



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA
– REDE BIONORTE

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Ageratum conyzoides* L. SOBRE
MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS *in vitro*

CRISTIAN ALEX AQUINO LIMA

São Luís – MA

2025

CRISTIAN ALEX AQUINO LIMA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Ageratum conyzoides* L. SOBRE
MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS *in vitro***

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo

São Luís – MA

2025

Lima, Cristian Alex Aquino

Atividade antibacteriana de *Ageratum conyzoides* L. sobre microrganismos patogênicos in vitro. / Cristian Alex Aquino Lima. – São Luís, MA, 2025.

73 f

Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE) - Universidade Estadual do Maranhão, 2025.

Orientador: Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo.

CDU: 604.4:615.281.9

Elaborado por Cássia Diniz - CRB 13/910

CRISTIAN ALEX AQUINO LIMA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Ageratum conyzoides* L. SOBRE
MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS *in vitro***

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em 28/08/2025 **BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente
 **FERDINAN ALMEIDA MELO**
Data: 02/09/2025 17:52:00-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof Dr. Ferdinan Almeida Melo – UEMA
Orientador – Presidente da banca

Documento assinado digitalmente
 **FLAVIA DE OLIVEIRA CARDOSO**
Data: 02/09/2025 17:36:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Flávia de Oliveira Cardoso – FIOCRUZ
Examinador 1 – Externo

Documento assinado digitalmente
 **JOSE GOMES PEREIRA**
Data: 03/09/2025 14:51:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. José Gomes Pereira – UEMA
Examinador 2 – Externo

Documento assinado digitalmente
 **LUIS CLAUDIO NASCIMENTO DA SILVA**
Data: 04/09/2025 10:30:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Luís Cláudio Nascimento da Silva – UNICEUMA
Examinador 3 – Interno

Documento assinado digitalmente
 **ODAIR DOS SANTOS MONTEIRO**
Data: 04/09/2025 10:40:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro – UFMA
Examinador 4 – Interno

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, Cristian Alex Aquino Lima, (X) autorizo () não autorizo a publicação da versão final aprovada de minha Tese de Doutorado intitulada “**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Ageratum conyzoides* L. SOBRE MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS *in vitro***” no Portal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Teses da CAPES ou junto à biblioteca da Instituição Certificadora.

São Luís, 27 de outubro de 2025

Documento assinado digitalmente
 **CRISTIAN ALEX AQUINO LIMA**
Data: 27/10/2025 22:14:41-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Cristian Alex Aquino Lima

CPF: 041.012.153-32

RG: 0290444920052

AGRADECIMENTOS

À DEUS pela vida e graças alcançadas. É a Ele que agradeço também por estar aqui hoje, finalizando mais uma etapa da minha vida. Esses anos não foram fáceis, com algumas provas, com a ajuda dele eu pude superar esses obstáculos. Não é, e nunca será fácil nada na vida, mas com a presença de DEUS e com fé Nele, tudo se consegue.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Universidade Federal do Maranhão, vinculado à rede BIONORTE, pela formação proporcionada ao longo do doutoramento.

A FAPEMA, pela concessão da Bolsa de Pesquisa.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo, pela grande nobreza em me receber como seu orientado, pessoa incrível que me ajudou muito nesse processo de Pós-Graduação, orientado, ensinando, fazendo com que buscasse cada vez mais conhecimento, mostrando como podemos ser um bom profissional e uma pessoa melhor.

A turma de 2019 do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia rede BIONORTE, pessoas que tornaram essa jornada mais feliz pelas conversas e convivência ao longo do doutoramento.

LIMA, Cristian Alex Aquino. **Atividade antibacteriana de *Ageratum conyzoides* L. sobre microrganismos patogênicos *in vitro***. 2025. 69 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2022.

RESUMO

O crescente problema da resistência microbiana tem intensificado a busca por novas alternativas terapêuticas a partir de plantas medicinais. *Ageratum conyzoides* L., popularmente conhecida como mentrasto, destaca-se por apresentar compostos bioativos com reconhecidas propriedades antimicrobianas. Este estudo avaliou o potencial antibacteriano do óleo essencial, do extrato bruto e de suas frações frente a microrganismos patogênicos de importância em saúde pública, correlacionando a composição química com a atividade biológica observada. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação, enquanto o extrato bruto foi preparado com solventes adequados e posteriormente fracionado, incluindo a fração acetato de etila. A caracterização química foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), permitindo a identificação de compostos majoritários e minoritários. A atividade antimicrobiana foi avaliada por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM), utilizando cepas bacterianas de referência e comparando os resultados com antibióticos padrão. A citotoxicidade dos extratos e do óleo essencial também foi analisada em macrófagos murinos RAW 264.7, por meio do ensaio de viabilidade celular com MTT. Os resultados demonstraram que o extrato bruto, e principalmente a fração acetato de etila, exibiram efeitos antibacterianos significativos, com valores de CIM compatíveis com atividade relevante. A análise química revelou a presença de metabólitos secundários importantes, como terpenos e flavonoides, possivelmente responsáveis pelos efeitos observados. O óleo essencial apresentou perfil de segurança favorável, sem citotoxicidade significativa mesmo em altas concentrações (até 1000 µg/mL). Conclui-se que *A. conyzoides* L. constitui uma fonte promissora de biomoléculas com atividade antimicrobiana e baixa citotoxicidade. A fração acetato de etila destacou-se como a mais ativa, configurando-se como candidata a estudos futuros de isolamento e desenvolvimento de fitoterápicos.

Palavras-chave: Óleo essencial; Extrato; Zoonose; Concentração inibitória mínima.

LIMA, Cristian Alex Aquino. **Antibacterial activity of *Ageratum conyzoides* L. against pathogenic microorganisms *in vitro***. 2025. 69 f. Thesis (PhD in Biodiversity and Biotechnology). Federal University of Maranhão, São Luís, 2022.

ABSTRACT

The increasing problem of microbial resistance has intensified the search for new therapeutic alternatives from medicinal plants. *Ageratum conyzoides* L., popularly known as mentrasto, is highlighted for its bioactive compounds with recognized antimicrobial properties. This study evaluated the antibacterial potential of the essential oil, crude extract, and fractions of *A. conyzoides* L. against pathogenic microorganisms of public health importance, correlating chemical composition with biological activity. The essential oil was obtained by hydrodistillation, while the crude extract was prepared with solvents and fractionated, including the ethyl acetate fraction. Chemical characterization was performed using gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS), which enabled the identification of major and minor compounds. Antimicrobial activity was assessed by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC), using reference bacterial strains and comparing results with standard antibiotics. Cytotoxicity of the extracts and oil was also evaluated on RAW 264.7 murine macrophages through the MTT assay. The crude extract and especially the ethyl acetate fraction exhibited significant antibacterial effects, with MIC values consistent with relevant antimicrobial activity. GC-MS analysis revealed terpenes and flavonoids among the main metabolites, which likely contribute to the observed effects. The essential oil demonstrated a favorable safety profile, showing no significant cytotoxicity even at high concentrations (up to 1000 µg/mL). In conclusion, *A. conyzoides* L. represents a promising natural source of antimicrobial biomolecules with low cytotoxicity. The ethyl acetate fraction stood out as the most active, making it a strong candidate for further studies aiming at compound isolation and development of phytotherapeutics.

Keywords: Essential oil; Extract; Zoonosis; Minimum inhibitory concentration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- <i>Ageratum conyzoides</i> L.....	11
Figura 2- Estruturas específicas da planta <i>Ageratum conyzoides</i> L.	12
Figura 3- Acetato de Bornila (A) e Cariofileno (B).....	28
Figura 4 - Precoceno I (A), Elemeno (B), Sesquifelandreno (C), Nerolidol (D).....	29
Figura 5- Cromatograma do extrato bruto (A), fração hexânica (B) de <i>Ageratum conyzoides</i> L. 254 nm.....	31
Figura 6 - Cromatograma da fração acetato de etila (A) e fração aquosa (B) de <i>Ageratum conyzoides</i> L. 254 nm.....	32
Figura 7- Ácido feruloilquínico.....	35
Figura 8 - Nevadensina metilada.....	35
Figura 9 - Ácido dicafeoilquínico.....	36
Figura 10 - Ácido cafeoilglucárico.....	36
Figura 11 - Ácido feruloil-málico.....	37
Figura 12 - Cafeoil-hexosídeo.....	38
Figura 13 - Ácido dicafeoilquínico.....	38
Figura 14 – Feruloilglucuronídeo.....	40
Figura 15 - Sirigaresinol.....	41
Figura 16 - Galoilglucuronídeo.....	42
Figura 17 - Sirigaresinol-O-acetato.....	43
Figura 18 - Fragransina A2.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Compostos presentes no óleo essencial de <i>Ageratum conyzoides</i> L.....	28
Tabela 2 - Substâncias propostas encontradas no extrato bruto de <i>A. conyzoides</i> L....	33
Tabela 3 - Substâncias propostas encontradas do extrato bruto de <i>A. conyzoides</i>	34
Tabela 4 - Substâncias propostas encontradas na fração acetato de etila do extrato bruto de <i>A. conyzoides</i> L.....	45
Tabela 5- Concentração Inibitória Mínima (CIM) extrato bruto e frações de <i>Ageratum conyzoides</i> L. frente à <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. enteritidis</i> e <i>B. cereus</i>	51
Tabela 6- Atividade antimicrobiana do óleo essencial de <i>A. conyzoides</i> L.....	54

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1.OBJETIVO GERAL	10
1.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. <i>Ageratum conyzoides</i> L.	11
2.2. Aspectos Botânicos	12
2.3. Aspectos Farmacológicos	13
2.4. Bactérias Patogênicas	14
2.4.1. <i>Listeria</i> spp	14
2.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.4.3. <i>Escherichia coli</i>	17
2.4.4. <i>Salmonella</i> spp	19
2.4.5. <i>Bacillus cereus</i>	20
3.MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1.Microrganismo.....	23
3.2.Material Vegetal	23
3.3.Obtenção do Óleo Essencial.....	23
3.4.Obtenção do Extrato Bruto e Frações	23
3.5.Caracterização do Óleo por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG/EM)	24
3.6.Preparo do Extrato para Análise por SPE (<i>Solid phase extraction</i>).....	24
3.7.Análise em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência do Extrato e Frações de <i>Ageratum conyzoides</i> L.	25
3.8.Identificação dos compostos por FIA-ESI-IT/MS	25
3.9.Atividade antimicrobiana	26
3.10.Citotoxicidade	26
3.11.Ensaio MTT	27
3.12.Análise Estatística.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Caracterização Química do Óleo essencial de <i>A. conyzoides</i> L.	28
4.2. Potencial Antimicrobiano e análise química do Extrato e Frações de <i>Ageratum</i> <i>conyzoides</i> L.....	31
4.3. Potencial Antimicrobiano do Óleo essencial de <i>A. conyzoides</i> L.	54
5. CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
ANEXOS	69

1. INTRODUÇÃO

As plantas apresentam-se como ótimas fontes de substâncias fitoquímicas com grande atividade biológica, além disso, são totalmente biodegradáveis e renováveis. Ao longo dos anos houve um aumento da utilização de plantas medicinais, principalmente pelo surgimento de terapias alternativas e naturais que na maioria das vezes são mais acessíveis a grande parcela da população que não possui recurso financeiro para tratamento de enfermidades (FOGLIO et al., 2006). Os produtos botânicos desenvolvidos a partir de plantas medicinais e plantas silvestres têm demonstrado a presença de compostos eficazes no controle de microrganismos patogênicos (GARG & GREWA, 2015; HIDAYATI & HARJONO, 2017).

