoxiang”, podem ser usados para extrair o óleo de patchouli (Yan *et al.*, 2021). Esta planta é cultivada principalmente em escala comercial na Índia, Malásia, China, Indonésia, Vietname e Cingapura. Além disso, esta já é cultivada no Brasil, a qual já possui grande importância econômica e científica para a sua industrialização (Dantas *et al.*, 2020). Sendo a maior quantidade de óleo de patchouli produzida pela Indonésia. Cabe salientar, que o patchouli é uma das 20 principais plantas produtoras de óleo essencial que são comercializadas regularmente no mercado mundial e tem uma classificação mais alta, devido as suas propriedades (Srivastava *et al.*, 2022).

Seu óleo essencial é altamente valorizado em perfumaria e aromaterapia devido à sua fragrância aromática picante dominante. Ele atua como uma base forte e fornece propriedades fixadoras permanentes para evitar a evaporação e promover a tenacidade. Também é amplamente usado na aromaterapia para melhorar o interesse sexual, atenuar a depressão, a ansiedade e acalmar os nervos (Swamy; Sinniah, 2016). Na medicina chinesa, o óleo é utilizado para tratar indigestão, gastroenterite, dor de cabeça, febre e outras patologias (Yan *et al.*, 2021). Além disso, o óleo essencial de *P. cablin* é empregado como matéria-prima para a fabricação de sabonetes, perfumes, detergentes, cosméticos, desodorantes, goma de mascar, alimentos cozidos e doces (Roshan; Dubey; Mohana, 2021).

O principal componente deste óleo essencial é o patchoulol ou álcool de patchouli, representado na figura 02, este apresenta fórmula molecular $C_{15}H_{26}O$, e é um álcool oxigenado, classificado como um sesquiterpeno tricíclico de importância natural, apresentando 15 átomos de carbono, que representa mais de 30% da composição deste óleo essencial e é popularmente aplicado em produtos de perfumaria e cosméticos (Ouyang *et al.*, 2016; Wan *et al.*, 2021).

O álcool patchouli ((1R, 3R, 6S, 7S, 8S) -2,2,6,8-tetrametiltriciclo[5.3.1.0^{3,8}]undecan-3-ol) é um composto carbotricíclico e álcool terciário sesquiterpenóide que é triciclo[5.3.1.0(3,8)]undecan-3-ol que é substituído nas posições 2, 2, 6 e 8 por grupos metil. É um álcool terciário, um sesquiterpenóide e um composto carbotricíclico (NCBI, 2023).

Figura 02 – Fórmula estrutural do patchoulol.



Fonte: Próprio autor 2024.

Este composto também possui inúmeras propriedades farmacológicas a citar a atividade antiúlceras gástricas (Lee *et al.*, 2020), atividade antimicrobiana (Cunha *et al.*, 2023), atividade antiinflamatória (Junren *et al.*, 2021), atividade inseticida (Feng *et al.*, 2019) e atividade antidepressiva (He *et al.*, 2023).

Segundo Luchesi (2017), o óleo essencial de *P. cablin*, apresentando cerca de 31,5% de patchoulol em sua composição, foi ativo contra *Staphylococcus aureus* e *Salmonella Enteritidis*, com concentração inibitória mínima (CIM) de 12,5 e 25 $\mu\text{L/mL}$. E concentração bactericida mínima (CBM) de 25 e 50 $\mu\text{L/mL}$, respectivamente. Em outro trabalho, constatou-se a ação antibacteriana do patchoulol contra *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis* resistente a antibióticos e *Proteus vulgaris*, com valores de CIM de 64; 128 e 100 $\mu\text{L/mL}$, nessa ordem (Wan *et al.*, 2021).

3.6 Óleo essencial de Monarda-Rosa

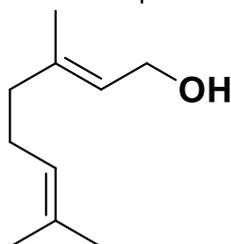
A *Monarda fistulosa*, também conhecida como monarda-rosa, bálsamo de abelha ou bergamota selvagem, é uma planta que pertence ao gênero *Monarda*, da família das *Lamiaceae* (Shanaida *et al.*, 2021). A *M. fistulosa* é nativa da América do Norte e é encontrada em solos relativamente secos de pradarias, matas e clareiras, geralmente em solos calcários (Chung *et al.*, 2022).

Esta planta tem sido utilizada medicinalmente para tratar resfriados, dor de estômago, dor de cabeça, feridas e problemas de pele, entre outros distúrbios (Ghosh *et al.*, 2020). Além disso, as propriedades terapêuticas da *M. fistulosa* são amplamente determinadas pela composição de seus óleos essenciais, ou seja, que é definida pelo componente majoritário, podendo possuir atividade, antimicrobiana, anti-inflamatória e anti-helmíntica (Dindo *et al.*, 2021).

O padrão de produção de óleo essencial em *M. fistulosa* é um polimorfismo químico, ou seja, uma mistura de compostos, o qual os indivíduos são identificados com fenótipos químicos distintos, ou quimiotipos, em que um único monoterpene domina (Keefover-Ring, 2022). A monarda-rosa, apresenta três quimiotipos distintos, cujo os compostos predominantes em cada quimiotipo são o timol, carvacrol e o geraniol (Lawson; Satyal; Setzer, 2021). O óleo essencial de *M. fistulosa* usado neste estudo se enquadram no quimiotipo rico em geraniol.

O geraniol (figura 03) é um álcool monoterpene isoprenóide acíclico, de fórmula molecular $C_{10}H_{18}O$, com uma hidroxila na extremidade, que pode ser extraído dos óleos essenciais de diversas plantas aromáticas, a citar a *M. fistulosa*. Este, vem sendo utilizado nas últimas décadas na indústria de aromas e fragrâncias (Lei *et al.*, 2019). Ele é o componente majoritário de um dos quimiotipos de *M. fistulosa*, apresentando uma concentração de cerca de 95% no óleo essencial (Mączka; Wińska; Grabarczyk, 2020).

Figura 03 – Estrutura química do geraniol.



Fonte: Próprio autor 2024.

O geraniol ((2 E)-3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-ol) é um líquido oleoso incolor a amarelo claro com um odor doce de rosa, este é um monoterpênóide que consiste em duas unidades prenil ligadas cabeça-cauda e funcionalizadas com um grupo hidroxila na extremidade caudal. O geraniol demonstrou um amplo espectro de atividades farmacológicas, incluindo antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante, anticancerígena e neuroprotetora, para citar algumas (NCBI, 2023).

Recentemente, tem-se crescido o interesse por este composto, uma vez que ele apresenta diversas propriedades farmacológicas, a citar a atividade antitumoral (Mamur, 2022), atividade inseticida (Ramadan *et al.*, 2020), atividade antimicrobiana (Lira *et al.*, 2020), atividade antiinflamatória (Ma *et al.*, 2023), atividade imunomoduladora (Chung *et al.*, 2022) e entre outras atividades farmacológicas (Chen; Viljoen, 2022).

Silva, em 2020, avaliou o potencial antibacteriano de nanoemulsões de *M. Fistulosa*, do quimiotipo rico em geraniol, em bactérias gram-negativas *Xanthomonas citri* e *Xanthomonas fuscans*, e obteve CIM de 6 µL/mL para ambas bactérias. Lira *et al.* (2020) realizaram um levantamento bibliográfico sobre a atividade antimicrobiana do fitoconstituente geraniol frente a bactérias e fungos, e destacaram que este monoterpeno apresenta atividade contra *S. aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *Candida albicans* e *Candida glabrata*, alcançando valores de CIM de 0,6; 0,03; 128 e 128 µL/mL, respectivamente.

3.7 Óleo essencial de Cominho

O cominho (*Cuminum cyminum* L.) é uma planta pertencente à família *Apiaceae*, que teve sua origem na região do Mediterrâneo, mais precisamente no Turquistão e Egito, e que se espalhou por várias regiões áridas e semiáridas do mundo. É uma das espécies de plantas mais antigas e economicamente importantes, a qual é tolerante à seca e é cultivada principalmente em climas mediterrâneos, que requerem um verão longo e quente de 3 a 4 meses, com temperaturas diárias de aproximadamente 30 °C (Mnif; Aifa, 2015).

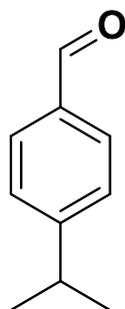
Devido ao fato de ser uma planta aromática, esta é amplamente utilizada como tempero culinário na preparação de um grande número de pratos de diferentes culturas em todo o mundo (Koohsari *et al.*, 2020). Além disso, às sementes são

amplamente utilizadas no setor de perfumaria, produção de loções, curativos e como aromatizante em cremes (Rajput; Paramakrishnan; Gangadharappa, 2021).

Vale salientar, que a *C. cyminum* é particularmente conhecida por seu potencial terapêutico, apresentando diversas atividades, entre elas cabe citar a atividades antinociceptiva (Koohsari *et al.*, 2020), antifúngica, antioxidante (Ghasemi *et al.*, 2019), antidiabético (Singh *et al.*, 2021), antiinflamatório (Kang *et al.*, 2019), anticâncer (Goodarzi *et al.*, 2020), imunomoduladora e antibacteriana (Al- Snafi, 2016).

O cuminaldeído, representado pela figura 04, é um aldeído monoterpênico, cuja fórmula molecular é $C_{10}H_{12}O$, conhecido por ser o componente majoritário do óleo essencial de cominho, com aproximadamente 30 % de sua composição (Villarreal *et al.*, 2017; Ebada, 2017). Ele é o principal responsável pelo aroma distinto e característico do óleo essencial, sendo muito utilizado para aromatizar vários alimentos (Singh *et al.*, 2021).

Figura 04 – Fórmula estrutural do cuminaldeído.



Fonte: Próprio autor 2024.

O cuminaldeído (4-propan-2-ilbenzaldeído) é um membro da classe dos benzaldeídos que é o benzaldeído substituído por um grupo isopropil na posição 4. É um componente dos óleos essenciais de cominho e apresenta principalmente a atividade inseticida. Ele deriva de um hidreto de um cumeno (NCBI, 2023).

Dentre todos os compostos bioativos do óleo de cominho, o cuminaldeído é o mais explorado por apresentar diferentes atividades farmacológicas em comparação com outros bioativos desse mesmo óleo (Singh *et al.*, 2021). Portanto, esta substância tem como principais efeitos terapêuticos o efeito neuroprotetor, antidiabético, antimicrobiano, antioxidante, anticancerígeno e antiinflamatório (Ebada, 2017; Singh *et al.*, 2021).

De acordo com Mahmoud *et al.*, em 2016, o qual averiguaram a CIM do óleo essencial de *C. cyminum*, frente cepas bacterianas *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P.*

aeruginosa e *E. coli*, as quais foram encontradas CIMs de 1116, 204,87, 84,97 e 7,219 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. Já Wanner *et al.* (2010) constataram que o cuminaldeído apresentou bioatividade contra *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, com valores de CIM de 50, >1000 e 800 $\mu\text{L/mL}$, respectivamente.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Estudo Fitoquímico

4.1.1 Aquisição dos Óleos Essenciais

Os óleos essenciais das folhas, de *Pogostemon cablin* (OEPC) e de *Monarda fistulosa* (OEMF) foram adquiridos comercialmente na loja virtual da Laszlo® (Belo Horizonte – MG), uma empresa do ramo de aromaterapia. Já o óleo de *Cuminum cyminum* (OECC), extraído a partir das sementes dessa planta, foi adquirido comercialmente na loja virtual Therra Aroma, empresa filiada ao grupo Laszlo®. De acordo com informações descritas nos rótulos dos frascos dos produtos, o OEPC, o OEMF e o OECC são oriundos, respectivamente, da Indonésia, do Canadá e da Índia, sendo esses óleos extraídos pelo método de destilação por arraste a vapor.

4.1.2 Análise dos Óleos Essenciais

A análise dos óleos essenciais, para identificação dos seus constituintes, foi realizada pela técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM). Já para a análise do percentual dos constituintes dos óleos, foi utilizado o método de Cromatografo Gasoso Acoplado a Ionização de Chama (CG/DIC). Dessa forma, cada óleo essencial teve sua análise qualitativa da composição química efetuada em CG/EM, equipamento Shimadzu modelo QP-2010 Plus, quadrupolo, com impacto de elétrons a 70 eV, coluna HP-5MS metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Agilent), gás carreador hélio com fluxo 1,00 mL.min⁻¹, temperatura do injetor a 250 °C, detector a 150 °C e linha de transferência a 280 °C. O forno cromatográfico foi programado da seguinte maneira: temperatura inicial de 70 °C, com rampa de aquecimento de 4 °C.min⁻¹ até 180 °C e acréscimo de 10 °C/min até 250 °C ao término da corrida (34,5 min).

A análise quantitativa da composição química de cada óleo foi realizada em CG/DIC, equipamento Shimadzu modelo CG-2010 Plus, coluna RTX-5 metilpolissiloxano (30m x0,25mmx0,25µm, Restek), modo de injeção com divisão de fluxo 1:30, gás carreador nitrogênio com fluxo 1,00 mL.min⁻¹, com a temperatura do

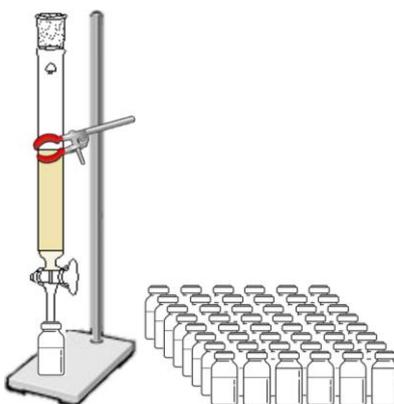
injetor a 250°C e temperatura do detector a 280°C. A programação do forno cromatográfico foi similar à usada nas análises realizadas em CG/EM.

As percentagens dos constituintes foram calculadas através da área de integral de seus respectivos picos, relacionadas com a área total de todos os constituintes da amostra. Os diversos constituintes químicos dos óleos essenciais foram identificados através da comparação visual de seus espectros de massas com aqueles existentes na literatura (Adams, 2017) e espectros fornecidos pelo banco de dados (NIST08) do equipamento e, também, pela comparação dos índices de retenção com aqueles existentes na literatura (Adams, 2017). Uma solução padrão de *n*-alcanos foi injetada nas mesmas condições cromatográficas da amostra, e foi utilizada para obter os índices de retenção conforme descrito por Van Den Dool e Kratz (1963).

4.1.3 Isolamento de Constituinte de Óleo Essencial

Para o isolamento do constituinte majoritário do OEPC (substância **(1)**), 7g do óleo foi submetido ao fracionamento cromatográfico em coluna de sílica-gel (Neon) (figura 05). Nesse processo, foi utilizado série eluotrópica constando de hexano (Neon) e acetato de etila (Synth), puros ou em misturas binárias com polaridades crescentes. O comprimento e diâmetro das colunas, necessárias para o desenvolvimento da cromatografia. As quantidades de sílica-gel utilizadas variaram de acordo com cada fracionamento, conforme a quantidade e o grau de pureza da amostra.

Figura 05 – Purificação em coluna de sílica gel.



Fonte: Próprio autor, 2024.

A cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizada para monitorar os fracionamentos cromatográficos, assim como para reunir as frações resultantes

desses processos que mostraram perfis cromatográficos semelhantes. Para a realização da CCD serão utilizadas cromatofolhas (placas) de alumínio com gel sílica 60 F254 (Merck) como fase estacionária. As frações resultantes da cromatografia em coluna, foram aplicadas em placas com auxílio de um capilar de vidro, e então cada placa foi eluída em cuba cromatográfica empregando-se como eluente/fase móvel constando de hexano e acetato de etila, puros ou em misturas binárias. A visualização dos compostos em CCD foi efetuada através da exposição à irradiação ultravioleta na câmara escura AG-DC-02 (Indgold) em dois comprimentos de onda (254 ou 365 nm) e/ou por borrifação com solução de vanilina sulfúrica ou por exposição a vapores de iodo (Wagner; Bladt, 1996).