Ageratum conyzoides L. pode ser encontrada praticamente em todos os estados brasileiros, principalmente em áreas antropizadas e em lavouras (KISSMANN & GROTH, 1999), sendo utilizada como anti-inflamatório, analgésico, antidiarreico e antimicrobiano (YAMAMOTO et al., 1991; LORENZI, 2008). Produtos derivados (terpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, quinolonas, compostos fenólicos e flavonoides) da planta *Ageratum conyzoides* L. já possuem atividade antimicrobiana e capacidade de inibir a replicação de organismos intracelulares conhecidas na literatura (JOSHI et al., 2016; ROSÁRIO et al., 2019).

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) apresentam-se com uma elevada morbidade e mortalidade em todo o mundo, constituindo um problema de saúde pública e afetando o desenvolvimento econômico dos países (WHO, 2015). As doenças transmitidas por alimentos são geralmente de natureza infecciosa ou tóxica e causadas por bactérias, vírus, parasitas ou substâncias químicas que entram no corpo através de alimentos contaminados ou água. As bactérias, pela sua diversidade e patogenia, constituem o grupo microbiano mais importante associado às DTA. Os alimentos que não são preparados de forma higiênica ou não tem conservação e armazenamento adequados, podem ser os principais responsáveis pelo desenvolvimento de microrganismos e suas toxinas. Os patógenos alimentares mais comuns envolvidos em casos de DTA e que afetam milhões de pessoas por ano, às vezes com resultados graves e fatais, são *Escherichia coli* enterohemorrágica, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Listeria* sp., *Campylobacter* sp., *Vibrio cholerae*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, dentre outros, sendo os alimentos mais envolvidos nestes casos os provenientes de animais, produtos derivados e alimentos altamente manipulados (WHO, 2017).

O controle das contaminações e alterações indesejáveis que ocorrem em alimentos, tradicionalmente envolve a aplicação de conservantes químicos, utilizados com frequência pelas indústrias para garantir a segurança microbiológica dos seus produtos (CALO et al., 2015;

MACWAN et al., 2016). Contudo, seu uso tem sido reconhecido por causar alguns danos à saúde humana, pois muitos destes agentes antimicrobianos químicos estão envolvidos em uma série de sintomas agudos (alergias) (ALVES; ABRANTES, 2003), incluindo alergias respiratórias (GUTIERREZ; BARRY-RYAN; BOURKE, 2009), carcinogenicidade, principalmente no trato gastrointestinal e colorretal (RESENDE et al., 2006; GARÓFOLO, 2004), teratogenicidade e toxicidade, além de déficit de atenção e hiperatividade (POLÔNIO; PERES, 2009). Como consequência, os consumidores procuram substituir os conservantes artificiais por conservantes naturais, com a intenção de buscar alimentos livres desses agentes químicos (FALEIRO, 2011).

Há muitos anos produtos derivados de plantas vêm despertando grande interesse nas pesquisas, por serem potencialmente úteis no controle e diminuição de microrganismos que causam prejuízos nas indústrias de alimentos (SOUZA et al. 2011).

Ocorre uma crescente no desenvolvimento de estudos com a intenção da descoberta de novos agentes antimicrobianos provenientes de plantas para que possam ser utilizados em produtos farmacêuticos, cosméticos e na indústria alimentícia, com o objetivo de descobrir compostos com atividade antimicrobiana comparada à dos tradicionalmente utilizados, entretanto, com menor toxicidade, maior eficácia contra a resistência de microrganismos patogênicos e com menor impacto ambiental (VICTORIA et al., 2012; BONA et al., 2014; SCUR et al. 2016; DANNENBERG et al., 2016; SANTI et al., 2017).

A avaliação das interações entre os compostos que apresentam atividade antimicrobiana vem sendo utilizada nos últimos anos como alternativa na busca por novos medicamentos. O uso dessas combinações promove uma redução da dose mínima necessária para a eficácia dos antimicrobianos, isso é interessante, pois pode reduzir a chance de efeitos colaterais, bem como reduzir o custo dos tratamentos. Pelo fato da planta *Ageratum conyzoides* L. possuir propriedades que demonstram capacidade de inibir a multiplicação de microrganismos intracelulares (JOSHI et al., 2016). O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o efeito antimicrobiano das partes aéreas da planta *Ageratum conyzoides* L. frente à microrganismos patogênicos.

1.1. OBJETIVO GERAL

- Avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial, extrato e frações de *Ageratum conyzoides* L. frente a microrganismos patogênicos *in vitro*.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial, extrato bruto e frações de *Ageratum conyzoides* L. frente a diferentes microrganismos patogênicos *in vitro*.
- Realizar a caracterização química do óleo essencial, extrato bruto e frações de *Ageratum conyzoides* L. por técnicas cromatográficas e espectrométricas.
- Identificar os compostos majoritários e minoritários presentes no óleo essencial, no extrato bruto e nas frações obtidas.
- Correlacionar os compostos químicos identificados com os perfis de atividade antimicrobiana observados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Ageratum conyzoides* L.

Pertence à família Asteraceae, gênero *Ageratum*. É originária das Américas e devido à sua adaptação em diversas condições ambientais é amplamente distribuída em várias regiões de clima tropical e subtropical do mundo (MOMESSO; MOURA; CONSTANTINO, 2009). De acordo com Verdi et al. (2005) essa alta adaptação é decorrente da presença de sementes com pápus plumosos, apêndices, estruturas de aderência e metabólitos secundários. *A. conyzoides* é frequentemente encontrada em lugares desertos, pastagens, terrenos baldios e até mesmo florestas. A planta sobrevive em quase todos os tipos de solo, preferindo, contudo, os argilosos, em locais úmidos, tolerando ambientes relativamente secos (OKUNADE, 2002).

Ageratum conyzoides L. é bastante utilizada como inseticida, purgante, antitérmico, anti-inflamatório, analgésico, anestésico, tratamento de úlceras, diarreia hemorrágica e distúrbios mentais, antiparasitário (NOGUEIRA et al., 2010). Na agricultura é considerada uma erva daninha pois pode interferir no crescimento e estabelecimento de outras culturas (BATISH et al., 2006).

A planta é conhecida popularmente no Brasil como mentrasto, catinga de bode, catinga de Barrão, erva de São João, erva de São José, picão roxo, erva de santa-lúcia, agerato, camará Iapó, camará jape, erva de santa maria, macela de São João e matruço (Figura 1) (LOPES et al., 2010).



Figura 1- *Ageratum conyzoides* L.

Fonte: Próprio autor.

2.2. Aspectos Botânicos

Ageratum conyzoides L. é uma espécie herbácea anual de porte baixo a médio, que pode atingir até 1 metro de altura, e se destaca por sua ampla adaptabilidade a diferentes ambientes, característica que a posiciona como uma planta ruderais altamente competitiva. Apresenta caule ereto ou levemente ramificado, coberto por tricomas glandulares e não glandulares, conferindo-lhe uma aparência pubescente característica (AMARAL et al., 1999; OKUNADE, 2002).

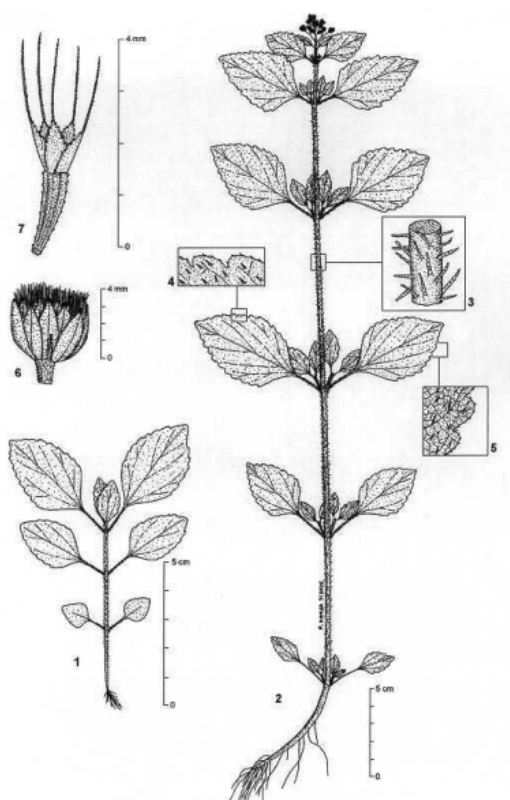


Figura 2- Estruturas específicas da planta *Ageratum conyzoides* L.

Fonte: Adaptado de Flora Brasiliensis, 2012.

As folhas são simples, opostas, sésseis ou com pecíolos curtos, de formato ovalado a elíptico, margens serrilhadas e ápice acuminado. A face adaxial apresenta coloração verde-clara, enquanto a face abaxial é levemente esbranquiçada, sendo ambas recobertas por pelos finos. O comprimento foliar pode variar entre 3,5 a 7,5 cm, com largura proporcionalmente menor (SHIRWAIKAR et al., 2003). A presença de tricomas glandulares nas folhas é apontada como uma das principais fontes de secreção de compostos bioativos voláteis e não voláteis da planta, contribuindo para seu potencial fitoterápico e defensivo (MANAR et al., 2025).

A inflorescência é do tipo capítulo, com numerosas flores hermafroditas, pequenas (aproximadamente 6 mm de diâmetro), agrupadas em cimeiras terminais. As flores variam do branco ao lilás-claro, sendo uma importante característica diagnóstica da espécie. Os frutos são aquênios tricolulares, escuros, com superfície glabra, associados a um pápus plumoso, o que favorece sua dispersão pelo vento (FLORA BRASILIENSIS, 2012).

A raiz é pivotante, com desenvolvimento de ramificações secundárias superficiais que permitem rápida ocupação do solo e absorção eficiente de nutrientes em solos empobrecidos. A faixa de temperatura ideal para seu desenvolvimento está entre 20 °C e 25 °C, mas a planta pode sobreviver em condições térmicas e hídricas adversas, o que a torna comum em áreas perturbadas ou subutilizadas (OKUNADE, 2002).

Do ponto de vista ecológico, *A. conyzoides* demonstra elevado grau de plasticidade fenotípica, sendo considerada uma planta-pioneira, indicadora de distúrbios ambientais e altamente eficiente na colonização de áreas com baixa cobertura vegetal. Essa rusticidade é um dos fatores que a tornam viável para exploração agrônômica, especialmente em sistemas de produção de baixo custo e alta exposição ambiental, como em zonas tropicais com pastagens degradadas ou transição agroecológica (VERDI et al., 2005; BATISH et al., 2006).

A morfologia foliar, associada à presença de estruturas secretoras especializadas, reforça o interesse em sua aplicação farmacológica, visto que a maior concentração de compostos ativos, como precocenos, flavonoides e óleos essenciais, encontra-se justamente nos tecidos vegetativos jovens da parte aérea (KUMAR et al., 2025).

2.3. Aspectos Farmacológicos

Ageratum conyzoides L. é uma planta medicinal amplamente estudada por sua rica composição de metabólitos secundários, os quais conferem propriedades biológicas com potencial terapêutico e aplicações agropecuárias. Os principais grupos químicos identificados em extratos da planta incluem flavonoides (quercetina, canferol), alcaloides, cumarinas, triterpenos, sesquiterpenos, esteróis, taninos, lignanas, cromenos e ácidos fenólicos (KANYANGA et al., 2014; GUTIÉRREZ, 2016). Essas substâncias apresentam, isoladamente ou em sinergia, efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos, antiparasitários e antioxidantes.

A farmacodinâmica dos compostos bioativos da planta tem sido objeto de intensa investigação. Por exemplo, flavonoides como quercetina e canferol demonstram propriedades anti-inflamatórias por inibição da expressão da ciclooxigenase-2 (COX-2), enquanto esteróis vegetais como o estigmasterol atuam na modulação de vias inflamatórias e na integridade da membrana celular bacteriana (ESCOBAR, 2007; SHIRWAIKAR et al., 2003).

Estudos recentes reforçam o potencial farmacológico da espécie frente a microrganismos patogênicos de interesse na saúde pública e na produção animal. Shivam Kumar et al. (2025) demonstraram que extratos obtidos com éter de petróleo apresentaram zonas de inibição expressivas contra cepas de *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* e *S. pneumoniae*, com maior atividade observada na concentração de 400 µg/mL (ZOI até 13,5 mm). Esses resultados indicam efeito bacteriostático ou bactericida dependente da dose e do solvente de extração.

Corroborando esses achados, Owoyemi & Oladunmoye (2025) observaram que extratos etanólicos de folhas de *A. conyzoides* foram eficazes contra bactérias multirresistentes isoladas de amostras clínicas humanas, incluindo linhagens resistentes de *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Esses estudos sugerem ação sobre estruturas bacterianas críticas, como membranas citoplasmáticas e enzimas metabólicas.

A versatilidade farmacológica da planta se estende a outras atividades biológicas: efeitos gastroprotetores, anti-asmáticos, nematocidas e até antimaláricos foram documentados em experimentos com modelos animais (UKWE et al., 2010; XUAN, 2004). O extrato hidroalcoólico de *A. conyzoides* demonstrou efeito anti-inflamatório semelhante ao de fármacos não esteroidais ao inibir seletivamente a COX-2, com eficácia observada em doses de 250 mg/kg em modelos murinos (MOURA et al., 2005).

Adicionalmente, um estudo pioneiro realizado com suínos por Garcia & Carvalho (1999) revelou efeitos fisiológicos do extrato de folhas da planta sobre o sistema cardiovascular, com alterações em parâmetros eletrocardiográficos e indução de atividade analgésica e sedativa. Tais resultados indicam a necessidade de avaliação toxicológica detalhada antes da aplicação em larga escala.

2.4. Bactérias Patogênicas

2.4.1. *Listeria* spp

O gênero *Listeria* pertence ao filo Firmicutes, classe Bacilli e ordem Bacillales. Trata-se de um grupo de bacilos Gram-positivos, catalase-positivos, não esporulados e anaeróbios facultativos. Dentre as 15 espécies reconhecidas, *Listeria monocytogenes* é a mais relevante do ponto de vista clínico e zootécnico, sendo responsável pela grande maioria dos casos de listeriose em humanos e animais (FRANCO E LANDGRAF, 2008; EUZÉBY, 2015).

A capacidade adaptativa de *Listeria spp.* é notável: seu crescimento ocorre em temperaturas de 1 a 45 °C, com ótima multiplicação entre 30 e 37 °C. O pH de crescimento varia de 4,1 a 9,6, e a bactéria suporta baixas atividades de água ($a_w < 0,93$), características que explicam sua persistência em ambientes de processamento de alimentos e em produtos refrigerados (JAY, 2005; SILVA et al., 2007).

Além da tolerância ambiental, *L. monocytogenes* é altamente invasiva. A bactéria penetra células do hospedeiro por meio de proteínas de adesão (internalinas), escapa do fagossomo usando listeriolisina O, replica-se no citoplasma e se movimenta por propulsão de actina, atravessando membranas celulares e invadindo tecidos adjacentes. Esse processo confere à bactéria a capacidade de atravessar a barreira placentária, hematoencefálica e intestinal, tornando-a especialmente perigosa em gestantes e neonatos (VASQUEZ-BOLAND et al., 2001; HOF, 2003).

Epidemiologicamente, a listeriose tem sido associada a alimentos minimamente processados, laticínios, carnes prontas para o consumo, vegetais frescos e frutos do mar. A capacidade de sobreviver à refrigeração e formar biofilmes em superfícies industriais torna *L. monocytogenes* um risco constante em plantas frigoríficas e laticínios (EFSA, 2013; ABEE et al., 1995).

A gravidade da doença varia conforme a condição imunológica do hospedeiro. Em indivíduos saudáveis, pode causar gastroenterite leve e autolimitada. No entanto, em populações de risco, gestantes, imunossuprimidos e idosos, evolui para septicemia, meningite ou aborto espontâneo. A taxa de letalidade da listeriose invasiva pode ultrapassar 20% (WHO, 2017).

No Brasil, embora surtos esporádicos tenham sido registrados, a subnotificação é significativa, devido à ausência da doença na lista nacional de notificação compulsória (BRASIL, 2016). Estudos laboratoriais relatam a presença da bactéria em produtos cárneos e lácteos, destacando a urgência de monitoramento e prevenção na cadeia alimentar (BARANCELLI et al., 2011; CRUZ et al., 2008).

O controle de *Listeria spp.* em ambientes agroindustriais exige estratégias integradas de higienização, rastreabilidade e análise de perigos críticos. No entanto, sua resistência à desinfecção convencional e a formação de biofilmes demonstram a necessidade urgente de alternativas complementares para o controle microbiológico.

2.4.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é um coco Gram-positivo, catalase-positivo, anaeróbio facultativo, que não forma esporos nem cápsula, e apresenta diâmetro entre 0,5 e 1,5 µm, morfológicamente, suas células dispõem-se em agrupamentos irregulares semelhantes a cachos de uva, devido à divisão celular em múltiplos planos perpendiculares (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005). É amplamente distribuído na natureza, colonizando principalmente a pele e mucosas de humanos e animais, incluindo as vias aéreas superiores. A prevalência de portadores humanos varia entre 20% e 40% da população, podendo alcançar 80% em ambientes hospitalares (KLUYTMANS et al., 1997).

A capacidade de colonização de *S. aureus* está relacionada à presença de proteínas de adesão na superfície celular, conhecidas como componentes de superfície microbianos que reconhecem moléculas da matriz adesiva, que se ligam a componentes da matriz extracelular do hospedeiro, como fibrinogênio, fibronectina e colágeno. Após a colonização, o microrganismo pode desenvolver estratégias de evasão imunológica, como a produção de proteínas ligantes de IgG, formação de biofilmes e secreção de toxinas (CORREAL et al., 2013).

Do ponto de vista clínico e epidemiológico, *S. aureus* é considerado um dos principais patógenos oportunistas associados a infecções hospitalares, comunitárias e transmitidas por alimentos. No contexto alimentar, sua relevância se dá principalmente pela capacidade de produzir enterotoxinas termoestáveis, as chamadas enterotoxinas estafilocócicas (SEs), que permanecem ativas mesmo após o processamento térmico e resistem à ação de enzimas digestivas (FRANCO e LANDGRAF, 2008; LE LOIR et al., 2003).

As enterotoxinas estafilocócicas do tipo A (SEA), do tipo B (SEB), do tipo C (SEC), do tipo D (SED) e do tipo E (SEE) foram identificadas como responsáveis pela síndrome de intoxicação alimentar estafilocócica (SFP), caracterizada por início rápido (2–6 horas após a ingestão), vômitos, náuseas, cólicas abdominais e, eventualmente, diarreia. Embora autolimitada, essa condição representa um risco significativo em idosos, crianças e indivíduos imunossuprimidos (BALABAN e RASOOLY, 2000).

Essas enterotoxinas identificadas como SEA, SEB, SEC, SED e SEE — são responsáveis pela síndrome de intoxicação alimentar estafilocócica (SFP), caracterizada por início rápido (2–6 horas após a ingestão), vômitos, náuseas, cólicas abdominais e, eventualmente, diarreia. Embora autolimitada, essa condição representa um risco significativo em idosos, crianças e imunossuprimidos (BALABAN e RASOOLY, 2000).

A contaminação alimentar ocorre principalmente por manipulação inadequada de alimentos prontos, já que *S. aureus* é um contaminante comum em feridas, mucosas nasais e mãos de manipuladores. Alimentos altamente manipulados como carnes fatiadas, embutidos, queijos e produtos de confeitaria são particularmente suscetíveis à contaminação (EFSA, 2010; FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Além disso, a formação de biofilmes em superfícies industriais, equipamentos e utensílios de processamento representa uma via importante de persistência e disseminação. Os biofilmes oferecem proteção contra desinfetantes, dificultando a higienização e contribuindo para a reincidência do microrganismo em ambientes industriais (CORREAL et al., 2013).

Em ambiente hospitalar e veterinário, destaca-se a importância das cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA), que apresentam resistência a múltiplos antimicrobianos devido à presença do gene *mecA*, responsável pela síntese de uma proteína de ligação à penicilina alterada (PBP2a). Essas cepas têm sido isoladas não apenas em humanos, mas também em rebanhos bovinos, suínos e aves, o que reforça seu impacto na produção animal e saúde pública (KÖCK et al., 2013).

Do ponto de vista zootécnico, a bactéria também está associada a casos de mastite clínica e subclínica em bovinos leiteiros, provocando perdas econômicas significativas devido à redução na produção, descarte de leite e aumento nos custos com tratamentos. Nessas situações, a formação de biofilmes intramamários dificulta a eficácia da terapia convencional e favorece a cronicidade da infecção (BARKEMA et al., 2006).

2.4.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli é um bacilo Gram-negativo, não esporulado, anaeróbio facultativo, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. É móvel por flagelos peritricos, possui tamanho médio de 1–3 µm de comprimento por 0,4–0,7 µm de largura e apresenta crescimento ótimo a 37 °C, em meios ricos em nutrientes. Trata-se de um dos principais habitantes do intestino grosso de humanos e animais de sangue quente, desempenhando função simbiótica essencial na digestão e síntese de vitaminas (JAY, 2005; CROXEN et al., 2013).

Apesar de sua ampla presença como microbiota comensal, *E. coli* compreende diversas cepas patogênicas que podem causar desde infecções intestinais autolimitadas até quadros sistêmicos graves, dependendo do hospedeiro e da virulência do patótipo envolvido. Tais cepas patogênicas são classificadas em pelo menos seis grupos principais, com base em seus fatores de virulência, mecanismos de patogenicidade e manifestações clínicas (CROXEN et al., 2013; CVE, 2010):

- **EPEC (Enteropatogênica):** associada à diarreia infantil, destruição de microvilosidades intestinais e formação de lesões de adesão e desaparecimento (A/E).
- **ETEC (Enterotoxigênica):** produtora das toxinas LT e ST, é agente comum de diarreia do viajante.
- **EHEC (Entero-hemorrágica):** inclui a cepa O157:H7, produtora de toxina de Shiga, associada a colite hemorrágica e síndrome hemolítico-urêmica (SHU).
- **EIEC (Enteroinvasiva):** causa disenteria semelhante à da *Shigella*, com invasão do epitélio colônico.
- **EAEC (Enteroagregativa):** promove aderência agregativa ao epitélio intestinal e inflamação crônica.
- **DAEC (Difusamente aderente):** relacionada à diarreia persistente em crianças.

Do ponto de vista epidemiológico, *E. coli* patogênica é um dos agentes mais recorrentes em surtos de doenças transmitidas por alimentos. A contaminação se dá, geralmente, pela ingestão de água ou alimentos contaminados por fezes humanas ou animais. Carne bovina malcozida, leite cru, sucos naturais e hortaliças irrigadas com água contaminada são veículos comuns (BUCHANAN, 1997; FRANCO e LANDGRAF, 2008).

As cepas produtoras de toxina de Shiga (STEC), especialmente a O157:H7, destacam-se pelo seu impacto em saúde pública, sendo associadas a casos de SHU, insuficiência renal aguda e morte, principalmente em crianças e idosos. Essas cepas são altamente infecciosas, com dose infectante estimada em menos de 100 células viáveis (AMANI et al., 2015).

Além das infecções intestinais, *E. coli* também é um importante patógeno oportunista em infecções extraintestinais, sendo causadora de infecções do trato urinário, meningites neonatais, sepse e infecções respiratórias em pacientes hospitalizados (KAPER et al., 2004).