Dessa forma, uma alíquota (7,0 g) de OEPC foi acondicionada sobre sílica-gel em coluna e cromatografada, resultando na obtenção de 518 frações (tabela 01). Através de análise em CCD (eluente: hexano/acetato de etila 3%) as frações de 166 a 244 foram reunidas, fornecendo 1,38 g de um óleo incolor, solúvel em clorofórmio, o qual foi denominado de **(1)**.

Tabela 01 – Descrição do gradiente de eluição do tratamento cromatográfico do óleo essencial de folhas de *Pogostemon cablin*

Fração	Eluente	Volume (mL)
1-81	Hexano puro	300
82-165	H/AC 0,5%	300
166-244*	H/AC 1%	300
245-323	H/AC 1,5%	300
324-381	H/AC 2%	200
382-437	H/AC 3%	200
438-460	H/AC 5%	100
461-494	H/AC 50%	100
495-518	Acetato de etila puro	50

*Fração onde foi encontrado a substância (1)

Fonte: Próprio autor, 2024.

4.1.4 Determinação estrutural de substâncias isoladas

O composto majoritário isolado que foi obtido a partir de tratamentos cromatográficos do óleo essencial, foi identificado com o emprego de métodos espectrométricos. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H) e de Carbono-13 (RMN ¹³C), uni e bidimensionais, foram gerados em um espectrômetro Agilent DD2 (1H: 600 MHz; 13C: 150 MHz).

Os espectros de massas (EM) de baixa resolução dos metabólitos isolados, foram obtidos em espectrômetro de massa Agilent, operando em impacto eletrônico de 70 eV.

4.2 Estudo Microbiológico

4.2.1 Microrganismos e condições de cultivo

As cepas mostradas na tabela 02, foram mantidas em BHI (Brain Heart Infusion-Difco®) + glicerol (20%) à -80°C; para realização dos experimentos uma alíquota de 100 µL foi inoculada em 10 mL de BHI caldo e crescida em estufa de acordo com as características de cada espécie bacteriana em teste por 24 horas. Após essa ativação inicial, a cultura foi renovada em mais 10 mL de BHI caldo esterilizado com inóculo de 100 µL e crescida nas mesmas condições descritas acima por 18 horas. Essa renovação foi feita para obter um microorganismo com melhor condição de crescimento e desenvolvimento. Para os ensaios de atividade antimicrobiana, essa cultura foi submetida à lavagem com água do tipo Mili-Rios e ajustada em espectrofotômetro para uma concentração adequada para cada tipo de experimento.

Tabela 02 – Bactérias cariogênicas e causadoras de DTA's e sua codificação.

Espécie de Bactérias	Codificação
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 25175
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 700698
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 11303

Fonte: Próprio autor, 2024.

Vale salientar, que de acordo com a ATCC (Coleção Americana de Tipos de Culturas), o *S. aureus* ATCC 700698 é uma cepa é resistente à metilina e é citada como apresentando suscetibilidade heterogênea à vancomicina (ATCC, 2024).

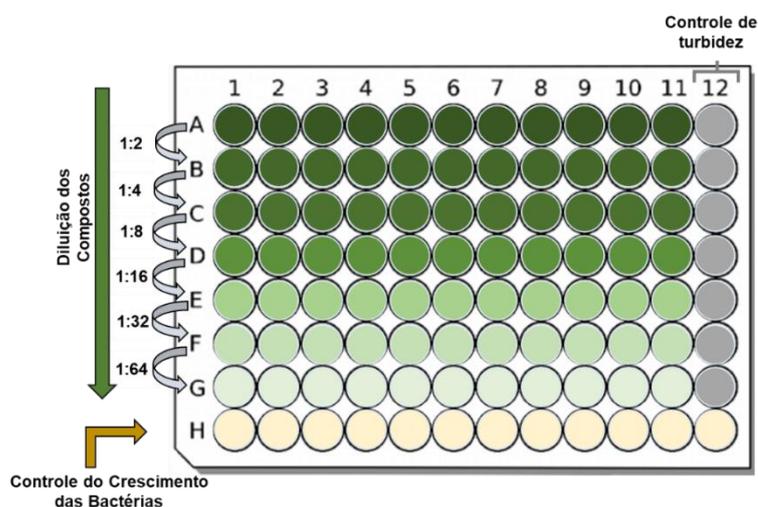
Posteriormente, as células bacterianas em fase de crescimento exponencial de acordo com a curva de crescimento, foram diluídas às concentrações de 2×10^6 UFC/mL em meio BHI para os experimentos referentes a determinação da CIM (Concentração Inibitória Mínima).

4.2.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima

A determinação da CIM dos compostos, foi determinada através do método da microdiluição em poços. As culturas de bactérias utilizadas *S. mutans*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* e *S. aureus ATCC 700698* foram inoculadas em poços com meio caldo BHI. As colônias destas culturas foram suspensas em NaCl 0,85% estéril e o inóculo foi padronizado com a escala de McFarland ($1-5 \times 10^6$ UFC/mL) (D'angelis *et al.*, 2020).

Posteriormente, em uma placa com 96 cavidades foram adicionados 100 μ L do BHI e 100 μ L dos compostos testados, com concentração inicial de 8 mg/mL após isso, retirou-se 100 μ L da primeira linha para a segunda linha (1:2) com diluições seriadas sucessivamente, até uma concentração final de (1:64). Em seguida foram adicionados 100 μ L do inóculo, em concentração de 2×10^6 UFC/mL (figura 06). Os poços foram incubados a 37 °C por 24 horas. Posterior a esse período, foi realizado a leitura para a identificação da CIM. Este teste está padronizado segundo as normas de aplicação global desenvolvida pelo CLSI (CLSI, 2015). A CIM é considerada como a menor concentração dos compostos que inibiu o crescimento dos microrganismos, através das leituras das placas. Foi realizado o controle de turbidez das substâncias-teste, que contém os PN diluídos nas mesmas concentrações do teste antimicrobiano. Em seguida, as placas foram colocadas em estufa a 37°C por 24 horas. Após incubação foi realizado a medida de turbidez do meio em cada poço com auxílio do leitor de microplacas (BioTrak II, Amersham Biosciences) à 620 nm.

Figura 06 – Esquemática da diluição seriada e determinação da CIM.



Fonte: Próprio autor, 2024.

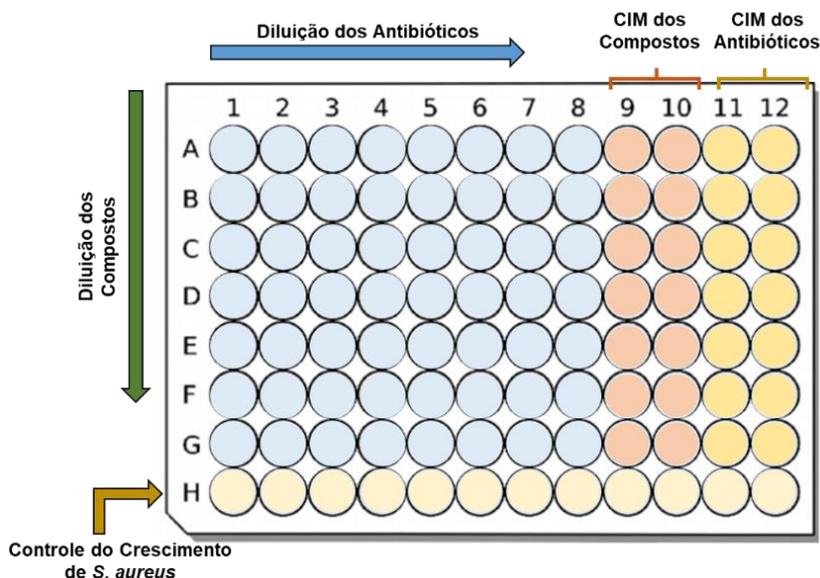
Segundo Van Vuuren e Holl (2017), propuseram uma escala para CIM como alternativa para reconhecimento do potencial antimicrobiano de óleos essenciais e fitoconstituintes isolados. Dessa forma, para os óleos essenciais que apresentaram valores de CIM > 1001 µg/mL, são considerados inativos; CIM entre 500 e 1000 µg/mL, possuem atividade moderada; CIM entre 101 e 500 µg/mL, atividade forte; e CIM ≤100 µg/mL, atividade muito forte. Quanto aos fitoconstituintes, caso apresentem CIM ≤ 3,9 µg/mL, possuem atividade muito forte; CIM entre 4 a 31,25 µg/mL, atividade forte; CIM entre 31,26 a 500 µg/mL, atividade moderada; e CIM > 500 µg/mL não apresentam atividade.

Para determinação da CBM (Concentração Bactericida Mínima) 10 µL da suspensão contida nos poços em que não houve um crescimento microbiano visível, foi inoculado em placas de petri com meio BHI ágar. Onde será considerada CBM a menor concentração do fitoquímico-teste capaz de inibir completamente o crescimento microbiano nas placas de petri.

4.2.3 Teste de Checkboard

A cepa padrão ouro MRSA ATCC700698 foi usada para avaliar a interação entre o óleo essencial, o componente isolado e os antibióticos relacionados à penicilina, para avaliar o efeito sinérgico (Rocha *et al.*, 2021). Primeiro, foram preparadas diluições seriadas de duas vezes dos medicamentos com BHIB, separadamente. Usando uma placa de microtitulação de 96 poços, 50 µL de cada substância (1:1 v/v) foram adicionados em linhas as substâncias OEPC ou Patchoulol, em concentrações decrescentes, e os antibióticos ampicilina (AMP), benzilpenicilina (BZP) ou oxacilina (OXA) foram distribuídos de forma semelhante entre as colunas, usando o CIM individual (CIM) como concentração inicial de cada agente antimicrobiano. Assim, cada poço continha uma combinação única de concentrações das duas substâncias (figura 07). Em seguida, 100 µL de inóculo bacteriano (2×10^6 UFC/mL) foram adicionados aos poços e incubados a 37 °C por 24 h em condições aeróbicas.

Figura 07 – Fluxograma para avaliação do efeito sinérgico do OEPC e patchoulol com os antibióticos frente a *S. aureus*.



Fonte: Próprio autor, 2024.

A análise dos resultados foi realizada pelo Índice de Concentração Inibitória Fracionada (iCIF), equação 2, definido como a soma das Concentração Inibitória Fracionada (CIF) dos compostos (A) e dos antibióticos (B). Por sua vez a CIF é determinada pela CIM das substâncias combinadas dividida pela CIM das substâncias isoladas (equação 1).

$$CIF_A = CIM_{A+B} / CIM_A \text{ (eq 1)}$$

$$CIF_B = CIM_{A+B} / CIM_B \text{ (eq 1)}$$

$$iCIF = CIF_A + CIF_B \text{ (eq 2)}$$

Onde CIM_A e CIM_B são os CIMs de cada componente isolado e a CIM_{A+B} é a CIM de A ou B na combinação entre eles. Os resultados foram interpretados e categorizados como: sinergismo ($iCIF \leq 0,5$), aditivo ($iCIF > 0,5$ a ≤ 1), indiferente ($iCIF > 1$ a < 2) ou antagonismo ($iCIF \geq 2$) de acordo com o Comitê Europeu para Testes de Suscetibilidade Antimicrobiana (EUCAST, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição Química dos Óleos Essenciais

A tabela 03 mostra os constituintes químicos identificados nos óleos essenciais, seus índices de retenção de Kovats em coluna HP-5MS e composição percentual. Um total de 26 compostos foram identificados nos óleos analisados, sendo 17 no OEPC, cinco no OEMF e seis no OECC, correspondendo a mais de 99% da composição destes óleos voláteis.

Tabela 03 – Perfil fitoquímico dos óleos essenciais de *Pogostemon cablin* (OEPC), *Monarda fistulosa* (OEMF) e *Cuminum cyminum* (OECC).

Constituintes	OEPC			OEMF			OECC		
	IK _{Lit}	IK _{Cal}	%	IK _{Lit}	IK _{Cal}	%	IK _{Lit}	IK _{Cal}	%
Hidrocarbonetos Monoterpenos			0,62			1,25			40,47
β-Pineno	-	-	-	-	-	-	979	982	7,67
α-Terpineno	1017	1040	0,62	1017	1025	0,72	-	-	-
o-Cimeno	-	-	-	1026	1038	0,53	1026	1028	21,1
γ-Terpineno	-	-	-	-	-	-	1059	1062	11,7
Monoterpenos Oxigenados			0			98,74			58,7
Linalool	-	-	-	1096	1105	2,68	-	-	-
Nerol	-	-	-	1229	1236	3,76	-	-	-
Cuminaldeído	-	-	-	-	-	-	1241	1245	51,7
Geraniol	-	-	-	1252	1265	92,3	-	-	-
α-Terpinen-7-al	-	-	-	-	-	-	1285	1288	7,00
Hidrocarbonetos Sesquiterpenos			61,48			0			0,78
β-Patchouleno	1381	1385	2,36	-	-	-	-	-	-
β-Elemeno	1390	1396	0,91	-	-	-	-	-	-
Cicloseicheleno	1407	1412	0,69	-	-	-	-	-	-
(E)-Cariofileno	1419	1423	3,04	-	-	-	-	-	-
α-Guaieno	1439	1433	14	-	-	-	-	-	-
Seicheleno	1446	1446	8,52	-	-	-	-	-	-
α-Patchouleno	1456	1459	5,82	-	-	-	-	-	-
γ-Gurjuneno	1477	1463	3,27	-	-	-	-	-	-
Germacreno D	1481	1482	0,47	-	-	-	-	-	-
γ-Curcumeno	-	-	-	-	-	-	1482	1476	0,78
δ-Selineno	1492	1495	0,73	-	-	-	-	-	-
Acifileno	1501	1501	3,09	-	-	-	-	-	-
γ-Patchouleno	1502	1505	0,38	-	-	-	-	-	-
α-Bulneseno	1509	1509	17,4	-	-	-	-	-	-
δ-Cadineno	1523	1522	0,82	-	-	-	-	-	-
Sesquiterpenos Oxigenados			37,6			0			0
Norpatchoulenol	1555	1561	0,59	-	-	-	-	-	-
Patchoulol	1658	1661	37,1	-	-	-	-	-	-
TOTAL			99,7			99,99			99,95

IK_{Lit}: Índice de Kovats obtido na literatura (Adams, 2017); IK_{Cal}: Índice de Kovats Calculado; %: porcentagem dos componentes identificados.

Fonte: Próprio autor, 2024.

Em relação da composição de OEPC, foi constatado o predomínio de sesquiterpenos hidrogenados, representando mais de 60% da composição deste óleo, resultado similar ao encontrado por Kačániová *et al.* (2020). Entretanto, Ribeiro *et al.* (2018), ao analisarem esse óleo, relataram um percentual maior de sesquiterpenos oxigenados em sua composição.

No presente estudo, destaca-se, ainda, o patchoulol como componente majoritário (37,1%) de OEPC, seguido por α -bulneseno (17,42%), α -guaieno (13,96%), e seicheleno (8,52%). Galovičová *et al.* (2022) relatam, como fitoquímicos majoritários do óleo essencial de patchouli, o patchoulol (31%), α -bulseneno (21,3%), α -guaieno (14,3%) e seicheleno (6,9%), consistindo em um perfil químico similar ao encontrado para o óleo investigado neste trabalho. Entretanto, Pandey *et al.* (2022), estudando o referido óleo essencial, encontraram patchoulol, cariofileno e α -guaieno como seus componentes prevalentes, exibindo percentuais de 44,5; 12,9; e 8,35%, nessa ordem.

Quanto a composição de OEMF e OECC, houve o predomínio de monoterpenos oxigenados, apresentando teores de 98,74 e 58,7 % desses constituintes, respectivamente. Achados semelhantes foram obtidos por Ye *et al.* (2019) e Merah *et al.* (2020), os quais encontraram aproximadamente 97 e 57% de monoterpenos oxigenados nesses óleos.

Na presente pesquisa, o componente mais abundante identificado em OEMF foi o monoterpeno geraniol (92,3%). Grzeszczuk, Wesółowska e Stefaniak (2020), com base na identificação dos componentes majoritários em óleos essenciais de espécimes de *M. fistulosa*, observaram a existência três genótipos (quimiotipos) dessa espécie, a saber: geraniol, timol e carvacrol.

Com respeito ao OECC, em nosso estudo verificou-se elevados teores de cuminaldeído (51,7%), *o*-cymeno (21,1%) e γ -terpineno (11,7%). Diferentemente desses achados, investigação recente realizada com o óleo de *Cuminum cyminum* apontou o cuminaldeído, γ -terpineno, menta-1,3-dien-7-al, α -pineno e cimeno como seus compostos prevalentes, com teores de 21,94; 18,20; 14,93; 13,79; e 7,80%, respectivamente (Ouryemchi *et al.*, 2024).

Os óleos essenciais podem variar em qualidade, quantidade e composição, mesmo quando obtidos da mesma espécie vegetal. Além do processo de extração do

óleo, o órgão vegetal utilizado e aspectos genéticos, os fatores exógenos durante o desenvolvimento da planta, como clima, condições do solo, infestação de pragas, idade e estágio do ciclo vegetativo, também contribuem significativamente para essa variação (Bunse *et al.*, 2022). Isso pode explicar a variação do perfil químico de cada óleo investigado no presente trabalho quando comparado aos dados da literatura.

5.2 Fracionamento Cromatográfico do óleo essencial de *Pogostemon cablin*

Devido o OEPC ter apresentado melhores resultados em relação aos demais óleos essenciais testados nos ensaios de atividade antibacteriana, decidiu-se realizar o isolamento de seu constituinte majoritário, o patchoulol. Esse sesquiterpeno tem sido apontado como o principal constituinte que contribui para as diversas propriedades farmacológicas exibidas pelo óleo (Jain; Patel; Desai, 2022), inclusive sendo considerado como componente antibacteriano vital de OEPC (Kemala *et al.*, 2024).

Assim, na presente pesquisa a substância **(1)**, isolado a partir do fracionamento cromatográfico do OEPC, foi obtido com rendimento de aproximadamente de 19,74% (1,38 g). Em 7g do OEPC, submetido ao fracionamento cromatográfico, continha 37,1% de patchoulol (2,58g). No estudo realizado por Kongkathip *et al.* (2009), foi relatado o isolamento do patchoulol, após OEPC ser submetido em coluna cromatográfica de sílica gel a vácuo, utilizando o sistema de eluição hexano/acetato de etila em concentrações crescentes de acetato. Após submeter a fração, resultante da eluição com hexano/acetato de etila 20%, ao processo de recristalização, os autores supracitados obtiveram patchoulol com rendimento de 0,55%.

Wan *et al.* (2021), visando isolar o patchoulol a partir também do OEPC, empregaram a técnica convencional de cromatografia em coluna de sílica gel com o mesmo sistema de eluição adotado por Kongkathip *et al.* (2009), onde a percentagem de acetato de etila foi aumentada de 0 a 5%. Nesse trabalho, a fração, resultante da eluição com hexano/acetato de etila 3%, foi submetida a cristalização, fornecendo patchoulol com 4,16% de rendimento.

Dessa forma, o rendimento de patchoulol obtido no presente estudo foi superior aos rendimentos desse sesquiterpeno encontrados por Kongkathip *et al.* (2009) e Wan *et al.* (2021). Provavelmente esse rendimento superior seja devido ao aumento

gradual de 0,5% de acetato de etila no sistema de eluição, resultando numa melhor separação do patchoulol dos outros constituintes do óleo.

5.3 Identificação Estrutural da substância (1)

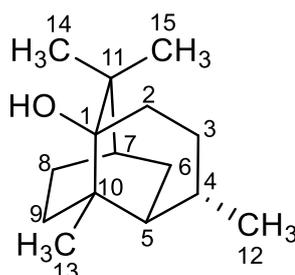
A cromatografia em coluna de sílica-gel de OEPC permitiu o isolamento da substância **(1)** o qual teve sua estrutura elucidada através de dados fornecidos por CG-EM (ANEXO A), espectros de RMN de ^1H (ANEXO B) e ^{13}C (ANEXO C) e da atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio (δ_{H}) e carbono-13 (δ_{C}), envolvendo, inclusive, comparação com valores descritos na literatura (Faraldos *et al.*, 2010; Xu, Lin, Sun, 2017). Segundo Zarbin, Ferreira e Leal (1999), o fato de o equipamento utilizado estar acoplado a um cromatógrafo a gás (CG-EM), faz com que os espectros adquiridos, sejam referentes a compostos isolados.

A pureza da substância **(1)** foi de 100%, conforme determinado por análise por CG. Seu espectro de RMN de ^1H apresentou sinais, com integração para três hidrogênios, em δ 0,86 (s, H-13); 1,08 (s, H-14); 1,09 (s, H-15); e 0,80 (d, $J = 6,5$ Hz, H-12), característicos de hidrogênios metílicos (tabela 04). O referido espectro revelou, ainda, outros sinais para: um hidrogênio de hidroxila em δ_{H} 1,06, três hidrogênios metínicos em δ_{H} 1,97 (m, H-4), 1,45 (dd, $J = 5,6$ e $3,2$ Hz, H-5) e 1,20 (sl, H-7); e dez hidrogênios metilênicos em δ_{H} 1,73 (dd, $J = 12,6$ e $5,6$ Hz, H-2''), 1,04 (sl, H-9') e 1,26 – 1,87 (m, H-3', H-3'', H-6', H-6'', H-8', H-8'' e H-9'') (tabela 04).

O espectro de RMN de ^{13}C de **(1)** apresenta sinais correspondentes a quinze átomos de carbono, incluindo, um carbono oxigenado em δ_{C} 75,60 (C-1); quatro átomos de carbono metílico em δ_{C} 18,54 (C-12), 20,60 (C-13), 24,27 (C-15) e 26,80 (C-14) (tabela 04). O valor de δ_{C} para C-1, indica que esse carbono pode estar ligado a um grupo hidroxila (tabela 04).

A análise dos dados espectrométricos de **(1)**, aliada a comparação dos mesmos com dados descritos literatura (Faraldos *et al.*, 2010; Xu, Lin, Sun, 2017), permitiram determinar que **(1)** é o sesquiterpeno patchoulol (figura 08). Esta proposta foi confirmada pelo sinal observado em seu espectro de massa em m/z 222,2 (18,92%) (ANEXO A), compatível com sua fórmula molecular ($\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$).

Figura 08 – Estrutura química de patchoulol



Fonte: Adaptado de Faraldos *et al.*, (2010).

Tabela 04 – Comparação dos deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C de **(1)** com os da patchoulol descritos na literatura (FARALDOS *et al.*, 2010; XU, LIN, SUN, 2017- CDCl_3), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.

	(1)		Patchoulol		Xu, Lin, Sun, 2017
	δ_{C} (150 MHz)	δ_{H} (600 MHz)	Faraldos <i>et al.</i> , 2010 δ_{C} (125 MHz)	δ_{H} (600 MHz)	
C					
1	75,60	-	75,64	-	-
10	37,64	-	37,63	-	-
11	40,09	-	40,08	-	-
CH					
4	28,08	1,97 (m)	28,07	1,967 (dq, $J = 6,6; 3,0$ Hz)	-
5	43,69	1,45 (dd, $J = 5,6; 3,2$ Hz)	43,66	1,447 (ddd, $J = 8,7; 5,4; 3,0$)	-
7	39,08	1,20 (sl)	39,04	1,195 (sl)	-
CH₂					
2	32,65	1,52 (m) 1,73 (dd, $J = 12,6; 5,6$ Hz)	32,64	1,511 (dd, $J = 5,9; 3,6$ Hz) 1,720 (dd, $J = 12,6; 5,6$ Hz)	-
3	28,58	1,39 (m) 1,49 (m)	28,56	1,373 (dt, $J = 12,3; 5,9$ Hz) 1,481 (t, $J = 5,4$ Hz)	-
6	24,28	1,30 (m) 1,87 (m)	24,29	1,298 (dd, $J = 10,8; 3,6$ Hz) 1,833 (dd, $J = 11,4; 6,6$ Hz)	-
8	24,55	1,26 (m) 1,48 (m)	24,53	1,268 (dt, $J = 10,2; 3,0$ Hz) 1,467 (m)	-
9	28,83	1,04 (sl) 1,84 (m)	28,81	1,043 (t, $J = 13,8$ Hz) 1,821 (dd, $J = 11,4; 7,2$ Hz)	-
CH₃					
12	18,54	0,80 (d, $J = 6,5$ Hz)	18,52	0,796 (d, $J = 6,6$ Hz)	-
13	20,60	0,86 (s)	20,62	0,848 (s)	-
14	26,80	1,08 (s)	26,81	1,070 (s)	-
15	24,27	1,09 (s)	24,27	1,082 (s)	-
OH-1	-	1,06 (sl)	-	-	1,06 (sl)

Fonte: Próprio autor, 2024.

5.4 Atividade Antibacteriana do OEPC, OEMF, OECC e do Patchoulol

As atividades antibacterianas dos óleos essenciais e do patchoulol foram avaliadas frente às bactérias *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* metilicina-resistente, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* em ensaios *in vitro*. Os dados apresentados na tabela 5 resumem os resultados das microdiluições em série realizadas, evidenciando os efeitos bactericidas e

bacteriostáticos dos óleos essenciais de *Pogostemon cablin* (OEPC), *Monarda fistulosa* (OEMF) e *Cuminum cyminum* (OECC), e patchoulol.

Tabela 05 – Determinação das CIM e CBM de OEPC, OEMF, OECC e patchoulol frente a bactérias de interesse clínico ($\mu\text{g/mL}$).

Bactérias	OEPC		OEMF		OECC		Patchoulol	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>S. mutans</i> ATCC 25175	250	500	4000	>8000	8000	>8000	31,25	31,25
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	500	1000	2000	2000	8000	8000	31,25	31,25
<i>S. aureus</i> ATCC 700968	250	500	1000	1000	1000	1000	62,5	125
<i>E. coli</i> ATCC 11303	>8000	>8000	4000	4000	4000	4000	>8000	>8000
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	>8000	>8000	8000	8000	>8000	>8000	>8000	>8000

Fonte: Próprio autor, 2024.

Dentre os três óleos essenciais, destaca-se o OEPC, em que inibe o crescimento bacteriano, apenas de bactérias gram-positivas. Para *S. mutans* e MRSA, apresentou forte atividade com CIM de 250 $\mu\text{g/mL}$, para ambas as bactérias, e apresentou atividade moderada para *S. aureus* com CIM de 500 $\mu\text{g/mL}$. Além disso, o OEPC, é considerado bactericida, uma vez que apresentou CBM para *S. mutans*, *S. aureus* e MRSA de 500, 1000 e 500 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

Devido ao fato do óleo apresentar forte atividade antibacteriana para bactérias gram-positivas, decidiu-se realizar o isolamento cromatográfico de seu fitoconstituente majoritário, o patchoulol, para submetê-lo a ensaios de ação antibacteriana. Dessa forma, o patchoulol obteve CIMs menores que 62,5 $\mu\text{g/mL}$, sendo fortemente ativo contra *S. mutans* e *S. aureus* e apresentando efeito moderado frente a *S. aureus* ATCC 700698. Já com relação a CBM do patchoulol, os valores obtidos foram de 31,25; 31,25 e 62,5 $\mu\text{g/mL}$ para *S. mutans*, *S. aureus* e MRSA, nessa ordem, resultando na inibição do crescimento bacteriano.

O mecanismo de ação antibacteriana do óleo de patchouli tem efeito multi-alvo, o qual depende de seu componente, este óleo inibe principalmente a biossíntese de componentes bacterianos, além disso, ele ocasiona também uma desestruturação da parede bacteriana. O patchoulol, como principal componente, atua na perturbação e rompimento da parede celular bacteriana (Yang *et al.*, 2013). Além disso, o patchoulol inibe a expressão de genes bacterianos e proteínas essenciais para as bactérias (Junren *et al.*, 2021; Zhong *et al.*, 2021).

O óleo de patchouli é utilizado na preservação de alimento, devido o seu potencial antimicrobiano, como na preservação de pepinos, pimentões, peixe arenque e ovos. Além disso, também é relatado que este óleo ajuda a inibir a deterioração oxidativa dos produtos cárneos devido à sua atividade antioxidante e é usado na preservação de carne e produtos cárneos pelo processo de enlatamento (Das, 2016).

Lima Santos *et al.* (2019), conduziram experimento para avaliar a CIM e a CBM do óleo de patchouli, contendo 33,25% de patchoulol, contra *E. coli* ATCC 8789 e *S. aureus* ATCC 25923. Os resultados revelaram que a CIM e a CBM do óleo para *E. coli* foram de 500 µg/mL para ambos os experimentos, enquanto para *S. aureus* encontraram a CIM e CBM de 500 e 1000 µg/mL, respectivamente. É importante notar que no estudo de Lima Santos *et al.* (2019), o óleo foi eficaz ao inibir uma cepa diferente de *E. coli*, diferentemente do presente trabalho, que inibiu apenas bactérias gram-positivas, além disso, o resultado encontrado por Lima Santos *et al.* para o *S. aureus* está de acordo com o desta pesquisa.

De acordo com Wan *et al.* (2021), realizou teste de atividade antibacteriana frente a bactéria gram-positivas e gram-negativas, com o patchoulol. Dentre as bactérias testadas, encontrava-se a *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 e *K. pneumoniae* ATCC 700603, o qual tinham CIM de 1,5; 62,5 e 50 µg/mL. Além disso, eles relataram que o patchoulol apresentou-se mais ativo contra bactérias gram-positivas do que bactérias gram-negativas, corroborando os resultados obtido no presente estudo, no entanto, Wan *et al.* (2021) encontraram a CIM para a mesma cepa de *K. pneumoniae* utilizada no presente estudo.

Nesse trabalho, destaca-se ainda que o patchoulol exibiu poder antibacteriano superior ao do OEPC, óleo essencial do qual esse componente foi isolado. Yang *et al.* (2013) confirmaram que o patchoulol apresentou melhor atividade do que o óleo de *P. cablin* contra *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 2925. A CIM do óleo para *E. coli* foi de 4000 µg/mL, enquanto a CIM do patchoulol foi de 1000 µg/mL. Para *S. aureus*, a CIM do óleo foi de 4500 µg/mL, e a do patchoulol foi de 2000 µg/mL.

Com respeito ao OEMF investigado neste estudo, observou-se que esse óleo causou inibição do crescimento de todas as cepas testadas, com valores de CIM variando de 1000 a 8000 µg/mL, exibindo ação moderada contra *S. aureus* ATCC 700698 e inatividade frente as demais cepas. Os valores de CBM para OEMF apresentaram a mesma variação dos de CIM (tabela 05).