Em produção animal, *E. coli* patogênica está relacionada a doenças entéricas e septicêmicas em bezerros, leitões e aves, acarretando perdas econômicas expressivas. A enterite colibacilar em bezerros recém-nascidos, por exemplo, é causada pela colonização do intestino delgado por cepas ETEC, com produção de enterotoxinas que promovem diarreia secretora, desidratação e, muitas vezes, morte (RADOSTITS et al., 2007).

A resistência antimicrobiana em cepas de *E. coli*, tanto intestinais quanto extraintestinais, tem aumentado consideravelmente nos últimos anos. A presença de genes como bla_{CTX-M}, bla_{NDM}, mcr-1 e qnr têm sido associados à

resistência a cefalosporinas de terceira geração, carbapenêmicos, colistina e quinolonas, o que compromete os protocolos terapêuticos convencionais (CROXEN et al., 2013; LIU et al., 2016).

No contexto agroindustrial, *E. coli* representa também um desafio em termos de biofilmes em superfícies de equipamentos, caixas de transporte, linhas de abate e tanques de refrigeração. Tais biofilmes podem atuar como reservatórios de contaminação cruzada e dificultar a completa erradicação do patógeno, mesmo após processos de higienização intensiva (RYU e BEUCHAT, 2005).

2.4.4. *Salmonella* spp

Salmonella é um gênero de bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos, móveis por flagelos peritríquios, não formadores de esporos, pertencente à família Enterobacteriaceae. É considerado um dos mais importantes patógenos veiculados por alimentos no mundo, tanto em saúde pública quanto em produção animal, devido à sua elevada capacidade de disseminação, resistência ambiental e variedade de sorovares (VELGE et al., 2012; GOMES et al., 2015).

Taxonomicamente, o gênero inclui duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A primeira é a mais relevante do ponto de vista clínico e zootécnico, sendo dividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. A subespécie *enterica* concentra cerca de 99% das infecções humanas e animais, e é subdividida em mais de 2.500 sorovares, identificados com base na estrutura antigênica (CHELSEA e SIMON, 2018; FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Os sorovares mais frequentes em surtos alimentares incluem *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg*, *S. Dublin*, entre outros. Cada um deles pode variar quanto à patogenicidade, tropismo, resistência antimicrobiana e distribuição geográfica. No Brasil, *S. Enteritidis* é historicamente predominante, especialmente em alimentos de origem avícola e derivados de ovos (BRASIL, 2019).

A infecção por *Salmonella* em humanos, denominada salmonelose, ocorre geralmente por via fecal-oral, após a ingestão de alimentos ou água contaminados. Os principais veículos alimentares incluem carnes cruas ou malcozidas (especialmente frango), ovos, leite e seus derivados, além de vegetais irrigados com água contaminada. A bactéria também pode ser transmitida por contato direto com animais infectados ou superfícies contaminadas (CARDOSO e TESSARI, 2013).

Clinicamente, a salmonelose é caracterizada por gastroenterite aguda, com sintomas como febre, cólicas abdominais, diarreia e náuseas, geralmente autolimitada. No entanto, em indivíduos imunodeprimidos, idosos e crianças, a doença pode evoluir para septicemia, artrite

reativa ou quadros sistêmicos com risco de óbito (FRANCO e LANDGRAF, 2008; EFSA, 2015).

Na produção animal, a infecção por *Salmonella* afeta principalmente aves, suínos e bovinos, com manifestações entéricas, septicêmicas ou reprodutivas. Em aves, por exemplo, *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* causam enfermidades altamente patogênicas (pullorose e tifo aviário), com elevada mortalidade. Já em suínos e bovinos, a infecção pode permanecer subclínica, favorecendo o papel de portadores assintomáticos e aumentando o risco de contaminação no abate (ASSIS, 2014).

Do ponto de vista tecnológico, *Salmonella* apresenta elevada tolerância ambiental, sendo capaz de sobreviver em diferentes superfícies e substratos por períodos prolongados, inclusive em biofilmes formados em equipamentos de abate, câmaras frigoríficas, caixas plásticas reutilizáveis e utensílios de corte (OSIMANI et al., 2018). Essa persistência representa um desafio para a indústria alimentícia, exigindo estratégias de limpeza e desinfecção eficientes.

A resistência antimicrobiana em cepas de *Salmonella* tem sido crescente, especialmente em linhagens oriundas de cadeias produtivas intensivas. Sorovares resistentes a quinolonas, cefalosporinas de terceira geração e, mais recentemente, a colistina, considerado um antibiótico de última linha, têm sido relatados em diferentes países, incluindo o Brasil (LOPES et al., 2020). O uso indiscriminado de antimicrobianos como promotores de crescimento na alimentação animal tem sido apontado como um dos principais fatores de seleção de cepas resistentes (NEITZKE et al., 2017).

Segundo dados da Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA), em 2014 foram notificados 2.694 surtos de salmonelose humana nos países da União Europeia, sendo esse o segundo agente mais prevalente em doenças transmitidas por alimentos naquele ano. No Brasil, entre 2009 e 2019, *Salmonella spp.* esteve presente em milhares de surtos alimentares, sendo frequentemente subnotificada por falta de confirmação laboratorial (BRASIL, 2019).

2.4.5. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus é um bacilo Gram-positivo, aeróbio ou anaeróbio facultativo, esporulado, móvel por flagelos peritríquios e pertencente à família Bacillaceae. Encontrado amplamente na natureza, especialmente no solo, poeira, vegetação, sedimentos aquáticos e trato intestinal de alguns insetos e mamíferos, é classificado como um patógeno oportunista envolvido tanto em doenças alimentares quanto em infecções extraintestinais (HARIRAM e LABBÉ, 2015; BATISTA et al., 2018).

A formação de esporos é uma das principais características que conferem resistência ao *B. cereus*. Os esporos possuem múltiplas camadas protetoras e são altamente resistentes a variações de temperatura, pH e a agentes de sanitização, podendo sobreviver por longos períodos em ambientes hostis, mesmo após processos de cocção convencionais. Por isso, sua presença em alimentos não pode ser ignorada, mesmo em produtos submetidos a processamento térmico (NGUYEN e TALLENT, 2019; HEINI et al., 2018).

Do ponto de vista clínico, *B. cereus* é responsável por duas formas distintas de intoxicação alimentar, síndrome diarreica, associada à produção de enterotoxinas (hemolisina BL – Hbl, enterotoxina não hemolítica – Nhe, e citotoxina K – CytK), atuantes no intestino delgado. Os sintomas incluem diarreia aquosa, dor abdominal e, ocasionalmente, náuseas, com início entre 8 e 16 horas após a ingestão e duração geralmente inferior a 24 horas (EHLING-SCHULZ et al., 2004). E a síndrome emética, provocada pela cereulida, uma toxina termoestável e resistente à proteólise, sintetizada principalmente em alimentos ricos em amido, como arroz e massas. Os sintomas incluem náuseas e vômitos intensos, com início rápido (30 minutos a 6 horas após a ingestão) e possível evolução para quadros hepatotóxicos em casos graves (EHLING-SCHULZ et al., 2004; FRICKER et al., 2007).

A cereulida possui propriedades semelhantes às micotoxinas: é altamente resistente ao calor, ao pH gástrico e à ação de enzimas digestivas. Sua ação se dá principalmente em receptores serotoninérgicos do nervo vago, induzindo êmese. Essa toxina tem sido estudada não apenas por seu papel patogênico, mas também por seu potencial citotóxico e capacidade de induzir morte celular programada em culturas in vitro (AGATA et al., 2002).

Na cadeia agroalimentar, *B. cereus* é comumente isolado de alimentos minimamente processados, cereais, leite em pó, especiarias, massas e vegetais. Sua sobrevivência em produtos industrializados está associada à contaminação por esporos no início da cadeia, que germinam quando expostos a condições de armazenamento inadequadas (temperatura ambiente, umidade), possibilitando crescimento e produção de toxinas (OSIMANI et al., 2018).

Dados da União Europeia (EFSA, 2016) revelaram 287 surtos alimentares causados por toxinas de *B. cereus* em 2014, com mais de 3 mil casos notificados. No Brasil, Lentz et al. (2018) relataram que *B. cereus* esteve envolvido em 32,2% dos surtos de intoxicação alimentar registrados no Sul do país, com associação direta à conservação inadequada de alimentos e falhas na cadeia de frio.

No ambiente zootécnico, embora o foco seja menor em comparação à saúde humana, *B. cereus* tem sido relatado como contaminante de rações, silagens e suplementos minerais. Sua presença em dietas mal armazenadas pode implicar riscos indiretos à saúde animal, além de

afetar a estabilidade de aditivos, probióticos e antimicrobianos incorporados às formulações (RICKE et al., 2009).

Outro fator preocupante é a capacidade do *B. cereus* de formar biofilmes em equipamentos agroindustriais, incluindo pasteurizadores, ordenhadeiras, tanques e superfícies de inox. Esses biofilmes, associados à produção de esporos, dificultam a eliminação completa da bactéria, permitindo contaminações recorrentes mesmo após os procedimentos de limpeza e desinfecção (FAGERLUND et al., 2014).

A resistência antimicrobiana de cepas de *B. cereus* tem sido objeto de estudos recentes. Relatos indicam resistência natural a β -lactâmicos, devido à produção de β -lactamases, e resistência cruzada a macrolídeos, lincosamidas e tetraciclinas. Essa condição é especialmente relevante em ambientes onde o uso contínuo de antibióticos como promotores de crescimento pode selecionar cepas com múltiplas resistências (NGUYEN e TALLENT, 2019).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Microrganismo

Foram utilizadas as cepas padrão de *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Bacillus cereus* (ATCC 14579), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), cedidas pelo Laboratório de Microbiologia de Controle de Qualidade de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (PCQA-UFMA), o acesso foi cadastrado sob o nº A3FAD1C no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado.

3.2. Material Vegetal

As amostras de *Ageratum conizoides* L. foram coletadas em Santa Rita-MA, o acesso ao espécime foi cadastrado sob o nº AA834D0 no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado, a exsicata com registro nº 9099 foi confeccionada e depositada no Herbário Mar da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

3.3. Obtenção do Óleo Essencial

O óleo essencial foi extraído de plantas frescas de *Ageratum conyzoides* L., das partes aéreas em março de 2022. Foram utilizados 1.000 g do material vegetal em 3.000 mL de água destilada durante um período de 3 horas para extração do óleo essencial por hidrodestilação no aparelho de cleverger modificado. As partes aéreas foram trituradas e colocadas em balão adicionados de água destilada ultrapura. Após a destilação, o óleo foi removido da superfície da água centrifugado e cuidadosamente separado da água, adicionado sulfato de sódio anidro e mantido em frasco de vidro e armazenado a 4 °C para posterior análise.

3.4. Obtenção do Extrato Bruto e Frações

Foram utilizadas 300 g de partes aéreas secas de *Ageratum conyzoides* L. coletadas nas primeiras horas da manhã de março de 2022 secas à temperatura ambiente por 7 dias, trituradas em turbolizador mecânico. O método de extração escolhido foi o de percolação exaustiva em metanol:água (80:20). A percolação ocorreu à temperatura ambiente e protegida da luz, com o líquido extrator renovado a cada 24 horas, durante 30 dias até o esgotamento total do material vegetal.