Kim, Marshall e Wei (1995), testando óleos essenciais de diferentes quimiotipos de *Monarda fistulosa* frente a diferentes microrganismos, constataram que o óleo do quimiotipo geraniol, com 90% desse sesquiterpeno, apresentou CIM de 500 µg/mL para *Escherichia coli* ATCC 33985. No entanto, nesta pesquisa, OEMF mostrou-se inativo contra outra cepa dessa bactéria (CIM = 4000 µg/mL), apesar desse óleo essencial possuir percentagem de geraniol similar ao detectado no óleo testado pelos autores supracitados. Recentemente, estudaram o efeito antibacteriano do geraniol em bactérias do gênero *Streptococcus*, obtendo para CIM e CBM com os mesmos valores de 6250 µg/mL, como resultados dos testes contra *S. mtuans* DMST 18777 e *S. sobrinus* DMST 35719 (Sanguansermsri *et al.*, 2024).

Assim, esses dois estudos prévios evidenciam a inatividade do geraniol, componente predominante em OEMF, frente a bactérias também testadas no presente trabalho com o referido óleo, o qual se mostrou igualmente inativo contra as mesmas.

O geraniol atua se ligando aos lipídios e outros componentes das membranas celulares de microrganismos, aumentando a permeabilidade da membrana e enfraquecendo sua função protetora. Isso permite a ligação a locais intracelulares essenciais, resultando na destruição da célula (Chen; Viljoen, 2022).

Em relação a OECC, os achados do presente trabalho revelam que esse óleo inibiu todas as bactérias investigadas, com exceção da *K. pneumoniae*, com valores de CIM variando de 1000 a 8000 µg/mL, sendo considerado moderadamente ativo para *S. aureus* ATCC 700698 e inativo para *S. aureus* ATCC 6538, *S. mutans* ATCC 25175 e *E. coli* ATCC 11303. Quanto as propriedades bactericidas e bacterioestáticas, o óleo foi considerado bacterioestático somente contra *S. mutans* (CBM >8000 µg/mL), pois na maior concentração testada houve o crescimento desta bactéria, já frente a *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 700698 e *E. coli*, ele exibiu efeito bactericida com CBM de 8000, 1000 e 4000 µg/mL, respectivamente (tabela 05).

Resultados similares foram obtidos nos ensaios microbiológicos realizados por Moradi, Davati e Emamifar (2023) com OECC contendo elevadas percentagens de cuminaldeído (27,99%), *o*-cimeno (17,31%), *γ*-terpineno (16,67%) e *β*-pineno (9,35%). Nessa investigação, as CIMs do óleo essencial foram de 3000 µg/mL para *S. aureus* ATCC 29213 e de 6000 µg/mL para *E. coli* ATCC 25922, e os respectivos

CBMs foram de 6000 e 12000 $\mu\text{g/mL}$. Em contrapartida, na investigação conduzida por Hajlaoui *et al.* (2010) com o óleo de cominho, rico em cuminaldeído (39,48%), γ -terpineno (15,21%), α -cimeno (11,82%), β -pineno (11,13%) e 2-careen-10-al (7,93%), constatou-se que este foi fortemente ativo sobre *S. aureus* ATCC 25923 e *E. coli* ATCC 35218, com baixos valores de CIM (78 $\mu\text{g/mL}$) e CBM (625 $\mu\text{g/mL}$) para ambas as cepas.

O efeito antimicrobiano de OECC pode ser atribuída possivelmente a seus componentes mais abundantes, inclusive cuminaldeído, γ -terpineno e β -pineno (Moradi; Davati; Emamifar, 2023).

Cuminaldeído e o óleo volátil de cominho são capazes de inibir a bomba de efluxo LmrS, responsável por porcionar a *S. aureus* resistência a agentes antimicrobianos. Possuem, ainda, ação anti-quorum sensing, ou seja, bloqueiam a comunicação química entre as bactérias, resultando na inibição da formação de biofilme, patogenicidade, produção de toxinas e motilidade celular. Além disso, devido a sua natureza hidrofóbica, esses produtos naturais podem causar ruptura da membrana celular (Singh *et al.*, 2021).

De acordo com Moradi, Davati e Emamifar (2023), os pinenos podem inibir a ação da esterase e da fosfolipase dos microrganismos. Essas enzimas são fundamentais na patogenicidade de microrganismos e ajudam na fixação aos tecidos do hospedeiro e na degeneração da membrana da célula hospedeira (Oyardi *et al.*, 2023).

Outro aspecto a destacar quanto ao potencial antibacteriano dos óleos essenciais investigados neste estudo, é que as bactérias gram-negativas demonstraram maior resistência aos óleos em comparação as gram-positivas (tabela 05). Provavelmente isso se deve ao fato de que as bactérias Gram-positivas possuem uma camada espessa de peptidoglicano ligado a outras moléculas hidrofóbicas, como proteínas e ácido teicóico. Assim, essa camada hidrofóbica que envolve a célula pode favorecer a entrada de constituintes hidrofóbicos presentes nos óleos essenciais. Já as bactérias Gram-negativas possuem um envelope celular mais complexo, formado por uma membrana externa ligada à camada interna de peptidoglicano através de lipoproteínas. A membrana externa, por conter proteínas e lipopolissacarídeos, restringe a difusão de componentes hidrofóbicos através dela (Angane *et al.*, 2022).

5.5 Ação do OEPC e do Patchoulol em combinação com a AMP, BZP e OXA

Os melhores resultados dos ensaios de microdiluição seriada contra *S. aureus* meticilina-resistente foram obtidos com o OEPC e de seu respectivo componente. A partir disso foi testado estes compostos em combinação com a AMP, BZP e OXA, antimicrobianos de primeira escolha no tratamento de infecções causadas pelo *S. aureus*, para analisar seu efeito sinérgico pelo método Checkerboard. De acordo com os resultados mostrados na tabela 06.

O óleo testado isoladamente apresentou CIM de 250 µg/mL e a AMP, BZP e OXA de 31,25; 31,25; e 1250 µg/mL, respectivamente. Em ensaios combinados com a AMP, o OEPC reduziu sua CIM para 125 µg/mL, enquanto a CIM da AMP permaneceu inalterada em 31,25 µg/mL, indicando um efeito indiferente. Com a BZP, o OEPC apresentou uma CIM de 125 µg/mL, enquanto a CIM da BZP diminuiu para 15,63 µg/mL, demonstrando um efeito aditivo. Por fim, quando combinado com a OXA, o OEPC exibiu uma CIM de 31,25 µg/mL, e a CIM da OXA foi reduzida para 312,5 µg/mL, revelando um efeito sinérgico ($iCIF \leq 0,5$) (tabela 06).

Em relação ao patchoulol, este apresentou uma CIM isolado de 62,5 µg/mL. Quando testadas em combinação com a AMP o patchoulol apresentou CIM de 62,5 µg/mL e a AMP 31,25 µg/mL, apresentando um efeito antagônico. Quando combinado com a BZP, o patchoulol apresentou uma CIM de 3,9 µg/mL, enquanto a CIM da BZP permaneceu em 31,25 µg/mL, indicando um efeito indiferente. E em combinação com a OXA, o patchoulol apresentou uma CIM de 7,81 µg/mL, e a CIM da OXA foi de 312,5 µg/mL, confirmando seu efeito sinérgico ($iCIF \leq 0,5$) (tabela 06).

Tabela 06 – Efeito sinérgico do OEPC e do Patchoulol combinado com os antibióticos AMP, BZP e OXA frente a *S. aureus* ATCC 700968.

Microorganismo	Combinação	CIM (µg/mL)		Redução da Dorga	CIF	iCIF	Interpretação
		Individual	Combinado				
<i>S. aureus</i> ATCC 700968	OEPC	250	125	2x	0,5	1,5	Indiferente
	AMP	31,25	31,25	1X	1		
	OEPC	250	125	2x	0,5	1	Aditivo
	BZP	31,25	15,63	2x	0,5		
	OEPC	250	31,25	8X	0,125	0,375	Sinérgico
	OXA	1250	312,5	4X	0,25		
	Patchoulol	62,5	62,5	1x	1	2	Antagônico
	AMP	31,25	31,25	1x	1		

Patchoulol	62,5	3,9	16X	0,0625	1,0625	Indiferente
BZP	31,25	31,25	1x	1		
Patchoulol	62,5	7,81	8X	0,125	0,375	Sinérgico
OXA	1250	312,5	4x	0,25		

Fonte: Próprio autor, 2024.

O sinergismo ocorre quando dois agentes combinados têm um efeito inibitório maior nos organismos-alvo do que a soma de seus efeitos individuais. Em outras palavras, essa interação positiva amplifica a atividade individual dos dois compostos diferentes. Quando o efeito combinado é igual à soma dos efeitos das substâncias individuais, as interações entre os antimicrobianos são consideradas aditivas. Se a combinação produzir um efeito igual ao de qualquer um dos agentes isoladamente, resulta em indiferença. Por outro lado, o antagonismo acontece quando a combinação resulta em um efeito menor do que qualquer um dos agentes isoladamente, ou menor do que a soma dos efeitos individuais dos agentes (Oliveira *et al.*, 2021).

O teste de Checkerboard é um ensaio *in vitro* que visa analisar os efeitos de combinações de agentes antimicrobianos com diferentes mecanismos de ação no crescimento bacteriano. Assim, segundo Kumar *et al.* (2012), a terapia combinada pode ser empregada para ampliar o espectro antimicrobiano, prevenir o surgimento de organismos resistentes, reduzir a toxicidade e alcançar sinergia na atividade antimicrobiana.

Neste estudo, foi constatado o efeito sinérgico entre o OEPC e o patchoulol, combinado com OXA, contra *S. aureus* resistente metilina. Em experimento anterior, outros autores trouxeram a combinação do óleo de patchouli, contendo 26% de patchoulol, combinado com a cefuroxima (CEF), o moxifloxacino (MOX) e a claritromicina (CLA), contra as bactérias *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 8739. Para *S. aureus* encontraram o iCIF de 1 para combinações do óleo com a CEF e CLA, sendo considerado aditivo, e para o MOX, possui iCIF de 1,25, descrevendo resultado indiferente. E para *E. coli*, a CEF e a CLA também foram consideradas aditivas, apresentando iCIF de 1 e 0,75, respectivamente e o MOX foi considerado indiferente, com iCIF de 1,25 (Beşirik; Göger, 2023). Dessa forma, os resultados encontrados no presente estudo foram mais eficazes, uma vez que apresentou efeito sinérgico com iCIF de 0,375, para a combinação da OXA com o OEPC e com o patchoulol.

Szewczuk *et al.* (2023), estudaram a atividade sinérgica do óleo de *P. cablin* em combinação com a gentamicina e enrofloxacino, frente a *S. aureus* ATCC 25923. Estes autores encontraram resultados similares ao do presente estudo, o qual a associação do óleo com gentamicina, apresentou iCIF de 0,282, sendo considerado sinérgico. E para a associação do óleo com a enrofloxacino, relataram iCIF de 2, caracterizando uma associação antagônica. No presente estudo, a associação antagônica foi observada na associação do patchoulol com a AMP.

Portanto, neste estudo o efeito sinérgico foi observado somente quando se combinou o OEPC ou patchoulol com o antibiótico OXA. Até onde se sabe, este é o primeiro relato sobre a avaliação da ação sinérgica de combinações do referido óleo com AMP, BZP e OXA, e o único estudo que investigou o potencial sinérgico do patchoulol combinado com fármacos antimicrobianos.

Além disso, a toxicidade do óleo de patchouli e do patchoulol, foram determinadas respectivamente por Lima Santos *et al.* (2019) e Nisyak, Rahman e Sutrisno (2013), em que estes autores encontraram a concentração letal para matar metade da população de larvas de *Artemia salina* LEACH (CL₅₀), estes são microcrustáceos utilizados para avaliar a citotoxicidade de compostos, devido a semelhança estrutural com células humana. O óleo utilizado por Lima Santos *et al.* (2019), continha 33,25% de patchoulol, obteve uma CL₅₀ de 24,25 µg/mL, sendo considerado um composto tóxico, pois a CL₅₀ é <100 µg/mL. Já para o patchoulol puro, também é considerado tóxico, uma vez que apresentou CL₅₀ de 73,38 µg/mL.

O óleo de patchouli, possuindo 38,5% de patchoulol, não apresentou citotoxicidade para células leucocitárias de camundongos, na concentração máxima de 90 µg/mL (Silva-Filho *et al.*, 2016). Xie *et al.*, 2016, relata que o patchoulol não apresenta toxicidade para células epiteliais gástricas (GES-1), na concentrações 10-75 µg/mL. Estes dados revelam a baixa toxicidade na utilização desses PN, mas são necessários mais estudo a cerca de suas toxicidades, tanto aguda, como crônica.

6 CONCLUSÃO

É evidente que tanto a cárie quanto as DTA's, são ambos problemas de saúde pública de preocupação a nível mundial. Uma alternativa encontrada é a utilização de produtos naturais derivados de plantas medicinais. Na literatura, é mostrado a gama de atividades que o *P. cablin*, a *M. fistulosa* e o *C. cyminum* apresentam. A partir deste estudo, constatou-se que os óleos essenciais empregados são compostos predominantemente por terpenos, classificados em monoterpenos e sesquiterpenos, sendo o patchoulol representando mais de 30% do OEPC, o geraniol, que constitui cerca de 95% do OEMF e o cuminaldeído, também presente em mais de 50% do OECC.

Mediante o fracionamento cromatográfico do óleo de *P. cablin*, foi possível isolar o patchoulol, obtendo um bom rendimento de 19,74%, equivalente a 1,38g desta substância.

Diante desses óleos e do patchoulol, foi evidenciada uma atividade antibacteriana significativa, principalmente com relação ao OEPC e o patchoulol, o que sugere seu potencial como recurso medicinal no combate a infecções, especialmente contra *S. aureus* e *S. mutans*. Além disso, constatou-se que o patchoulol é um dos principais responsáveis pela atividade antibacteriana de seu respectivo óleo.

E com relação a capacidade sinérgica do OEPC e do patchoulol combinados com antibióticos para aumentar a sensibilidade do *S. aureus* ATCC 700968 à OXA, AMP e BZP. Verificou-se que tanto o óleo quanto o patchoulol apresentaram atividade sinérgica quando combinados com a OXA. A combinação de OEPC com BZP resultou em uma ação aditiva. As combinações de OEPC com AMP e de patchoulol com BZP apresentaram efeitos diferenciados. Já a combinação de patchoulol com AMP mostrou atividade antagônica, indicando um efeito menor do que qualquer um dos agentes isoladamente.

Com base nos resultados obtidos, a aplicação promissora desses produtos para o desenvolvimento de novas alternativas de terapias, tanto natural quanto combinados com antibióticos clínicos, visando o tratamento e a profilaxia de doenças infecciosas. Também merece ênfase a possibilidade da utilização destes produtos naturais como antibacteriano na odontologia e como conservantes pela indústria alimentícia. Além disso, destaca-se o potencial terapêutico desses compostos

naturais, bem como a possibilidade de descoberta de novas atividades para esses produtos naturais.

REFERÊNCIAS

- ABU-ZAID, A. A.; AL-BARTY, A.; MORSYC, K.; HAMDI, H. *In vitro* study of antimicrobial activity of some plant seeds against bacterial strains causing food poisoning diseases. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 82, p. 1-7, set/out. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.256409>.
- ADAMS, R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4.1ª ed. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 2017. 809p.
- ALLAQ, A. A.; SIDIK, N. J.; ABDUL-AZIZ, A.; AHMED, I. A. Cumin (*Cuminum cyminum* L.): A review of its ethnopharmacology, phytochemistry. **Biomedical Research and Therapy**, Shah Alam, v. 7, n. 9, p. 4016-4021, set. 2020. DOI : 10.15419/bmrat.v7i9.634.
- ALÓS, J.-I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global Antibiotic resistance: A global crisis. **Enfermedades Infecciosas e Microbiología Clínica**, Madrid, v. 33, n. 10, p. 692-699, dez. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>.
- ÁLVAREZ-MARTÍNEZ, F. J.; BARRAJÓN-CATALÁN, E.; HERRANZ-LÓPEZ, M.; MICOL, V. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. **Phytomedicine**, Elche, v. 90, p. 1-16, jun/jul. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153626>.
- AL-SNAFI, A. E. The pharmacological activities of *Cuminum cyminum*-a review. **IOSR Journal of Pharmacy**, Gurugram, v. 6, n. 6, p. 46–65, jun. 2016.
- ALVES, D. P.; SANTOS, G. A. B.; MENDES, E. C. B.; MARTINS, C. C.; KOZUSNY-ANDREANI, D. I. Atividade antibacteriana de antissépticos bucais e extratos de plantas sobre *Streptococcus mutans*. **UNIFUNEC Ciências da Saúde e Biológicas**, Santa Fé do Sul, v. 4, n. 7, p. 1–10, jun/nov. 2021. DOI: 10.24980/ucsb.v4i7.4035.
- AMARAL, S. M. B.; ALMEIDA, A. P. F. de; SILVA, F. S. da; SILVA, Y. Y. V.; DAMACENO, M. N. Panorama dos surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil no período de 2009 a 2019. **Revista Científica Multidisciplinar**, Limoeiro do Norte, v. 2, n. 11, p. 1-16, dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.47820/recima21.v2i11.935>.
- ANGANE, M.; SWIFT, S.; HUANG, K.; BUTTS, C. A.; QUEK, S. Y. Essential oils and their major components: an updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry. **Foods**, Basel, v. 11, n. 3, p. 1-26, jan/fev. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11030464>.
- ASHURST, J. V.; DAWSON, A. *Klebsiella Pneumonia*. In: StatPearls. Publicação StatPearls, Treasure Island, FL. 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519004/>, acessado dia 12 de janeiro de 2024.

ATCC. American Type Culture Collection. Disponível em:
<https://www.atcc.org/products/700698>, acessado dia 16 de abril de 2024.

BAIG, S.; LARSEN, A. R.; SIMÕES, P. M.; LAURENT, F.; JOHANNESSEN, T. B.; LILJE, B.; TRISTAN, A.; SCHAUMBURG, F.; EGYIR, B.; CIRKOVIC, I.; NIMMO, G. R.; SPILIOPOULOU, I.; BLANC, D. S.; MERNÉLIO, S.; MOEN, A. E. F.; DAVID, M. Z.; ANDERSEN, P. S.; STEGGER, M. Evolution and population dynamics of clonal complex 152 community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **MSphere**, Washington, D.C., v. 5, n. 4, p. 1-9, jul/ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/msphere.00226-20>.

BANERJEE, P.; EREHMAN, J.; GOHLKE, B.-O.; WILHELM, T.; PREISSNER, R.; DUNKEL, M. Super Natural II—a database of natural products. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 43, n. 1, p. 935–939, jan. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gku1013>.

BARRETO, S. F.; GASPI, F. O. G.; OLIVEIRA, C. F. Estudo químico das principais vias do metabolismo secundário vegetal: uma revisão bibliográfica. **Revista Científica da Fundação Hermínio Ometto**, Araras, v. 8, n. 1, p. 60-72, 2020. DOI: 10.55660/revfho.v8i1.11.

BARRETTO, J. R.; SILVA, L. R. (2006). Intoxicações alimentares. **Divisão de doenças micóticas e bacterianas**. Disponível em: http://www.medicina.ufba.br/educacao_medica/graduacao/dep_pediatria/disc_pediatria/disc_prev_social/roteiros/diarreia/intoxicacoes.pdf, acessado dia 01 de outubro de 2023.

BASAVEGOWDA, N.; BAEK, K.-H. Synergistic Antioxidant and Antibacterial Advantages of Essential Oils for Food Packaging Applications. **Biomolecules**, Basel, v. 11, n. 9, p. 1-18, jun/set. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom11091267>.

BATISTA, T. R. A.; VASCONCELOS, M. G.; VASCONCELOS, R. G. Fisiopatologia da cárie dentária: entendendo o processo cariioso. **Salusvita**, Bauru, v. 39, n. 1, p. 169-187, abr. 2020.

BERNARDES, A. L. B; DIETRICH, L.; FRANÇA, M. M. C. de F. Cárie na primeira infância ou cárie na primeira infância: uma revisão narrativa. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, São José dos Campos, v. 10, n. 14, p. 1-13, jan. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i14.22093>.

BEŞIRIK, N. S.; GÖGER, G. Antimicrobial evaluation of the Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) leaf essential oil combination with standard antimicrobial compounds. **International Journal of Secondary Metabolite**, Afyonkarahisar, v. 10, n. 3, p. 385–393, mai. 2023. DOI: <https://doi.org/10.21448/ijsm.1232606>.

BEZERRA, B. X.; FERNANDES, M. E.; HENSCHER, F. A. N.; MOLINA, L. M.; NAKAIE, D. H.; PETYK, W. S.; MATARAZZO, F.; VELTRINI, V. C.; MORAIS, C. A. H. de. Medidas preventivas e curativas em saúde bucal nos municípios de Mandaguari e de Sarandi em conjunto com a Pastoral da Criança: um relato de

experiência. **Archives of health investigation**, São Paulo, v. 9, n. 4, p. 367-370, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21270/archi.v9i4.4837>

BONTEN, M.; JOHNSON, J. R.; VAN DEN BIGGELAAR, A. H. J.; GEORGALIS, L.; GEURTSSEN, J.; PALACIOS, P. I.; GRAVENSTEIN, S.; VERSTRAETEN, T.; HERMANS, P.; POOLMAN, J. T. Epidemiology of *Escherichia coli* Bacteremia: A Systematic Literature Review. **Clinical Infectious Diseases**, Oxford, v. 72, n. 7, p. 1211–1219, abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa210>.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/fitoterapicos#:~:text=As%20plantas%20medicinais%20s%C3%A3o%20aquelas,forma%20de%20ch%C3%A1s%20e%20infus%C3%B5es,> acessado dia 1 de setembro de 2023.

BRASIL, Ministério da Saúde. Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA). 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/search?SearchableText=Doen%C3%A7as%20transmitidas%20por%20alimentos,> acessado dia 31 de Agosto de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. O quê significa ter saúde?. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-brasil/eu-quero-me-exercitar/noticias/2021/o-que-significa-ter-saude,> acessado dia 20 de outubro de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde-Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 210 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: resultados principais / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 116 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 156 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p.

BUNSE, M.; DANIELS, R.; GRÜNDEMANN, C.; HEILMANN, J.; KAMMERER, D. R.; KEUSGEN, M.; LINDEQUIST, U.; MELZIG, M. F.; MORLOCK, G. E.; SCHULZ, H.; SCHWEIGGERT, R.; SIMON, M.; STINTZING, F. C.; WINK, M. Essential oils as multicomponent mixtures and their potential for human health and well-

being. **Frontiers in Pharmacology**, Lausanne, v. 13, p. 956541, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.956541>.

CAWAHISA, T. C.; FIGUEIRA, C. M.; GOMES, C. F.; BOTELHO, M. P. J. Potencial de crescimento de bactérias cariogênicas em diferentes tipos de leite. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba v. 6, n. 5, p. 23253-23263, mai. 2020. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-033>.

CHAUDHRY, Z.; KHERA, R. A.; HANIF, M. A.; AYUB, M. A.; SUMRRA, S. H. Cumin. **Medicinal Plants of South Asia**, Amsterdã, v. 1, n. 13, p. 165–178. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102659-5.00013-6>.

CHEN, W.; VILJOEN, A. M. Geraniol – A review update. **South African Journal of Botany**, Johannesburg, v. 150, p. 1205-1219, nov. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.09.012>.

CHEN, X.; DALIRI, E.B.-M.; KIM, N.; KIM, J.-R.; YOO, D.; OH, D.-H. Microbial Etiology and Prevention of Dental Caries: Exploiting Natural Products to Inhibit Cariogenic Biofilms. **Pathogens**, Basel, v. 9, n. 7, p. 1-15, mai/jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens9070569>.

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Patogenicidade e virulência de *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, Basel, v. 12, n. 1, p. 547-569, set/jan. 2021. DOI: [10.1080/21505594.2021.1878688](https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688).

CHOBY, J. E.; HOWARD-ANDERSON, J.; WEISS, D. S. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* – clinical and molecular perspectives. **Journal of Internal Medicine**, Oxford, v. 287, n. 3, p. 283-300, out. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/joim.13007>.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial activity of some essential oils - present status and future perspectives. **Medicines**, Basel, v. 4, n. 3, p. 58-79, ago. 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicines4030058>.

CHUNG, C. A.; WAHYUDI, B. M.; CHELOVNA, C.; SOETANTO, F.; ANGGASTA, G.; ZAFIRA, Q.; CRYSTALIA, A. A Review on the Pharmacological Activity of *Monarda fistulosa* L. **Indonesian Journal of Life Sciences**, Jakarta, v. 4, n. 2, p. 87-107, set. 2022. DOI: <https://doi.org/10.54250/ijls.v4i2.142>.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute (2015) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 25th Informational Supplement. CLSI Document M100-S25, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

COUTINHO, M. G. S.; NEVES, A. M.; BATISTA, A. S. M.; FONTENELLE, R. O. S. Utilização de óleos essenciais na conservação de queijo: revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 75, n. 2, p. 126-141, abr/jun. 2020. DOI: [10.14295/2238-6416.v75i2.777](https://doi.org/10.14295/2238-6416.v75i2.777).

CUNHA S. M. D.; ALVES C. A.; RIBEIRO L. S. M.; MACEDO M. A.; DA SILVA A. L. S.; CUNHA F. N.; DE LIMA B. V. S. L.; SILVA D. F.; LIMA E. O.; DE OLIVEIRA FILHO, A. A. Bioprospecting of the antifungal activity of Patchouli essential oil

(*Pogostemon cablin* Benth) against strains of the genus *Candida*. **Journal of Medicinal Plants Research**, Londres, v. 17, n. 1, p. 1-7, jan. 2023. DOI: <https://doi.org/10.5897/JMPR2022.7257>.

CUTRIM, E. S. M.; TELES, A. M.; MOUCHREK, A. N.; MOUCHREK FILHO, V. E.; EVERTON, G. O. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim). **Revista Virtual de Química**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 60-81, 2019. DOI: 10.21577/1984-6835.20190006.

D'ANGELIS, C. E. M.; DA SILVA, A. N.; BARRETO, N. A. P.; PRINCE, K. A.; BOTELHO, A. C. C.; POLIZELLO, A. C. M.; SPADARO, A. C. C. Atividade Antibacteriana de Frutas do Nordeste Brasileiro sobre Bactéria Cariogênica. **Revista Unimontes Científica**, Montes Claros, v. 22, n. 1, p. 1–10, jun. 2020. DOI: 10.46551/ruc.v22n1a01.

DANTAS, T. N. C.; CABRAL, T. J. O.; NETO, A. D.; MOURA, M. C. P. A. Enrichment of patchoulol extracted from patchouli (***Pogostemon cablin***) oil by molecular distillation using response surface and artificial neural network models. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, Seoul, v. 81, 219-227, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.09.011>.

DAS, K. Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth) Oils. **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**, Londres, v. 1, n. 72, p. 633–639, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00072-9>.

DENAMUR, E.; CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; GORDON, D. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v. 19, p. 37–54, ago. 2020. Doi: <https://www.nature.com/articles/s41579-020-0416-x>.

DIAS, K. J. S. de O.; MIRANDA, G. M.; BESSA, J. R.; ARAÚJO, A. C. J.; FREITAS, P. R.; ALMEIDA, R. S.; PAULO, C. L. R.; NETO, J. B. de A.; COUTINHO, H. D. M.; RIBEIRO-FILHO, J. Terpenes as bacterial efflux pump inhibitors: A systematic review. **Frontiers in Pharmacology**, Lausanne, v. 13, p. 1-12, out. 2022. DOI: 10.3389/fphar.2022.953982

DINDO, M. L.; MODESTO, M.; ROSSI, C.; DI VITO, M.; BURGIO, G.; BARBANTI, L.; MATTARELLI, P. *Monarda fistulosa* hydrolate as antimicrobial agent in artificial media for the *in vitro* rearing of the tachinid parasitoid *Exorista larvarum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Leiden, v. 169, n. 1, p. 79-89, jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/eea.12964>.

EBADA, M. E. Cuminaldehyde: A potential drug candidate. **Journal of Pharmacology and Clinical Research**, Califórnia, v. 2, n. 2, p. 1–4, mar. 2017.

EUCAST. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (Escmid), Terminology relating to methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents, **Clinical Microbiology and Infection**, v. 6, n. 9, p. 503-508, set. 2000.

FARALDOS, J. A.; Wu, S.; Chappell, J.; Coates, R. M. Doubly deuterium-labeled patchouli alcohol from cyclization of singly labeled [2-2H1] farnesyl diphosphate catalyzed by recombinant patchoulol synthase. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, D.C., v. 132, n. 9, p. 2998-3008, fev. 2010. DOI: 10.1021/ja909251r.

FENG, Y.-X.; WANG, Y.; YOU, C.-X.; GUO, S. S.; DU, Y.-S.; DU, S. S. Bioactivities of patchoulol and phloracetophenone from *Pogostemon cablin* essential oil against three insects, **International Journal of Food Properties**, New York, v. 22, n. 1, p. 1365-1374, jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1648508>.

FERNANDES, G. V.; SILVA, A. P.; FERREIRA, A. V. F.; ROCHA, A. P. USO DE ANTIBIÓTICOS EM TRATAMENTOS ODONTOPEDIÁTRICOS. **Facit Business and Technology Journal**, São Paulo, v. 1, n.25, p. 101-112, abr. 2021.

FERNÁNDEZ, S.; MARCÍA, J.; BU, J.; BACA, Y.; CHAVEZ, V.; MONTOYA, H.; VARELA, I.; RUIZ, J.; LAGOS, S.; ORE, F. Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. **Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar**, Quito, v. 5, n. 2, p. 2284-2298, mai. 2021. DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i2.433.

FERRAZ, C. A.; PASTORINHO, M. R.; PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, A.; SOUSA, A. C. Ecotoxicity of plant extracts and essential oils: A review. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 292, jan. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118319>.

FERREIRA, J. C.; DA SILVA, M. M.; DA ROCHA, J. L. C.; SANTA IZABEL, T. D. S. Ação antimicrobiana DO *Allium sativum* L. frente as cepas de *Staphylococcus aureus* E *Escherichia coli*: uma revisão de literatura. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 22, n. 4, p. 50-62, out/dez. 2021.

FERREIRA, L. E. N.; FERREIRA, J. N. R.; MELLO, P. L. Alimentos funcionais na cárie dental. **RECISATEC - Revista Científica Saúde e Tecnologia**, Jundiaí, v. 1, n. 1, p. 1-14, jul. 2021. DOI: <https://doi.org/10.53612/recisatec.v1i1.1>.

FERREIRA, O. O.; CRUZ, J. N.; DE MORAES, Â. A. B.; FRANCO, C. J. P.; LIMA, R. R.; ANJOS, T. O. D.; SIQUEIRA, G. M.; NASCIMENTO, L. D. D.; CASCAES, M. M.; DE OLIVEIRA, M. S.; ANDRADE, E. H. A. Essential Oil of the Plants Growing in the Brazilian Amazon: Chemical Composition, Antioxidants, and Biological Applications. **Molecules**, Basel, v. 27, n. 14, p. 1-29, jul. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27144373>.

FOREZI, L. S.; FERREIRA, P. G.; HÜTHER, C. M.; DA SILVA, F. D. C.; FERREIRAB, V. F. Aqui tem química: parte IV. Terpenos na perfumaria. **Revista Virtual de Química**, São Paulo v. 14, p. 1-20, jul/mar. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20220055>.