Posteriormente o material percolado foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotatório a 45 °C até remoção do solvente. A partir do extrato hidrometanólico das

partes aéreas de *Ageratum conyzoides* L. foram obtidas as frações hexânica, acetato de etila e aquosa, por meio do processo de partição líquido-líquido com solventes de polaridade crescente (hexano e acetato de etila). Uma amostra de 10 g do extrato bruto foi ressuspensa com metanol:água (7:3), em seguida transferida para funil de decantação e particionada três vezes com volume de 200 mL de hexano. Logo após a obtenção da fração hexânica, o restante da amostra foi fracionada também três vezes com igual volume de 200 mL de acetato de etila e o restante do volume considerada a fração aquosa. Ao final o extrato e as frações concentradas foram armazenados a 5 °C.

As análises por cromatografia em camada delgada foram realizadas em uma placa de sílica gel, onde alíquotas de amostras do extrato hidrometanólico da planta foram aplicadas, em consonância com os procedimentos descritos por Harborne (1998) e Wagner e Bladt (1996).

3.5. Caracterização do Óleo por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG/EM)

A amostra de óleo essencial de *A. Conyzoides* L., foi analisada em um Cromatógrafo a Gás (CG-2010) acoplado ao Espectrômetro de Massas (CG-EM QP2010 Plus), ambos da Shimadzu, utilizando uma coluna capilar DB-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm). O fluxo do gás de arraste, Hélio numa velocidade linear de 39.5 cm/sec e fluxo da coluna 1,0 mL/min, razão de Split 1/30. A programação do forno foi de 40 °C por 4 min com rampa de aquecimento de 10 °C/min até 240 °C, permanecendo até 3 min, 260 °C, com rampa de aquecimento de 8 °C/min, permanecendo por 8 min. A temperatura do injetor e da fonte de íons de 250 °C e 200 °C, respectivamente. Tempo de Corrida 37,50 min. A identificação dos compostos foi realizada por normalização das áreas dos picos, utilizando a Biblioteca do Equipamento NIST08 (*National Institute of Standards and Technology*).

3.6. Preparo do Extrato para Análise por SPE (*Solid phase extraction*)

Para o preparo da amostra e composição da fase móvel foram utilizados água ultrapura e metanol grau espectroscópico. O extrato de *A. conyzoides* e frações passaram por um processo de *clean up* em cartuchos C18 de 3 mL/200 mg de adsorvente. Os extratos e frações foram solubilizados em 1 mL de metanol: água 80:20 % (v/v).

Os cartuchos foram previamente acondicionados com 2 mL de metanol, seguido de 2 mL de uma mistura de metanol:água (80:20). As amostras foram adicionadas no cartucho (2 mL do extrato e de cada fração) e eluídas com 1 mL de metanol: água 80:20 % (v/v), ficando os interferentes aderidos no adsorvente.

3.7. Análise em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência do Extrato e Frações de *Ageratum conyzoides* L.

Após *clean up* do extrato e frações obtidos foram analisados na Central Analítica da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) por CLAE (Cromatógrafo líquido de alta eficiência) empregando-se cromatógrafo Shimadzu® (Shimadzu Corp., Quioto, Japão), constituído por um módulo de injeção de solvente com uma bomba binária e detector UV-Vis (SPA-10A). A coluna utilizada foi a Luna 5 µm C18 100 A (150 µm x 4,6 µm). Os solventes de eluição utilizados foram A (água + ácido fórmico a 0,01 %) e B (metanol + ácido fórmico a 0,01 %). As amostras foram eluídas de acordo com o seguinte gradiente exploratório: 20 % a 100 % de B em 60 min e de 100 % a 100 % de 60 a 70 min. O fluxo foi de 1 mL/min, a temperatura da coluna foi de 20 °C. O volume de injeção da amostra foi de 10 µL. Os dados foram recolhidos e processados utilizando o *software* LC Solution (Shimadzu).

3.8. Identificação dos compostos por FIA-ESI-IT/MS

A identificação dos compostos foi realizada no Instituto de Biociências-Unesp, São Vicente por infusão de fluxo direto da amostra em um espectrômetro de massas com analisador do tipo ion trap linear (Thermo Scientific LTQ XL), equipado com uma fonte electrospray (ESI) (Thermo, San Jose, CA, EUA). Utilizando um tubo capilar de aço inoxidável a 280 °C, uma voltagem do spray de 5,00 kV, tensão capilar de -90 V, lentes de tubo de -100 V e um fluxo de 5 µL/min. A análise completa da varredura foi registada na faixa de m/z de 100 -1500 Da. As fragmentações em estádios múltiplos (ESI-MSⁿ) foram realizadas utilizando o método de dissociação induzida por colisão (CID) contra Hélio para ativação de íons. O primeiro evento de varredura foi um espectro de massa completo para adquirir dados sobre íons nessa faixa de m/z . O segundo evento de varredura será um experimento MS/MS utilizando uma varredura de dados dependente nas moléculas $[M-H]^-$ do composto de interesse com energia de colisão de 30% e tempo de ativação de 30 ms. Os íons produzidos serão então submetidos a uma maior fragmentação nas mesmas condições, até não serem observados mais fragmentos. A identificação dos compostos será realizada comparando os dados de massas da literatura e de padrão.

3.9. Atividade antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial, extrato e frações de *Ageratum conyzoides* L. frente a *L. monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* foi realizado pelo método microdiluição conforme metodologia adaptada das normas do “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI) (NCCLS document M7-A7, 2006).

Foram preparadas soluções estoque dos extratos na concentração de 10.000 µg/mL diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) 0,5% e água purificada estéril. Como padrão antimicrobiano foi empregado a gentamicina 1.000 µg/mL e como controle do diluente utilizado foi uma solução de DMSO 0,5%. Os inóculos dos microrganismos foram preparados em caldo Mueller-Hinton e padronizados numa concentração de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL.

Para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos, as soluções de cada extrato e óleo essencial, controle antimicrobiano e do diluente foram adicionadas em placas de plástico estéreis de 96 poços e acrescidos com o inóculo padronizado. Em seguida foram procedidas sucessivas diluições, sendo que foi realizado um controle positivo (inóculo e gentamicina 1.000 µg/mL) e um controle negativo (somente o inóculo).

Dessa forma, utilizou-se as seguintes concentrações para o óleo essencial, extrato e frações: 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,6 µg/mL e 7,8 µg/mL. Realizadas as diluições, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a $37 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Transcorrido o tempo de incubação a CIM foi determinada por meio da aplicação de 16 µL de solução aquosa estéril de rezasurina 0,5% em todos os poços e posterior observação da formação de coloração vermelha (rosada) nos poços, que indica crescimento microbiano devido à inatividade do extrato empregado, sendo este incapaz de inibir o crescimento do microrganismo em estudo, demonstrando não possuir ação bactericida. Os poços que apresentaram alteração na sua coloração e permaneceram com a cor azul, possuem ação bactericida, pois inibiram o crescimento microbiano (GABRIELSON et al., 2002).

3.10. Citotoxicidade

Os ensaios foram conduzidos utilizando a linhagem celular de macrófagos murinos RAW 264.7 (ATCC TIB-71TM), cultivada em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) (Gibco, Gaithersburg, MD, EUA), penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (100 µg/mL) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), mantidas a $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$, em atmosfera com 5% de CO_2 , em frascos de cultura de 75 cm².

3.11. Ensaio MTT

A citotoxicidade do óleo essencial, extrato bruto e frações de *Ageratum conyzoides* L. foi avaliada segundo a metodologia descrita por Teles et al. (2021). Foram preparadas diferentes concentrações do óleo essencial, extrato bruto e frações (1000 a 15,62 µg/mL) e da gentamicina (64 µg/mL) por meio de diluições seriadas (1:2), adicionando-se 100 µL de cada concentração em placas de 96 poços contendo células RAW 264.7 (5×10^5 células/mL). O delineamento experimental incluiu três grupos controle: (i) controle branco (poços com meio de cultura, sem células); (ii) controle não tratado (células expostas a DMSO a 1%); e (iii) controle com fármaco de referência (gentamicina). Após 24 horas de incubação, a viabilidade celular foi determinada pela redução do MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo). O formazan resultante foi quantificado por meio da leitura da absorbância a 570 nm em espectrofotômetro, conforme Riss et al. (2013).

3.12. Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, La Jolla, Califórnia, EUA). Para a comparação da taxa de inibição dos microrganismos e do tempo de tratamento analisado, empregaram-se o teste t de Student e a análise de variância (ANOVA). Diferenças com valores de $P < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização Química do Óleo essencial de *A. conyzoides* L.

Os principais constituintes identificados no óleo essencial foram o precoceno I (79,85%) (Figura 4) e o cariofileno (13,55%) (Figura 3), resultados que estão em conformidade com estudos prévios (Furtado et al., 2005; Martins et al., 2005; Rosário et al., 2023) (Tabela 1).

Tabela 1- Compostos presentes no óleo essencial de *Ageratum conyzoides* L.

Compostos	TR	IR cal.	IR lit.	Área %
Acetato de Bornila	14.680	1290	1287	1,55
Cariofileno	16.653	1422	1417	13,55
Precoceno I	17.256	1467	1461	79,85
γ -Elemeno	17.634	1341	1335	2,88
Beta-sesquifelandreno	17.908	1528	1521	1,37
β -Nerolidol	18.320	1573	1564	0,80
Total identificado (%)				100

TR – Tempo de retenção, IR cal- Índice de retenção calculado, IR literatura – Índice de retenção de acordo com a literatura NIST08.



Figura 3- Acetato de Bornila (A) e Cariofileno (B)

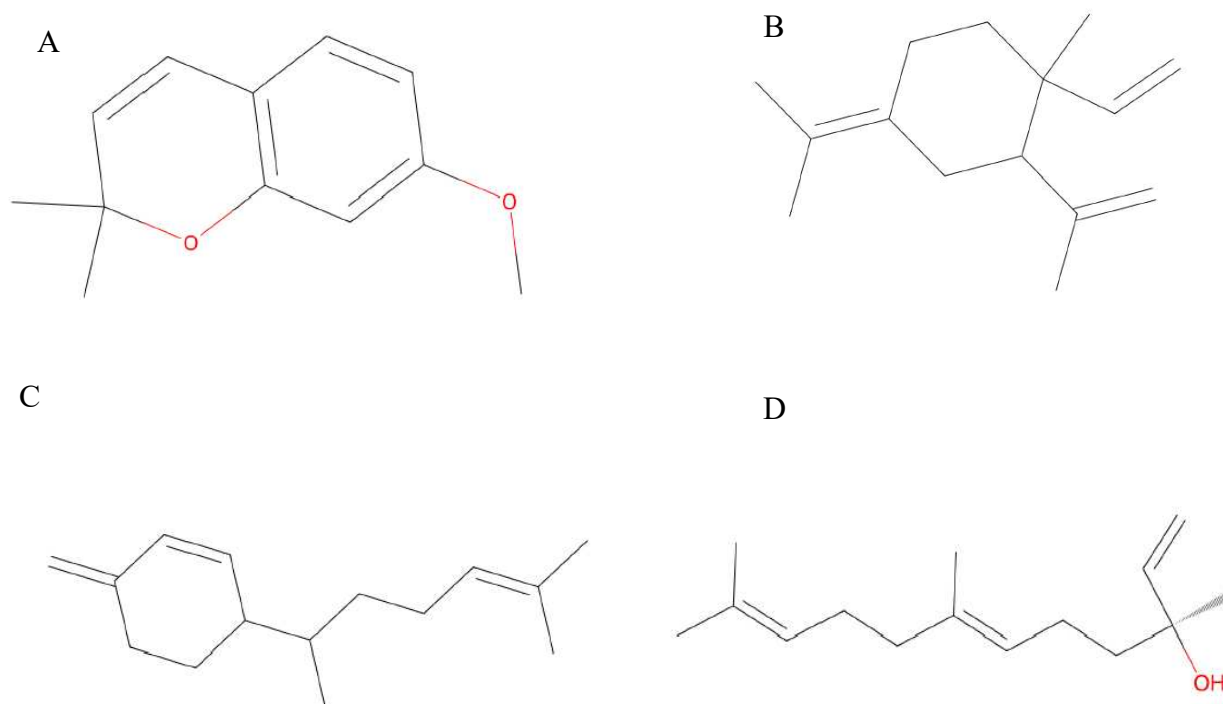


Figura 4 - Precoceno I (A), Elemeno (B), Sesquifelandreno (C), Nerolidol (D).