GALLO, K.; KEMMLER, E.; GOEDE, A.; BECKER, F.; DUNKEL, M.; PREISSNER, R.; BANERJEE, P. SuperNatural 3.0—a database of natural products and natural product-based derivatives. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 51, n. 1, p. 654–659, jan. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1008>.

GALOVIČOVÁ, L.; BOROTOVÁ, P.; VALKOVÁ, V.; ĎÚRANOVÁ, H.; ŠTEFÁNIKOVÁ, J.; VUKOVIC, N.L.; VUKIC, M.; KAČÁNIOVÁ, M. Biological Activity of *Pogostemon cablin* Essential Oil and Its Potential Use for Food Preservation.

Agronomy, Basel, v. 12, n. 2, p. 387-407, fev. 2022. DOI:

<https://doi.org/10.3390/agronomy12020387>.

GAO, L.; LIU, Y.; KIM, D.; LI, Y.; HWANG, G.; NAHA, P. C.; CORMODE, D. P.; KOO, H. Nanocatalysts promote *Streptococcus mutans* biofilm matrix degradation and enhance bacterial killing to suppress dental caries *in vivo*, **Biomaterials**, Oxford, v. 101, p. 272-284, jan/jun. 2016. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.05.051>.

GARCIA, B. A.; ACOSTA, N. C.; TOMAR, S. L.; ROESCH, L. F. W.; LEMOS, J. A.; MUGAYAR, L. R. F.; ABRANCHES, J. Association of *Candida albicans* and Cbp⁺ *Streptococcus mutans* with early childhood caries recurrence. **Scientific Reports**, Londres, v. 11, n. 10802, p.1-11, mar/mai. 2021. DOI:

<https://doi.org/10.1038/s41598-021-90198-3>.

GHASEMI, G.; FATTAHI, M.; ALIREZALU, A.; GHOSTA, Y. Antioxidant and antifungal activities of a new chemovar of cumin (*Cuminum cyminum* L.). **Food Science and Biotechnology**, Seoul, v. 28, n. 3, p. 669–677, jun. 2019. DOI:

<https://doi.org/10.1007/s10068-018-0506-y>.

GHOSH, M.; SCHEPETKIN, I. A.; ÖZEK, G.; ÖZEK, T.; KHLEBNIKOV, A.I.; DAMRON, D. S.; QUINN, M. T. Essential Oils from *Monarda fistulosa*: Chemical Composition and Activation of Transient Receptor Potential A1 (TRPA1) Channels. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 21, p. 1-19, out. 2020. DOI:

<https://doi.org/10.3390/molecules25214873>.

GIACAMAN, R. A.; MUÑOZ-SANDOVAL, C.; NEUHAUS, K.; FONTANA, M.; CHAŁAS, R. Evidence-based strategies for the minimally invasive treatment of carious lesions: Review of the literature. **Avanços na Medicina Clínica e Experimental**, Talca, v. 27, n. 7, p. 1009-1016, set. 2018. DOI:

<http://dx.doi.org/10.17219/acem/77022>.

GIRALDO-HOYOS, N. Historia de la penicilina: más allá de los héroes, una construcción social. **Iatreia**, Medellín, v. 34, n. 2, p. 172-179, abr/jun. 2021. DOI:

<https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.79>.

GOODARZI, S.; TABATABAEI, M. J.; JAFARI, R. M.; SHEMIRANI, F.; TAVAKOLI, S.; MOFASSERI, M.; TOFIGHI, Z. *Cuminum cyminum* fruits as source of luteolin-7-O-glucoside, potent cytotoxic flavonoid against breast cancer cell lines. **Natural Product Research**, Abingdon, v. 34, n. 11, p. 1602–1606, dez. 2020. DOI:

<https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1519824>.

GRZESZCZUK, M.; WESOŁOWSKA, A.; STEFANIAK, A. Biological value and essential oil composition of two *Monarda* species flowers. **ACTA Scientiarum Polonorum Hortorum Cults**, Lublin, v. 19, n. 4, ago. 2020. DOI:

<https://doi.org/10.24326/asphc.2020.4.10>

GUO, Y.; SONG, G.; SUN, M.; WANG, J.; WANG, Y. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, Lausanne, v. 10, p. 1-11, mar. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00107>.

HAJLAOUI, H.; MIGHRI, H.; NOUMI, E.; SNOUSSI, M.; TRABELSI, N.; KSOURI, R.; BAKHROUF, A. Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. strains. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 48, n. 8-9, p. 2186-2192, ago/set. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.05.044>.

HALUCH, S. M.; SCHELLIN, L. M.; PAN, V. X. X. C.; ALVES, A. L. O.; SANTOS, M. C.; CHEMIN, A. P.; LOPES, V. E.; STAICHOK, C. Prospecting new antimicrobials and bactericides to combat microorganisms of public health interest. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Palmas, v. 3, n. 4, p. 3630-3652, out/dez. 2020. DOI: <https://doi.org/10.34188/bjaerv3n4-069>.

HE, H.; XIE, X.; ZHANG, J.; MO, L.; KANG, X.; ZHANG, Y.; WANG, L.; HU, N.; XIE, L.; PENG, C.; YOU, Z. Patchouli alcohol ameliorates depression-like behaviors through inhibiting NLRP3-mediated neuroinflammation in male stress-exposed mice. **Journal of Affective Disorders**, Amsterdã, v. 326, p. 120-131, jan. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2023.01.065>.

HENZ, S. L.; ARTHUR, R.; COLVARA, B.; SEVERO, R.; FELTEN, V. Atividade antimicrobiana de *Stevia rebaudiana* Bertoni e de adoçantes não calóricos sobre bactérias cariogênicas: estudo *in vitro*. **Revista da Faculdade de Odontologia**, Porto Alegre, v. 23, n. 1, p. 37-41, abr. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5335/rfo.v23i1.7617>.

INS. Instituto Nacional de Salud. (2018). Las enfermedades transmitidas por Alimentos-ETA. Boletín Epidemiológico Semanal: Semana epidemiológica 52 23 al 29 de Diciembre de 2018. 31 pp. Disponível em: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%20ADn%20epidemiol%20B3gic%20semana%2052.pdf>, acessado dia 10 de Agosto de 2023.

JAIN, P. L. B.; PATEL, S. R.; DESAI, M. A. Patchouli oil: an overview on extraction method, composition and biological activities. **Journal of Essential Oil Research**, Londres, v. 34, n. 1, p. 1-11, fev/ago. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2021.1955761>.

JU, J.; CHEN, X.; XIE, Y.; YU, H.; GUO, Y.; CHENG, Y.; QIAN, H.; YAO, W. Application of Essential Oil as a Sustained Release Preparation in Food Packaging. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 92, p. 22-32, ago. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.005>.

JUNREN, C.; XIAOFANG, X.; MENGTING, L.; QIUYUN, X.; GANGMIN, L.; HUIQIONG, Z.; GUANRU, C.; XIN, X.; YANPENG, Y.; FU, P.; CHENG, P. Pharmacological activities and mechanisms of action of *Pogostemon cablin* Benth: a

review. **Chinese Medicine**, Xiamen, v. 16, n. 5, p. 1-20, jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13020-020-00413-y>.

KAČÁNIOVÁ, M.; TERENTJEVA, M.; ŠTEFÁNIKOVÁ, J.; ŽIAROVSKÁ, J.; SAVITSKAYA, T.; GRINSHPAN, D.; KOWALCZEWSKI, P.Ł.; VUKOVIC, N.; TVRDÁ, E. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Selected Essential Oils against *Staphylococcus spp.* Isolated from Human Semen. **Antibiotics**, Basel, v. 9, n. 11, p. 765- 786, out. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110765>.

KALPAVRIKSHA, A. J.; SIDDAIAH, S. B.; BILICHODMATH, S.; PRABHAKARA, S.; RAO, H. H. Comparative Evaluation of Antibacterial Effect of GIC Containing Chlorhexidine and Miswak on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in Early Childhood Caries Children: A PCR Study. **International Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, Mumbai, v. 14, n. 2, p. 229-234, mar/abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.5005%2Fjp-journals-10005-1942>.

KARAGEORGIS, G.; FOLEY, D. J.; LARAIA, L.; BRAKMANN, S.; WALDMANN, H. Pseudo Natural Products—Chemical Evolution of Natural Product Structure. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 60, n. 29, p. 15705 – 15723, jul. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.202016575>.

KARCHED, M; ALI, D; NGO, H. *In vivo* antimicrobial activity of silver diammine fluoride on carious lesions in dentin. **Journal of Oral Science**, Kuwait, v. 61, n. 1, p. 19-24, mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.2334/josnusd.17-0366>.

KEEFOVER-RING, K. The chemical biogeography of a widespread aromatic plant species shows both spatial and temporal variation. **Ecology and Evolution**, Hoboken, v. 12, n. 9, p. 1-19, set. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.9265>.

KEMALA, P.; IDROES, R.; KHAIRAN, K.; RAMLI, M.; TALLEI, T. E.; HELWANI, Z.; RAHMAN, S. A. The Potent Antimicrobial Spectrum of Patchouli: Systematic Review of Its Antifungal, Antibacterial, and Antiviral Properties. **Malacca Pharmaceutics**, Malacca, v. 2, n. 1, p. 10–17, mar. 2024. DOI: <https://doi.org/10.60084/mp.v2i1.156>.

KHAMENEH, B., IRANSHAHY, M., SOHEILI, V.; BAZZAZ, B. S. F. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, Londres, v. 8, n. 118, p. 1-28, jul. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0559-6>.

KIM, J.; MARSHALL, M. R.; WEI, C. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D.C., v. 43, n. 11, p. 2839–2845, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf00059a013>.

KONGKATHIP, N.; SAM-ANG, P.; KONGKATHIP, B.; PANKAEW, Y.; TANASOMBAT, M.; UDOMKUSONSRI, P. Development of patchouli extraction with quality control and isolation of active compounds with antibacterial activity. **Agriculture and Natural Resources**, Bangkok, v. 43, n. 3, p. 519-525, mai. 2009.

KOOHSARI, S.; SHEIKHOLESAMI, M. A.; PARVARDEH, S.; GHAFGHAZI, S.; SAMADI, S.; POUL, Y. K.; POURIRAN, R.; AMIRI, S. Antinociceptive and antineuropathic effects of cuminaldehyde, the major constituent of *Cuminum cyminum* seeds: Possible mechanisms of action. **Journal of Ethnopharmacology**, Pretória, v. 255, p.1-7, jun. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112786>.

KUMAR, S.N.; SIJI, J.V.; NAMBISAN, B.; MOHANDAS, C. Activity and synergistic interactions of stilbenes and antibiotic combinations against bacteria *in vitro*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 28, n. 1, p. 3143-3150, jul. 2012. DOI: [10.1007/s11274-012-1124-0](https://doi.org/10.1007/s11274-012-1124-0).

LARA, A. C.; OLIVEIRA, C. M.; MENDES, V. A.; STOCCO, P.; HEIN, M. M. F.; LISBOA, H. C. F. Avaliação do consumo de produtos naturais por usuários de estratégias de saúde da família do município de Rondonópolis – MT. **Revista Univap**, São José dos Campos, v. 25, n. 47, p. 98–109, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.18066/revistaunivap.v25i47.2071>.

LAWSON, S.K.; SATYAL, P.; SETZER, W.N. The Volatile Phytochemistry of Monarda Species Growing in South Alabama. **Plants**, Basel, v. 10, n. 3, p. 482-495, mai. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10030482>.

LEI, Y.; FU, P.; JUN, X.; CHENG, P. Pharmacological Properties of Geraniol – A Review. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 85, n. 1, p. 48-55, jan. 2019. DOI: [10.1055/a-0750-6907](https://doi.org/10.1055/a-0750-6907).

LEE, H.-S.; LEE, J.; SMOLENSKY, D.; LEE, S.-H. Potential benefits of patchouli alcohol in prevention of human diseases: A mechanistic review. **International Immunopharmacology**, Amsterdã, v. 89, n. 1, p. 1-9, set. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107056>.

LI, Z.; CHEN, Y.; LI, Y.; ZENG, Y.; LI, W.; MA, X.; HUANG, L.; SHEN, Y. Whole-Genome Resequencing Reveals the Diversity of Patchouli Germplasm. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 24, n. 13, p. 1-15, jun. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241310970>.

LIMA SANTOS, L.; BARRETO BRANDÃO, L.; LOPES MARTINS, R.; DE MENEZES RABELO, E.; LOBATO RODRIGUES, A. B.; DA CONCEIÇÃO VIEIRA ARAÚJO, C. M.; FERNANDES SOBRAL, T.; RIBEIRO GALARDO, A. K.; MOREIRA DA SILVA DE AMEIDA, S. S. Evaluation of the Larvicidal Potential of the Essential Oil *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth in the Control of *Aedes aegypti*. **Pharmaceuticals**, Basel, v. 12, n. 53, p. 1-13, fev/abr. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph12020053>.

LIRA, M. H. P.; ANDRADE JÚNIOR, F. P.; MORAES, G. F. Q.; MACENA, G. DA S.; PEREIRA, F. DE O.; LIMA, I. O. Antimicrobial activity of geraniol: an integrative review. **Journal of Essential Oil Research**, Tullahoma, v. 32, n. 3, p. 1–11, abr. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1745697>.

LUCHESI, L. A. **Atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante de óleos essenciais**. Dissertação (Mestrado). 2017. 88 f. Programa De Pós-Graduação Em

Agroecossistemas. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná – Dois Vizinhos, 2017.

MA, J.; XU, Y.; ZHANG, M.; LI, Y. Geraniol ameliorates acute liver failure induced by lipopolysaccharide/D-galactosamine via regulating macrophage polarization and NLRP3 inflammasome activation by PPAR- γ methylation Geraniol alleviates acute liver failure. **Biochemical Pharmacology**, San Diego, v. 210, p. 1-13, abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115467>.

MAASI, G.; ŠTŠEPETOVA, J.; JÕESAAR, M.; OLAK, J.; MÄNDAR, R. Different Patterns of Virulence Genes in *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* Originating from Estonian Toddlers—Mothers Cohort. **Microbiology Research**, Tallinn, v. 13, n. 4, p. 928-936, nov. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/microbiolres13040065>.

MAÇZKA, W.; WIŃSKA, K.; GRABARCZYK, M. One Hundred Faces of Geraniol. **Molecules**, Basel, v. 25, p. 1-16, jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25143303>.

MAHIZAN, N. A.; YANG, S.-K.; MOO, C.-L.; SONG, A. A.-L.; CHONG, C.-M.; CHONG, C.-W.; ABUSHELAIBI, A.; LIM, S.-H. E.; LAI, K.-S. Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. **Molecules**, Basel, v. 24, n. 2631, p. 1-21, jul. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24142631>.

MAHMOUD, A. M.; EL-BAKY, R. M. A.; AHMED, A. B. F.; GAD, G. F. M. Antibacterial activity of essential oils and in combination with some standard antimicrobials against different pathogens isolated from some clinical specimens. **American Journal of Microbiological Research**, Washington, D.C., v. 4, n. 1, p. 16–25, 2016. DOI:10.12691/ajmr-4-1-2.

MAMUR, S. Geraniol, a natural monoterpene, identifications of cytotoxic and genotoxic effects in vitro. **Journal of Essential Oil Research**, Abingdon, v. 34, n. 1, p. 54-64, ago/set. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2021.1974581>.

MASYITA, A.; SARI, R. M.; ASTUTI, A. D.; YASIR, B.; RUMATA, N. R.; EMRAN, T. B.; NAINU, F.; SIMAL-GANDARA, J. Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. **Food chemistry: X**, Oxford, v. 13, p. 1-14, out/jan. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100217>.