Entretanto, a composição química do óleo de *A. conyzoides* é altamente variável, tanto em termos quantitativos quanto qualitativos. Essa variabilidade está associada a fatores fisiológicos da planta (variação sazonal e processos metabólicos) e a condições ambientais externas, como temperatura, precipitação, vento, solo, latitude, altitude e época de coleta (NEVES et al., 2021).

É provável que os compostos encontrados no óleo atuem por múltiplos mecanismos antimicrobianos, não se restringindo a uma única via de ação, mas afetando diferentes alvos na célula bacteriana (Tariq et al., 2019). O modelo mais aceito é que os óleos essenciais interagem com a membrana celular bacteriana, alterando processos como transporte de elétrons, gradientes iônicos, translocação de proteínas, fosforilação e outras reações enzimáticas dependentes (ANDRADE-OCHOA et al., 2021).

O rendimento obtido neste estudo (0,7%) difere de valores relatados em outros trabalhos, como Patil et al. (2010), Liu & Liu (2014) e Lima et al. (2014), que encontraram rendimentos de 0,18%, 0,11% e 0,46%, respectivamente. Castro et al. (2004), avaliando cinco diferentes localidades, reportaram variação de 0,48% a 0,70%. Outros autores, como Vieira et al. (2012), Kumar et al. (2016) e Gutiérrez et al. (2021), também confirmam essa oscilação de rendimentos, principalmente em função de clima, insolação, umidade relativa e tipo de solo.

Os compostos encontrados em *A. conyzoides* L. podem agir de diversas maneiras frente aos microrganismos, exemplo disso, temos os terpenos encontrados, como o cariofileno (Figura 3), que podem romper a membrana celular (SARTORI et al., 2005). Seu mecanismo de ação pode estar associado ao caráter lipofílico, pelo acúmulo desses compostos na membrana dos microrganismos e consequente perda de energia pelas células (DUARTE et al., 2011).

Os monoterpenos interferem na integridade e funcionamento da membrana celular, através da mudança de potencial de membrana, perda de material citoplasmático e inibição da cadeia respiratória (GREAY & HAMMER, 2015). A exposição aos terpenos pode ainda interferir na expressão de genes codificadores de fatores de virulência (QIU et al., 2011).

O precoceno I (Figura 4), composto majoritário encontrado em nosso estudo, pertence ao grupo dos cromenos que já apresentaram atividade comprovada contra *Aspergillus parasiticus* (PATIL et al., 2009).

Foi obtido rendimento de 0,7 % do óleo essencial de *A. conyzoides* L., Patil et al. (2010), Liu & Liu (2014) e Lima et al. (2014) encontraram os valores de 0,18 %, 0,11 % e 0,46 % (v/p), respectivamente. Estas diferenças podem estar relacionadas com a metodologia utilizada na extração e o local de coleta. Castro et al. (2004) ao avaliarem o óleo essencial *Ageratum conyzoides* extraídas de cinco localidades diferentes obtiveram teores variando de 0,48 % a 0,70 %. Outros autores como Rana & Blazquez (2003), Nebié et al. (2004) e Vieira et al. (2012) encontraram rendimentos de 0,24 %, 0,75 % e 0,46 % respectivamente. Isso se deve principalmente ao clima, incidência de raios solares, umidade relativa e o tipo de solo diferentes.

Um fator importante que pode determinar a produção do óleo essencial em larga escala é o rendimento, essas variações são justificadas, pois a composição dos óleos essenciais são muito complexas e geralmente englobam vários tipos de compostos. Logo, a padronização das épocas de colheita, da parte da planta coletada e do cultivo sob as mesmas condições ambientais, auxilia na identificação de variedades que apresentam diferenças na sua composição química e concentração. Além disso, fatores como a temperatura, umidade e o solo também podem influenciar, principalmente em espécies que possuem estruturas histológicas de estocagem de óleo essencial na superfície das folhas (SALGADO et al., 2003).

4.2. Potencial Antimicrobiano e análise química do Extrato e Frações de *Ageratum conyzoides* L.

Os cromatogramas obtidos por CLAE-FIA-ESI-MS revelaram uma rica diversidade de metabólitos secundários nas frações hexânica, acetato de etila e aquosa do extrato hidrometanólico de *A. conyzoides* L. Foram identificados flavonoides (rutina, kaempferol-rutinosídeo, nevadensina), lignanas (sirigaresinol e derivados), e ácidos fenólicos (ácido feruloilquínico, dicafeoilquínico, cafeoilglucárico), todos com potencial bioativo.

Estão demonstrados a seguir os perfis cromatográficos do extrato hidrometanólico e frações de *Ageratum conyzoides* L. (Figuras 5 e 6).

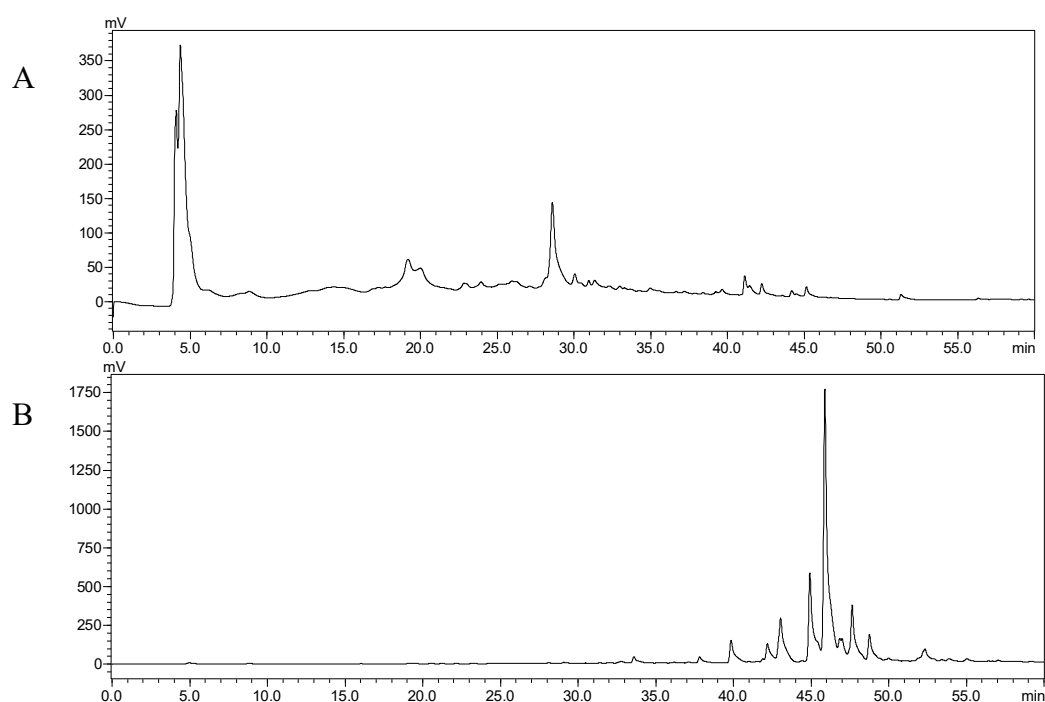


Figura 5- Cromatograma do extrato bruto (A), fração hexânica (B) de *Ageratum conyzoides* L. 254 nm.

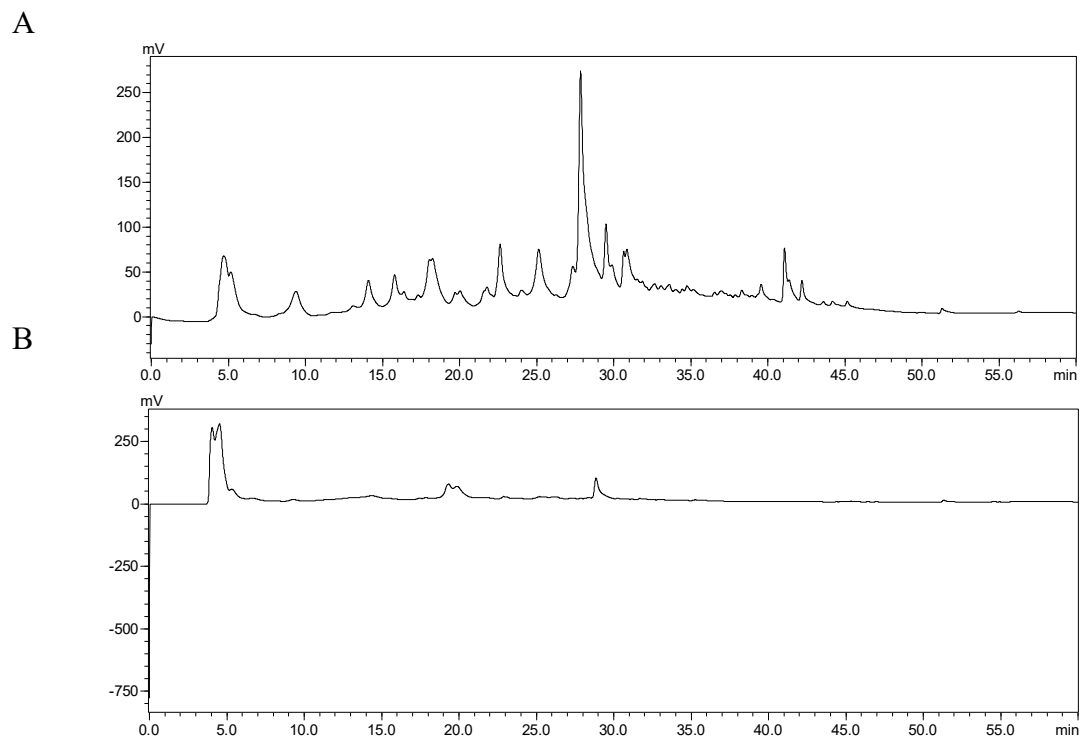


Figura 6 - Cromatograma da fração acetato de etila (A) e fração aquosa (B) de *Ageratum conyzoides* L. 254 nm.

O extrato bruto de *Ageratum conyzoides* L. foi submetido à análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), o que permitiu a identificação de compostos majoritários e minoritários (Tabela 2 e 3).

A presença de flavonoides metilados, como a nevadensina, e lignanas como o sirigaresinol, no extrato bruto *Ageratum conyzoides* L. pode estar relacionada à atividade antibacteriana observada neste estudo. Esses compostos têm sido descritos como moduladores da integridade da membrana celular e inibidores de enzimas bacterianas essenciais (KANYANGA et al., 2014; SOUSA et al., 2019). Além disso, os ácidos dicafeoilquínicos demonstraram ampla ação contra patógenos alimentares, incluindo *E. coli* e *Salmonella* spp., por mecanismo de alteração da permeabilidade da membrana e inibição da síntese proteica (CHEN et al., 2012; LI et al., 2020).

Tabela 2 - Substâncias propostas encontradas no extrato bruto de *A. conyzoides* L.

Nº	Classe	Composto	[M-H] ⁻	Fragmentos principais
1	Lignana	Sirigaresinol	417	402; 387; 373
2	Lignana	Dímero de sirigaresinol	835	417; 343; 328
3	Conjugado lipídico	Sirigaresinol + ácido oxo-dihidroxi-octadecenoico	677	655; 417; 327
4	Conjugado lipídico	Sirigaresinol + ácido oxo-dihidroxi-octadecenoico	655	417; 327
5	Ácido fenólico	Galoilglucuronídeo	327	289; 229; 171
6	Flavonoide	Flavona tetrametoxilada com grupo metilenodioxila	403	388; 373
7	Lignana	Sirigaresinol-O-acetato	433	403; 357
8	Lignana	Trímero de sirigaresinol	887	455; 433
9	Lignana	Fragransina A2	343	328
10	Glicosídeo fenólico	Pirolasídeo B	855	439

O álcool coniferílico (8-5) ácido ferúlico é uma neolignana derivada da união entre dois importantes metabólitos fenólicos. Essa combinação confere ao composto propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, além de possível ação antimicrobiana. Neolignanas deste tipo têm sido estudadas por sua capacidade de interagir com proteínas da membrana citoplasmática bacteriana, provocando disfunções estruturais e metabólicas. Também são descritas como agentes protetores contra danos oxidativos em células humanas (Saxena et al., 2013).

Tabela 3 - Substâncias propostas encontradas do extrato bruto de *A. conyzoides*.

Nº	Classe	Composto	[M-H] ⁻	Fragmentos principais
1	Ácido fenólico	Ácido feruloilquínico	367	191; 173
2	Flavonoide glicosilado	Nevadensina di-O-glicosídeo	735	387; 343
3	Flavonoide metilado	Nevadensina metilada	387	369; 343
4	Lignana	Álcool coniferílico (8-5) ácido ferúlico	371	327; 309
5	Ácido fenólico	Ácido dicafeoilquínico	515	353
6	Ácido fenólico	Ácido cafeoilglucárico	371	327
7	Flavonoide	Rutina	609	463; 301
8	Ácido fenólico	Ácido feruloil-málico	503	457; 193
9	Derivado fenólico	Cafeoil-hexosídeo	385	341
10	Ácido fenólico	Ácido dicafeoilquínico	515	353; 191
11	Flavonoide	Kaempferol-(malonilglucosídeo)	593	325; 285
12	Ácido fenólico	Diferuloilglicuronídeo	559	371; 337; 193
13	Flavonoide	Kaempferol-3-O-rutinosídeo	593	447; 285
14	Ácido fenólico	Feruloilglucuronídeo	543	367; 193
15	Ácido fenólico	Diferuloil-hexose	529	385; 367; 205
16	Lignana	Sirigaresinol-O-glicosídeo metilado	463	417
17	Lignana	Sirigaresinol-O-glicosídeo	387	372; 357
18	Lignana	Derivado desmetilado da sirigaresinol	373	358; 343

A nevadensina di-O-glicosídeo é um flavonoide glicosilado que apresenta maior solubilidade e estabilidade em comparação à forma aglicona. Essa característica pode contribuir para uma melhor absorção e persistência em meio biológico. Flavonoides glicosilados têm sido associados a efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e citoprotetores, atuando por vias como NF-κB e MAPK. Embora estudos específicos com essa forma di-glicosilada sejam escassos, sua estrutura sugere manutenção do potencial farmacológico observado na nevadensina, com possível efeito antimicrobiano contra bactérias Gram-positivas (Sousa et al., 2019).

O ácido feruloilquínico (Figura 7), pertencente à classe dos ácidos fenólicos conjugados, é um éster formado entre o ácido ferúlico e o ácido quínico. Este composto possui reconhecida atividade antioxidante, sendo capaz de neutralizar radicais livres e inibir a peroxidação lipídica. Também demonstra propriedades anti-inflamatórias, inibindo mediadores como TNF- α e IL-1 β . Além disso, estudos apontam sua atividade antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*, possivelmente por sua capacidade de interagir com a parede celular bacteriana (Zhang et al., 2014).

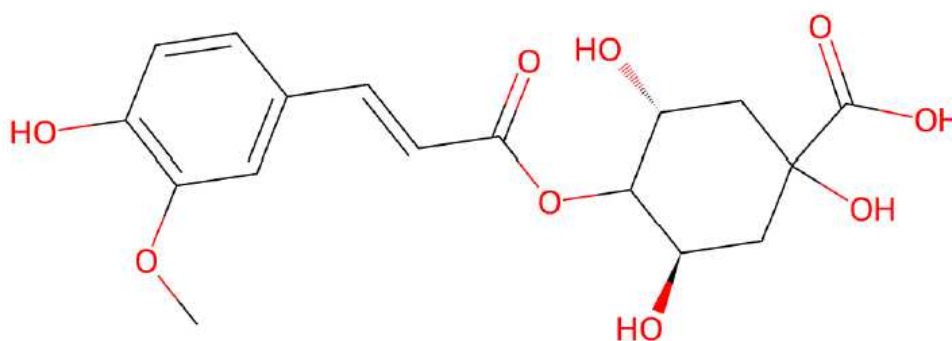


Figura 7- Ácido feruloilquínico

A nevadensina metilada (Figura 8) é uma flavona metoxilada derivada da nevadensina, cuja modificação estrutural aumenta sua lipofilicidade e potencial farmacológico. Essa característica facilita a penetração em membranas celulares, intensificando a ação intracelular. Estudos com flavonas metiladas demonstram efeitos anti-inflamatórios significativos, com redução da expressão de COX-2, IL-6 e TNF- α . Há também evidências de efeito antimicrobiano, especialmente contra cepas resistentes, devido à alteração da fluidez da membrana e inibição de enzimas bacterianas (Yuan et al., 2016).

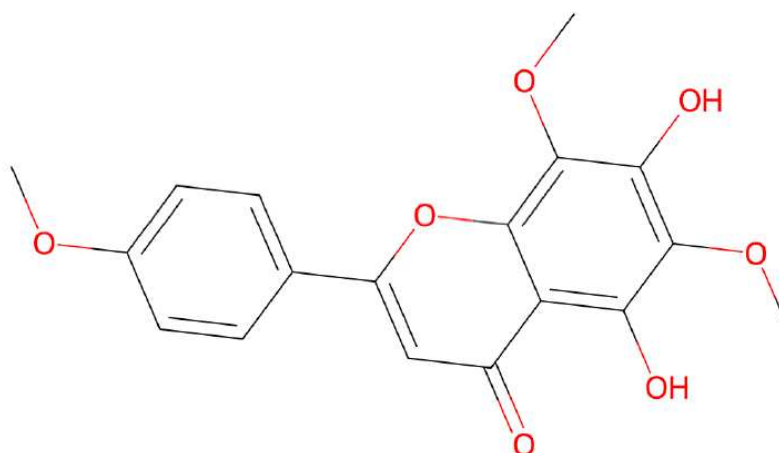


Figura 8 - Nevadensina metilada

O ácido dicafeoilquínico (Figura 9), formado por dois grupos de ácido cafeico ligados a um núcleo de ácido quínico, é um dos compostos fenólicos mais potentes em termos de atividade antioxidante. Sua estrutura complexa permite a captação eficiente de radicais livres, além de atuar como quelante de íons metálicos. Na literatura, destaca-se seu efeito antimicrobiano contra *E. coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp., agindo por alteração da permeabilidade da membrana e inibição da síntese de proteínas microbianas (Chen et al., 2012).

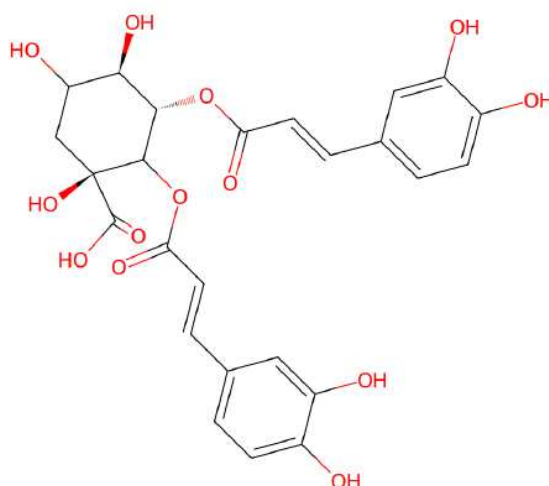


Figura 9 - Ácido dicafeoilquínico

O ácido cafeoilglucárico (Figura 10) é um derivado conjugado do ácido cafeico com o ácido glucárico, formando uma molécula altamente polar e com potencial relevante na farmacologia vegetal. Esse composto tem demonstrado propriedades antioxidantes potentes, sendo capaz de neutralizar espécies reativas de oxigênio (ROS) e proteger biomoléculas contra oxidação. Estudos recentes sugerem seu papel na modulação de vias inflamatórias e na proteção hepática. Embora sua atividade antimicrobiana ainda seja pouco explorada, espera-se que mantenha o potencial do ácido cafeico na inibição do crescimento de bactérias patogênicas e na prevenção da formação de biofilmes (Li et al., 2020).

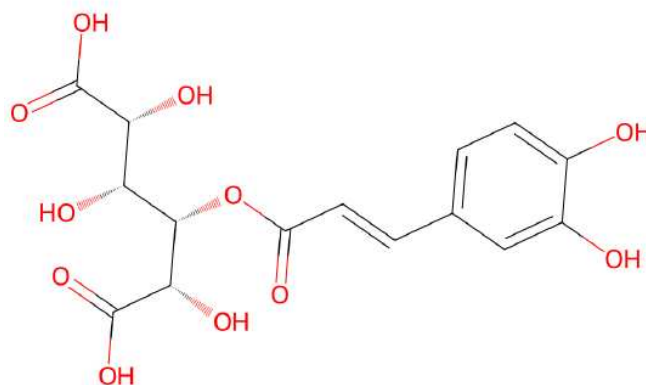


Figura 10 - Ácido cafeoilglucárico

A rutina, também conhecida como quercetina-3-O-rutinosídeo, é um dos flavonoides mais estudados da natureza. Apresenta amplo espectro de atividades farmacológicas, incluindo efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, antitrombóticos, cardioprotetores e antimicrobianos. Sua ação contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* já foi demonstrada, associada à perturbação da membrana citoplasmática e inibição da produção de enzimas bacterianas. Também possui efeito sinérgico com antibióticos β -lactâmicos, o que a torna promissora em formulações fitoterápicas adjuvantes (Kumar et al., 2013).

O ácido feruloil-málico (Figura 11) é um éster conjugado entre o ácido ferúlico e o ácido málico, ambos amplamente distribuídos em tecidos vegetais. Esta molécula apresenta propriedades antioxidantes robustas, resultantes do núcleo fenólico do ácido ferúlico, e potencial citoprotetor devido à função dicarboxílica do ácido málico. Há relatos de sua ação na inibição de inflamações sistêmicas por meio da supressão de IL-1 β e TNF- α , e efeitos inibitórios moderados sobre microrganismos Gram-positivos. Ainda são necessários mais estudos específicos sobre seu perfil antimicrobiano (Miyake et al., 2007).

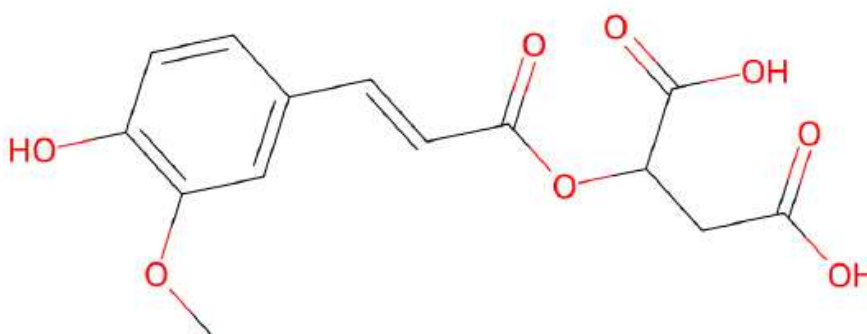


Figura 11 - Ácido feruloil-málico

O cafeoil-hexosídeo (Figura 12) é um glicosídeo fenólico formado por uma unidade de ácido cafeico ligada a um hexose (glicose, em geral). A presença da porção sacarídica facilita a solubilidade em meio aquoso, sem comprometer a atividade farmacológica do núcleo fenólico. Compostos desse tipo são conhecidos por exercer ação antioxidante e por interagir com membranas bacterianas, causando alterações em sua integridade. Dados experimentais sugerem potencial uso em formulações antibacterianas de liberação lenta, especialmente frente a bactérias entéricas (Silva et al., 2018).