MENEZES, M. L. F. V. DE; MACEDO, Y. V. G. DE; FERRAZ, N. M. P.; MATOS, K. DE F.; PEREIRA, R. O.; FONTES, N. M.; BATISTA, M. I. H. DE M.; PAULINO, M. R. A importância do controle do biofilme dentário: uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, Recife, v. 55, n. 55, p. 1-12, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.25248/reas.e3698.2020>.

MERAH, O.; SAYED-AHMAD, B.; TALOU, T.; SAAD, Z.; CERNY, M.; GRIVOT, S.; EVON, P.; HIJAZI, A. Biochemical Composition of Cumin Seeds, and Biorefining

Study. **Biomolecules**, Basel, v. 10, n. 7, p. 1-18, jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10071054>.

MNIF, S.; AIFA, S. Cumin (*Cuminum cyminum* L.) from Traditional Uses to Potential Biomedical Applications. **Chemistry & Biodiversity**, Basel, v. 12, p. 733-742, mai. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201400305>.

MORADI, A.; DAVATI, N.; EMAMIFAR, A. Effects of *Cuminum cyminum* L. essential oil and its nanoemulsion on oxidative stability and microbial growth in mayonnaise during storage. **Food Science & Nutrition**, Hoboken, v. 11, n. 8, p. 4781-4793, mai. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.3457>.

NCBI. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 10955174, Patchouli alcohol. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Patchoulol>, acessado dia 1 de setembro de 2023.

NCBI. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 637566, Geraniol. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Geraniol>, acessado dia 1 de setembro de 2023.

NCBI. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 326, Cuminaldehyde. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cuminaldehyde>, acessado dia 1 de setembro de 2023.

NEVES, A. M.; COSTA, P. S.; COUTINHO, M. G. S.; SOUZA, E. B.; SANTOS, H. S.; SILVA, M. G. V.; FONTENELLE, R. O. S. Caracterização Química e o Potencial Antimicrobiano de Espécies do Gênero *Senna* Mill. (*Fabaceae*). **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 9, n. 6, p. 2506-2538, dez. 2017. DOI: 10.21577/1984-6835.20170149

NISYAK, K.; RAHMAN, M. F.; SUTRISNO S. Synthesis Organonitrogen Compounds from Patchouli Alcohol Through Ritter Reaction with Acetonitrile and Its Toxicity to *Artemia salina* Leach. **Journal of Pure and Applied Chemistry Research**, Palembang, v. 2, n. 1, abr. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.21776/ub.jpacr.2013.002.01.113>.

OLIVEIRA, M.; PEREIRA, K. D. S.; ZAMBERLAM, C. R. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado de antibióticos: uma questão de saúde pública. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, Santos, v. 6, n. 11, p. 183–201, dez. 2020. DOI: doi.org/10.29327/4426668.

OLIVEIRA, V. M. L.; PIMENTEL, K. G. B.; DA SILVA, J. D. O.; DA CUNHA, A. C. V.; DE SOUSA GUIMARÃES, N. E.; FERNANDES, F. H. A. Aplicação do método checkerboard para avaliação de sinergismo antibacteriano em óleos essenciais: Uma Revisão. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, Palmas, v. 17, n. 4, p. 881-907, dez. 2021.

OMS, Organização Mundial de Saúde. 2023. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/foodborne-diseases#tab=tab_2, acessado dia 10 de agosto de 2023.

OMS, Organização Mundial de Saúde. Relatório global da situação da saúde bucal: rumo à cobertura universal de saúde bucal até 2030. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240061484>, acessado em 06 de Agosto de 2023.

ONO, H. K.; HIROSE, S.; NARITA K.; SUGIYAMA, M.; ASANO, K.; HU, D.-L.; NAKANE, A. Histamine release from intestinal mast cells induced by staphylococcal enterotoxin A (SEA) evokes vomiting reflex in common marmoset. **PLoS Pathogens**, San Francisco, v. 15, n. 5, p. 1-20, mai. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007803>.

OURYEMCHI, I.; OUBIHI, A.; TAIBI, M.; ELBOUZIDI, A.; JABER, H.; HAIDA, S.; TARFAOUI, K.; ATFAOUI, K.; CHAABANE, K.; GUERROUJ, B.; BELLAOUCHI, R.; ASEHRAOU, A.; ADDI, M.; BENZAKOUR, A.; OUHSSINE, M. GC-MS Characterization, antioxidant, antimicrobial and insecticidal potential of moroccan *Cuminum cyminum* l. essential oil. **Tropical Journal of Natural Product Research**, Benin, v. 8, n. 2, p. 6108-6114, 2024. DOI: <http://www.doi.org/10.26538/tjnpr/v8i2.8>.

OUYANG, P.; LIU, Y.; WANG, Y.; MO, X.; ZENG, S. Aging and/or tissue specific regulation of patchoulol and pogostone in two *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. Cultivars. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 158, p. 272-283, nov. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppl.12466>.

OYARDI, O.; DEMIR, E. S.; ALKAN, B.; KOMEK, S.; GENÇ, G. E.; AYGUN, G. ; TEKE, L.; TURAN, D.; ERTURAN, Z.; SAVAGE, P. B.; GUZEL, C. B. Phenotypic investigation of virulence factors, susceptibility to ceragenins, and the impact of biofilm formation on drug efficacy in *Candida auris* isolates from Türkiye. **Journal of Fungi**, Basel, v. 9, n. 10, p. 1-10, set/out. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof9101026>.

PANDEY, S. K.; BHANDARI, S.; SARMA, N.; BEGUM, T.; MUNDA, S.; BARUAH, J.; BURUAH, J.; GOGOI, R.; HALDAR, S.; LAL, M. Essential oil compositions, pharmacological importance and agro technological practices of Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.): A review. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, Dehradun, v. 24, n. 6, p. 1212-1226, jan. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1995511>.

PEZZOTTI, G.; OFUJI, S.; IMAMURA, H.; ADACHI, T.; YAMAMOTO, T.; KANAMURA, N.; OHGITANI, E.; MARIN, E.; ZHU, W.; MAZDA, O.; TOGO, A.; KIMURA, S.; IWATA, T.; SHIBA, H.; OUHARA, K.; AOKI, T.; KAWAI, T. *In Situ* Raman Analysis of Biofilm Exopolysaccharides Formed in *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* Commensal Cultures. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 24, n. 7, p. 1-27, fev/abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24076694>.

PIDWILL, G. R.; GIBSON, J. F.; COLE, J.; RENSHAW, S. A.; FOSTER, S. J. The role of macrophages in *Staphylococcus aureus* infection. **Frontiers in immunology**, Lausanne, v. 11, p. 1-30, jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.620339>.

PIROG, T.; KLIUCHKA, I. Synergism of antimicrobial activity of antibiotics with biocides of natural origin. **Biotechnologia Acta**, Kiev, v. 17, n. 1, p. 1-19, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15407/biotech17.01.005>.

RAJPUT, R. P. S.; PARAMAKRISHNAN, N.; GANGADHARAPPA, H. V. Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seed. In: TANWAR, B., GOYAL, A. (Org.) **Oilseeds: Health Attributes and Food Applications**. 1 ed. Singapore: Springer, p. 507-516, 2021.

RAMADAN, G. R. M.; ABDELGALEIL, S. A. M.; SHAWIR, M. S.; EL-BAKARY, A. S.; ZHU, K. Y.; PHILLIPS, T. W. Terpenoids, DEET and short chain fatty acids as toxicants and repellents for *Rhyzopertha dominica* (coleoptera: *Bostrichidae*) and *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: *Ptinidae*). **Journal of Stored Products Research**, Cambridge, v. 87, p. 1-8, mai. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101610>.

REYES-CALDERÓN, A.; GUTIÉRREZ-GARCÍA, C.; URIÓSTEGUI-PENA, A.G.; SRIVASTAVA, A.; AGUILAR-MARCELINO, L.; IQBAL, H.M.N.; AHMED, S.S.S.J.; PAUL, S.; SHARMA, A. Identification of Cumin (*Cuminum cyminum*) MicroRNAs through Deep Sequencing and Their Impact on Plant Secondary Metabolism. **Plants**, Basel, v. 12, n. 9, p. 1-25, abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12091756>.

RIBEIRO, A. S.; RIBEIRO, M. S. V.; BERTOLUCCI, S. K.; BITTENCOURT, W. J.; CARVALHO, A. A. D.; TOSTES, W. N.; ALVES, E.; PINTO, J. E. B. P. Colored shade nets induced changes in growth, anatomy and essential oil of *Pogostemon cablin*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 2, p. 1823-1835, abr/jun. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170299>.

RIBEIRO, B. R. S. C.; SILVA, V. S. D. A.; DE BRITO RIBEIRO, T. T., GUEDES, V. R.; SIQUEIRA, I. B. Atividade conservante de óleos essenciais em alimentos: uma revisão da literatura. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-SERGIPE**, Aracaju, v. 8, n. 1, p. 63-76, mai. 2023.

ROCHA, R. R.; MATOS, M. N. C.; GUERRERO, J. A. P.; CAVALCANTE, R. M. B.; MELO, R. S.; AZEVEDO, Á. M. A.; PEREIRA, A. M. G.; LOPES, P. H. R.; RODRIGUES, T. H. S.; BANDEIRA, P. N.; GOMES, G. A.; CATUNDA JUNIOR, F. E. A.; CARNEIRO-TORRES, D. S.; SILVA, J. R. V.; CARNEIRO, V. A. Comparative study of the chemical composition, antibacterial activity and synergic effects of the essential oils of *Croton tetradenius* baill. And *C. pulegioidorus* baill. Against *Staphylococcus aureus* isolates. **Microbial Pathogenesis**, Amsterdã, v. 156, p. 104934-104942, jan/abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104934>.

ROMO, S. A.; MÉNDEZ, J. M. M.; BRAVO, J. A. C.; MARTÍNEZ, O. H. A. Antisépticos orales, ¿ los estamos utilizando de manera correcta?. **Revista Digital Universitaria**, Cidade do México, v. 21, n. 2p. 1-9, mar/abr. 2020. doi: <http://doi.org/10.22201/codeic.16076079e.2020.v21n2.a6>

ROSHAN, A. B.; DUBEY, N. K.; MOHANA, D. C. Chitosan nanoencapsulation of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. essential oil and its novel preservative effect for enhanced shelf life of stored Maize kernels during storage: Evaluation of its enhanced antifungal, antimycotoxin, antioxidant activities and possible mode of action. **International Journal of Food Science and Technology**, Hoboken, v. 57, p. 2195-2202, ago. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.15289>.

RUSSO, T. A.; MARR, C. M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, D.C., v. 32, n. 3, mai. 2019. DOI: [10.1128/CMR.00001-19](https://doi.org/10.1128/CMR.00001-19).

SABBO, L. C. R.; SABOO, B. M.; GODOI, A. P. T.; CUSTÓDIO, W.; CORREA, C.; GÓES, V. F. F. Enxaguatórios e comercialmente disponíveis podem atuar na experimentação de braquetes de esmalte?. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**, São Paulo, v. 6, n. 10, p. 77994-78006, out. 2020. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n10-287>

SAROWSKA, J.; FUTOMA-KOLOCH, B.; JAMA-KMIECIK, A.; FREJ-MADRZAK, M.; KSIAZCZYK, M.; BUGLA-PLOSKONSKA, G.; CHOROSZY-KROL, I. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. **Gut pathogens**, Freiburg, v. 11, n. 10, p. 1-16, out/jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>.

SANGUANSERMSRI, D.; SANGUANSERMSRI, P.; BUABAN, K.; KAWAREE, R.; WONGKATTIYA, N. Antimicrobial activity and time-kill kinetics of *Boesenbergia rotunda* essential oil and geraniol alcohol against oral bacterial pathogens. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, Bangkok, v. 14, n. 2, p. 215-221, fev. 2024. DOI: <https://dx.doi.org/10.7324/JAPS.2024.154568>.

SHANAIDA, M.; HUDZ, N.; JASICKA-MISIAK, I.; WIECZOREK P. P. Polyphenols and Pharmacological Screening of a *Monarda fistulosa* L. dry Extract Based on a Hydrodistilled Residue By-Product. **Frontiers in Pharmacology**, Lausanne, v. 12, p. 1-10, abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.563436>.

SHAFI, A.; ZAHOOR, I. Metabolomics of medicinal and aromatic plants: goldmines of secondary metabolites for herbal medicine research. **Medicinal and aromatic plants**, Pune, v. 1, p. 261-287, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819590-1.00012-4>.

SILVA, C. H. F.; CASTRO, S. S.; SANTANA, G. S.; MARTINS, L. F. B.; LEITE, A. C. R. M.; DO NASCIMENTO, V. B. Condições bucais e hábitos de higiene oral de adolescentes usuários da estratégia de saúde da família do município de Umirim-CE. **Revista Digital APO**, Umirim, v. 2, n. 2, p. 2-9, set. 2018. DOI: <https://doi.org/10.5935/2526-8155.20180009>.

SILVA, C. R. O.; OLIVEIRA, G. F.; OLIVEIRA, J. A. P. Fitoterápicos: uma alternativa para o tratamento odontológico. **Revista Científica Multidisciplinar**, São Luís, v. 3, n. 6, p. 1-10, jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.47820/recima21.v3i6.1589>.

SILVA, D. C. B. da .; LIMA, H. M. R.; SILVA, F. L. da .; SOUSA, F. das C. A. .; SILVA, W. C. da .; REIS, L. C. de M. .; SOUSA, M. A. A. de .; PIMENTEL, A. de C. C. .; FURTADO, D. R. .; RODRIGUES, A. C. E.; ALVES, A. M. M. .; RODRIGUES, R. P. de S. .; MONTEIRO, A. L. Activity of Red Propolis in the control of bacteria in the oral cavity. **Research, Society and Development**, Brasília, v. 10, n. 14, p. 1-11, out. 2021.

SILVA-FILHO, S. E.; WIIRZLER, L. A. M.; CAVALCANTE, H. A. O.; UCHIDA, N. S.; DE SOUZA SILVA-COMAR, F. M.; CARDIA, G. F. E.; SILVA, E. L.; AGUIAR, R. P.; BERSAN-AMADO, C. A.; CUMAN, R. K. N. Effect of patchouli (*Pogostemon cablin*) essential oil on in vitro and in vivo leukocytes behavior in acute inflammatory response. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Paris, v. 84, p. 1697-1704, dez. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.10.084>.

SILVA, G. C. **Avaliação do potencial antimicrobiano de nanoemulsões à base de compostos de óleos essenciais no controle de espécies de *Xanthomonas* causadoras do cancro cítrico**. 58 f. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso. Curso de Biotecnologia - Universidade Federal De São Carlos, São Carlos, 2020.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia: Do produto natural ao medicamento; Artmed: Porto Alegre, Brasil, 2017.

SINGH, N., YADAV, S. S., KUMAR, S., & NARASHIMAN, B. A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and clinical research of dietary spice *Cuminum cyminum* L. **Phytotherapy Research**, Hoboken, v 35, p. 5007–5030, abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.7133>.

SIRTOLI, D. B.; COMARELLA, L. O papel da vigilância sanitária na prevenção das doenças transmitidas por alimentos (DTA). **Revista Saúde e Desenvolvimento**, São Paulo, v. 12, n. 10, p. 197–209, mai. 2018.

SORA, V. M.; MERONI, G.; MARTINO, P. A.; SOGGIU, A.; BONIZZI, L.; ZECCONI, A. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Virulence Factors and Antibiotic Resistance. **Pathogens**, Basel, v. 10, n. 11, p. 1-25, out. 2021. DIO: <https://doi.org/10.3390/pathogens10111355>.

SORAGNI, L.; BARNABE, A. S.; MELLO, T. R. C. Doenças transmitidas por alimentos e participação da manipulação inadequada para sua ocorrência: uma revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, Macapá, v. 9, n. 2, p. 19-31, abr/jun. 2019. DOI: DOI: 10.18468/estcien.2019v9n2.p19-31.

SRIVASTAVA, S.; LAL, R. K.; SINGH, V. R.; ROUT, P. K.; PADALIA, R. C.; YADAV, A. K.; BAWITLUNG, L.; BHATT, D.; MAURYA, A. K.; PAL, A.; BAWANKULE, D. U.; MISHRA, A.; GUPTA, P.; CHANOTIYA, C. S. Chemical Investigation and Biological Activities of Patchouli (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth) Essential Oil. **Industrial Crops and Products**, Amsterdã, v. 188, nov. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115504>.

STAEDEL, C.; DARFEUILLE, F. MicroRNAs and bacterial infection. **Cellular Microbiology**, Oxford, v. 15, n. 9, p. 1496-1507, set. 2013. Doi: <https://doi.org/10.1111/cmi.12159>.

SWAMY, M. K.; SINNIHAH, U. R. Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.): Botany, agrotechnology and biotechnological aspects, **Industrial Crops and Products**, Amsterdã, v. 87, p. 161-176, set. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.032>.

SZEWCZUK, M.A.; ZYCH, S.; OSTER, N.; KARAKULSKA, J. Activity of Patchouli and Tea Tree Essential Oils against Staphylococci Isolated from Pyoderma in Dogs and Their Synergistic Potential with Gentamicin and Enrofloxacin. **Animals**, Basel, v. 13, n. 8, p. 1-19, fev/abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13081279>.

TANAKA, J. K. **Óleos voláteis como ingredientes na formulação de produtos cosméticos – aspectos técnicos e segurança de uso**. 35 f. 2020. Trabalho de Conclusão do Curso. Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica - Faculdade De Ciências Farmacêuticas, São Paulo.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S. Essential oils: Extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 79, n. 7, p.1231-1249, jul. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12492>.

TRENTIN, D. da S.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J. Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate. **Revista Liberato**, São Paulo, v. 14, n. 22, p. 213–236, out/dez. 2013.

VAN BEEK, T A.; JOULAIN, D. The essential oil of patchouli, *Pogostemon cablin*: A review. **Flavour and Fragrance Journal**, Hoboken, v. 33, n. 1, p. 6-51, out. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/ffj.3418>.

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

VAN VUUREN, S.; HOLL, D. Antimicrobial natural product research: A review from a South African perspective for the years 2009–2016. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdã, v.208, n. 1, p. 236–252, jul. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.07.011>.

VIDAL, B. T. O.; DE SOUZA, D. N.; DOS REIS SOUZA, M.; DE OLIVEIRA FREITAS, F. M. N.; DE SALES FERREIRA, J. C. A importância das boas práticas na prevenção de doenças transmitidas por alimentos (DTAS) em unidades de alimentação e nutrição (UAN). **Brazilian Journal of Development**, Palams, v. 8, n. 5, p. 39320-39333, mai. 2022. DOI:10.34117/bjdv8n5-429

VILLARREAL, J. P. V.; SANTOS, P. R.; SILVA, M. A. M. P.; AZAMBUJA, R. H. M.; GONÇALVES, C. L.; ESCAREÑO, J. J. H.; SANTOS, T. R. B.; PEREIRA, C. M. P.; FREITAG, R. A.; NASCENTE, P. S. Evaluation of phytotherapy alternatives for controlling *Rhipicephalus (Boophilus) microplus in vitro*. **Revista Brasileira de**

Parasitologia Veterinária, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 299–306, jul/set. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612017052>.

WAGNER, H.; BLADT, S. Plant drug analysis - a thin layer chromatography atlas. 2.ed. Berlin: Springer, 1996. 384 p.

WAN, F.; PENG, F.; XIONG, L.; CHEN, J.; PENG, C.; DAI, M. *In vitro* and *In vivo* Antibacterial Activity of Patchouli Alcohol from *Pogostemon cablin*. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, Beijing, v. 27, n. 2, p. 125-130, abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11655-016-2452-y>.

WANG, G.; ZHAO, G.; CHAO, X.; XIE, L.; WANG, H. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Basel, v. 17, n. 17, p. 1-17, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17176278>.

WANNER, J.; BAIL, S.; JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; SCHMIDT, E.; GOCHEV, V.; GIROVA, T.; ATANASOVA, T.; STOYANOVA, A. Chemical composition and antimicrobial activity of cumin oil (*Cuminum cyminum*, *Apiaceae*). **Natural product communications**, New York, v. 5, n. 9, p. 1355-1358, jul. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578X1000500904>.

WU, S.; CHEN, W.; LU, S.; ZHANG, H.; YIN, L. Metabolic Engineering of Shikimic Acid Biosynthesis Pathway for the Production of Shikimic Acid and Its Branched Products in Microorganisms: Advances and Prospects. **Molecules**, Basel, v. 27, n. 15, p. 1-22, jul. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27154779>.

XIE, J.; LIN, Z.; XIAN, Y.; KONG, S.; LAI, Z.; IP, S.; CHEN, H.; GUO, H.; SUE, Z.; YANG, X.; XU, Y.; SU, Z. (-)-Patchouli alcohol protects against Helicobacter pylori urease-induced apoptosis, oxidative stress and inflammatory response in human gastric epithelial cells. **International Immunopharmacology**, Amsterdã, v. 35, p. 43-52, jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.02.022>.

XU, G.-Q.; LIN, G.-Q.; SUN, B.-F. Concise asymmetric total synthesis of (-)-patchouli alcohol. **Organic Chemistry Frontiers**, Beijing, v. 4, n. 10, p. 2031-2033, jun/jul. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7QO00459A>.

YAN, W.; YE, Z.; CAO, S.; YAO, G.; YU, J.; YANG, D.; CHEN, P.; ZHANG, J.; WU, Y. Transcriptome analysis of two *Pogostemon cablin* chemotypes reveals genes related to patchouli alcohol biosynthesis. **PeerJ**, Los Angeles, v. 9, p. 1-33, ago. 2021. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.12025>.

YANG, X.; ZHANG, X.; YANG, S. P.; LIU, W. Q. Evaluation of the antibacterial activity of patchouli oil. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, Tehran, v. 12, n. 3, p. 307-316, 2013.

YE, C.-J.; LI, S.-A.; ZHANG, Y.; LEE, W.-H. Geraniol targets KV1.3 ion channel and exhibits anti-inflammatory activity *in vitro* and *in vivo*. **Fitoterapia**, São Paulo, v. 139, mai/out, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104394>.

ZARBIN, P. H.; FERREIRA, J. T. B.; LEAL, W. S. Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônios de insetos. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 263-268, abr. 1999. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000200018>.

ZHANG, Y.-F.; HUANG, Y.; NI, Y. H.; XU, Z. M. Systematic elucidation of the mechanism of geraniol via network pharmacology. **Drug design, development and therapy**, Auckland, v. 13, p. 1069-1075, set. 2019. DOI: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S189088>.

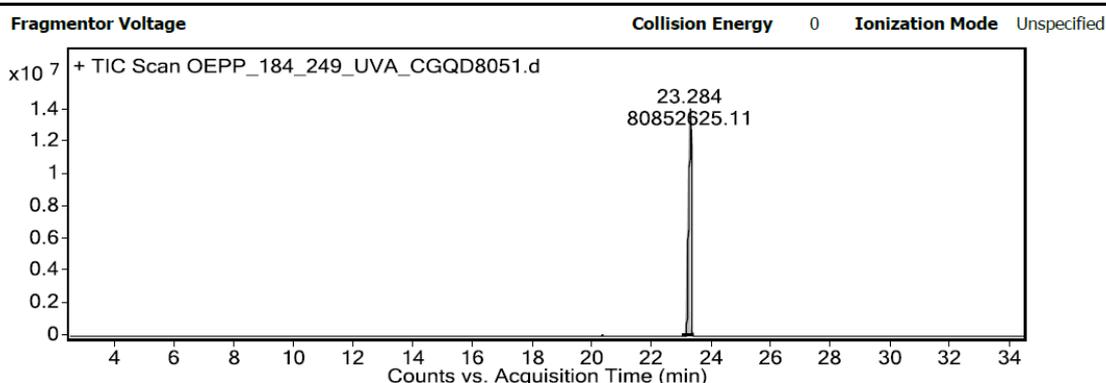
ZHONG, Y.; TANG, L.; DENG, Q.; JING, L.; ZHANG, J.; ZHANG, Y.; YU, F.; OU, Y.; GUO, S.; HUANG, B.; CAO, H.; HUANG, P.; XU, Y. Unraveling the novel effect of patchouli alcohol against the antibiotic resistance of *Helicobacter pylori*. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 12, p. 1-14, jun. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.674560>.

ANEXO A – Cromatograma por CG-EM da substância (1).

Qualitative Analysis Report

Data Filename	OEPP_184_249_UVA_CGQD8051.D	Sample Name	OEPP_184_249_UVA_CGQD8051
Sample Type		Position	2
Instrument Name		User Name	
Acq Method	Oleo_essencial_HP_MS_30m.M	Acquired Time	8/18/2023 12:00:09 PM
IRM Calibration Status	Not Applicable	DA Method	default.m
Comment			
Expected Barcode		Sample Amount	
Dual Inj Vol	1	TuneName	atune.u
TunePath	D:\MassHunter\GCMS\1\5977\	MSFirmwareVersion	6.00.21
Acquisition Time #2	2023-08-18 15:00:09Z	OperatorName	
RunCompletedFlag	True	Acquisition SW Version	MassHunter GC/MS Acquisition B.07.01.1805 12- Mar-2014 Copyright © 1989- 2014 Agilent Technologies, Inc.

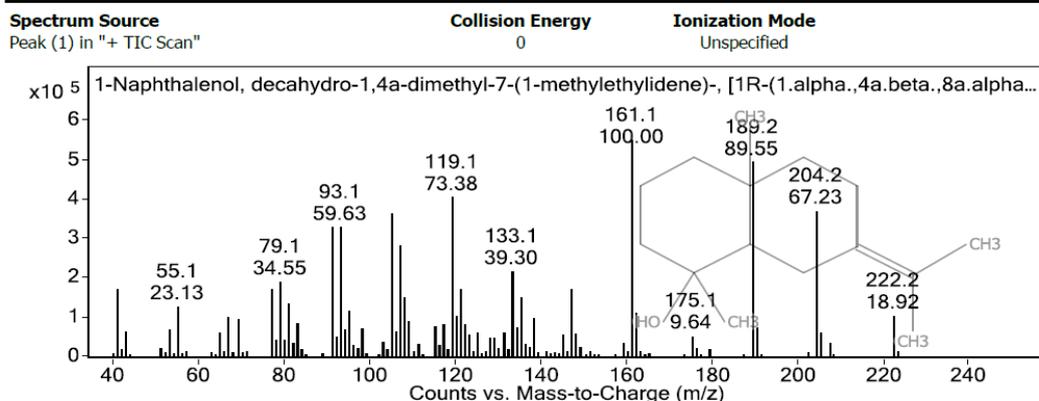
User Chromatograms



Integration Peak List

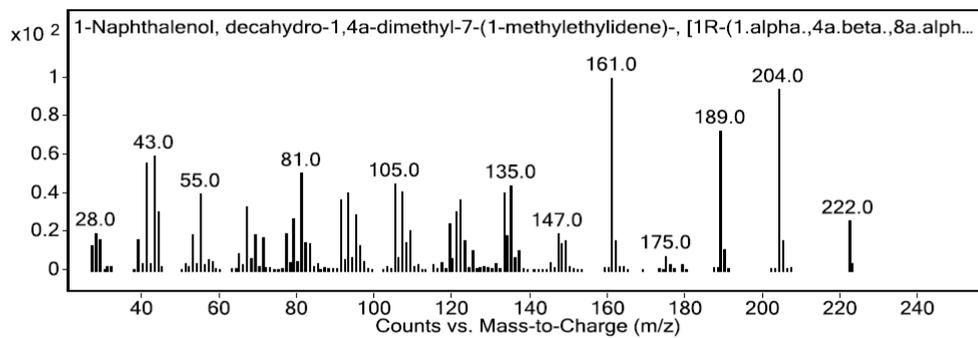
Peak	Start	RT	End	Height	Area	AreaSumPercent
1	23.049	23.284	23.367	14014515.65	80852625.11	100

User Spectra



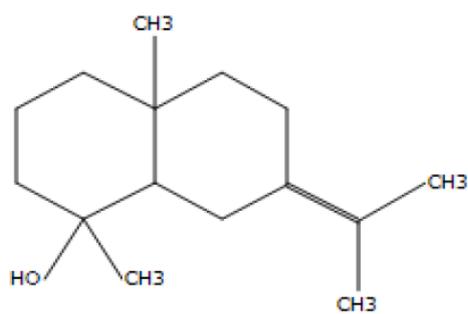
Library Spectrum

Qualitative Analysis Report

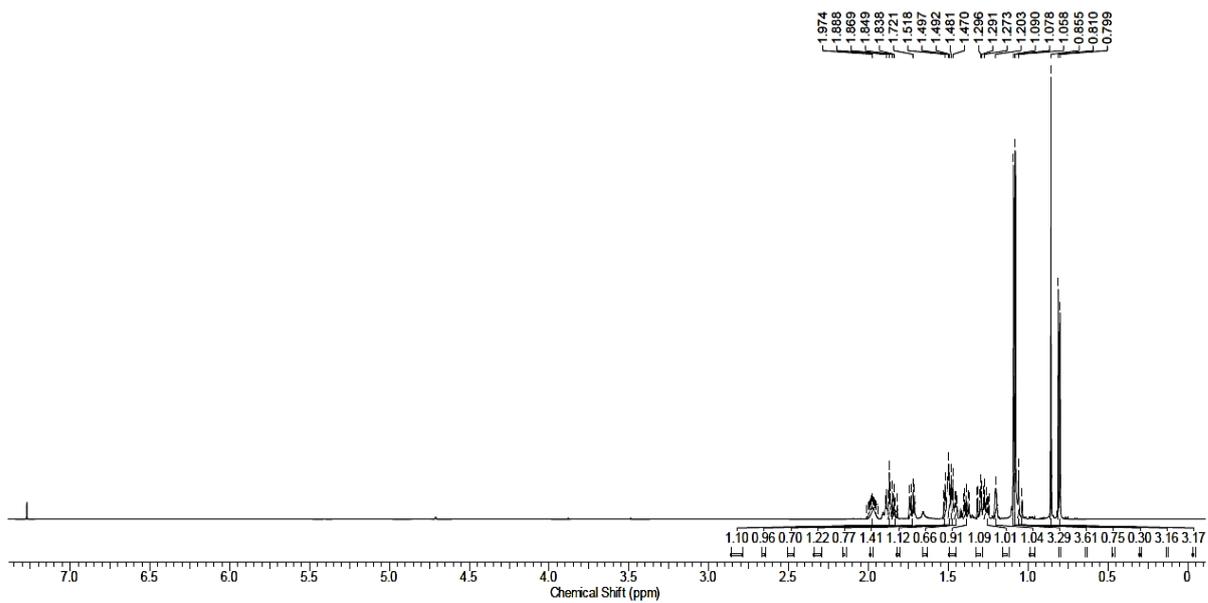


Spectrum Structure

1-Naphthalenol, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethylidene)-, [1R-(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)]



--- End Of Report ---

ANEXO B – Espectro de RMN 1H (600 MHz, CDCl₃) da substância (1).

ANEXO C – Espectro de RMN 13C (150 MHz, CDCl3) da substância (1).