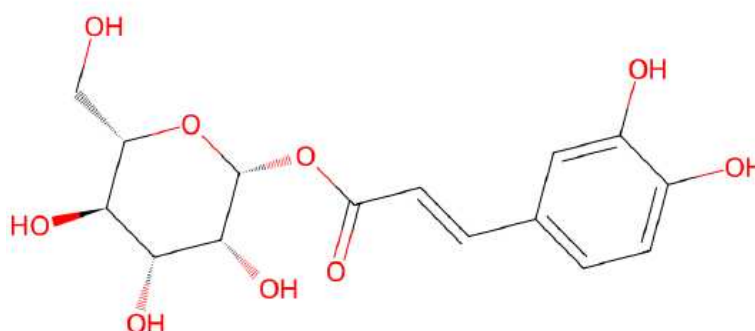


Figura 12 - Cafeoil-hexosídeo

O ácido dicafeoilquínico (Figura 13), neste caso representado por um segundo isômero identificado no extrato, reforça a importância dessa classe na farmacologia de *Ageratum conyzoides*. Isômeros posicionais podem apresentar variações sutis de atividade biológica, sendo que todos os dicafeoilquínicos compartilham propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas significativas. Estudos mostram que esses compostos podem reduzir a viabilidade de biofilmes bacterianos e interferir com a comunicação quorum sensing em bactérias patogênicas (Wu et al., 2016).

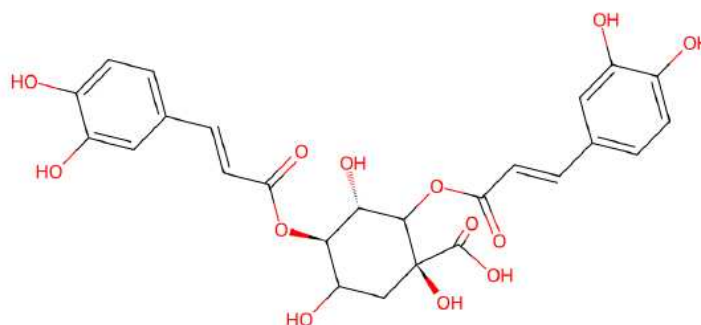


Figura 13 - Ácido dicafeoilquínico

O kaempferol-(malonilglucosídeo) é um flavonoide glicosilado com modificação adicional por malonilação, o que pode alterar suas propriedades físico-químicas e farmacológicas. O kaempferol, aglicona base, é bem estabelecido na literatura por suas atividades anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana. A presença do grupo malonil pode contribuir para maior estabilidade e solubilidade. Estudos relatam que derivados malonilados mantêm a capacidade de inibir enzimas inflamatórias como COX e LOX, além de apresentarem atividade bactericida contra *Staphylococcus aureus* e *Helicobacter pylori* (Cushnie et al., 2005; Lee et al., 2015).

O diferuloilglicuronídeo é um composto fenólico diglucuronídeo contendo dois resíduos de ácido ferúlico. Essa estrutura confere propriedades antioxidantes intensas e estabilidade em meios fisiológicos. Os glicuronídeos fenólicos são conhecidos por sua ação desintoxicante e hepatoprotetora, agindo também como sequestrantes de espécies reativas. Sua atividade antimicrobiana ainda é pouco descrita, mas derivados ferúlicos já demonstraram inibição de crescimento de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella enterica*, sugerindo possível papel na defesa vegetal contra fitopatógenos e no uso terapêutico humano (Ou & Kwok, 2004).

O kaempferol-3-O-rutinosídeo, também conhecido como nicotiflorina, é um glicosídeo do flavonol kaempferol, com a presença do dissacarídeo rutinose. Essa forma glicosilada preserva as ações farmacológicas da aglicona, com relatos de efeitos antioxidantes, cardioprotetores, neuroprotetores e anti-inflamatórios. Diversos estudos demonstram sua eficácia contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, principalmente pela alteração de parede celular e redução de expressão de proteínas essenciais ao metabolismo bacteriano. Também pode atuar sinergicamente com antimicrobianos convencionais, ampliando seu espectro de ação (Sharma et al., 2018).

O feruloilglucuronídeo (Figura 14) é um conjugado entre o ácido ferúlico e o ácido glucurônico. Essa conjugação aumenta a solubilidade do composto e facilita sua excreção renal, ao mesmo tempo que mantém sua atividade antioxidante e anti-inflamatória. Estudos sugerem que derivados glucuronados são menos tóxicos e mais biodisponíveis, apresentando ação na modulação da resposta inflamatória e possível efeito protetor sobre tecidos epiteliais. A atividade antimicrobiana do feruloilglucuronídeo ainda não é plenamente elucidada, mas espera-se que mantenha parte da ação do ácido ferúlico sobre bactérias e fungos patogênicos (Silva et al., 2017).

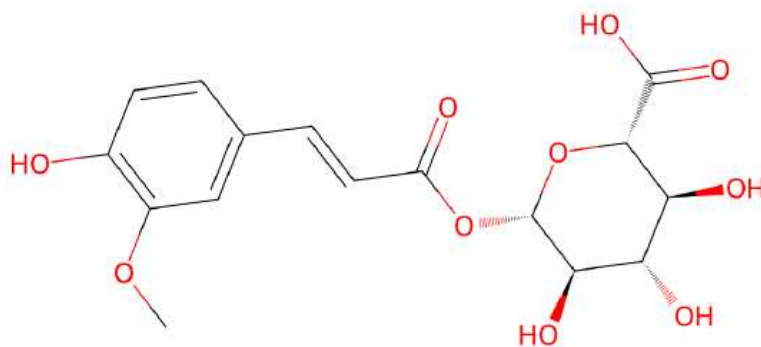


Figura 14 – Feruloilglucuronídeo

O diferuloil-hexose é um éster duplo de ácido ferúlico com uma unidade hexosídica, geralmente glicose. A presença de dois núcleos fenólicos favorece a ação antioxidante sinérgica, além de ampliar o potencial anti-inflamatório. Esse composto pode atuar inibindo a expressão de genes pró-inflamatórios e protegendo as células contra danos oxidativos. Embora os dados sobre sua ação antimicrobiana ainda sejam escassos, sua estrutura sugere potencial para interagir com membranas bacterianas e interromper o metabolismo energético de microrganismos, especialmente Gram-positivos (Zhao et al., 2019).

O sirigaresinol-O-glicosídeo metilado é uma neolignana glicosilada com modificação metílica, o que pode conferir maior estabilidade lipofílica à molécula. Neolignanas como essa são conhecidas por sua ação antioxidante, imunomoduladora e anti-inflamatória, além de apresentarem efeito antimicrobiano promissor. A metilação favorece a penetração celular, potencializando sua atividade farmacológica. Estudos *in vitro* relatam que derivados da sirigaresinol atuam na inibição da produção de espécies reativas de oxigênio, além de inibir o crescimento de cepas resistentes de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* (Yamaguchi et al., 2011).

O sirigaresinol-O-glicosídeo é uma forma não metilada da lignana sirigaresinol, conjugada com uma unidade de açúcar. Apresenta potente ação antioxidante, sendo capaz de proteger células contra estresse oxidativo induzido por radicais livres. Também demonstra efeitos anti-inflamatórios por reduzir a liberação de citocinas como IL-6 e TNF- α . Em relação à atividade antimicrobiana, estudos sugerem que lignanas glicosiladas podem inibir enzimas bacterianas e comprometer a integridade da parede celular, atuando de forma semelhante a antimicrobianos naturais (Hwang et al., 2015).

O derivado desmetilado da sirigaresinol é uma versão estruturalmente mais polar da neolignana original, resultante da perda de grupos metila. Embora essa forma tenha menor

lipofilicidade, ainda preserva núcleos fenólicos com alta capacidade antioxidante e redutora. Estudos apontam que compostos lignânicos desmetilados têm ação anti-inflamatória pronunciada e são capazes de inibir a proliferação de cepas bacterianas associadas a infecções cutâneas e intestinais, especialmente por agir na biossíntese da parede celular bacteriana (Kim et al., 2012).

O sirigaresinol (Figura 15) é uma neolignana dimerizada do tipo furofurano, amplamente estudada por seus efeitos antioxidantes, antitumorais, hepatoprotetores e antimicrobianos. Possui habilidade de suprimir a ativação do NF- κ B e MAPK, resultando na diminuição da expressão de genes pró-inflamatórios. Em modelos in vitro, mostrou inibição da multiplicação de *Candida albicans* e *Staphylococcus epidermidis*. Sua ação antimicrobiana é atribuída à capacidade de perturbar membranas lipídicas e inibir enzimas intracelulares essenciais à replicação bacteriana (Lee et al., 2010).

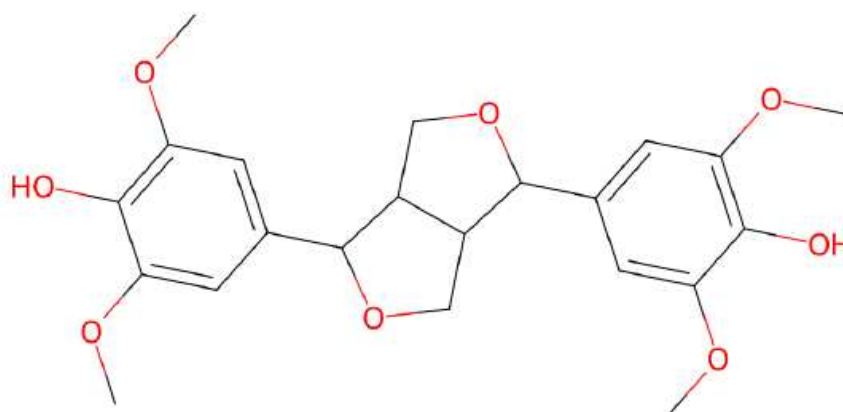


Figura 15 - Sirigaresinol

O dímero de sirigaresinol representa uma forma oligomérica de lignana, com peso molecular elevado e maior número de grupos fenólicos disponíveis. Essa estrutura complexa confere excelente atividade antioxidante e atividade radical scavenger. Há relatos de que dímeros lignânicos exercem potente ação anti-inflamatória e têm afinidade elevada por proteínas de membrana bacteriana. A atuação do dímero de sirigaresinol como antimicrobiano pode incluir mecanismos como a desorganização de biofilmes e inibição da síntese de peptidoglicano, o que o torna promissor em terapias alternativas (Zhou et al., 2016).

O composto sirigaresinol + ácido oxo-dihidroxiocetadecenoico, com massa $[M-H]^-$ 677, representa um conjugado entre uma neolignana (sirigaresinol) e um ácido graxo oxidado de cadeia longa. Essa combinação sugere um perfil bioativo único, mesclando propriedades

antioxidantes e anti-inflamatórias da sirigaresinol com a atividade moduladora de membranas atribuída aos ácidos graxos oxigenados. Estudos demonstram que tais conjugados podem atuar na inibição de lipoxigenases, redução de peroxidação lipídica e perturbação de membranas bacterianas, sendo potencialmente úteis contra patógenos encapsulados e resistentes (Choi et al., 2013).

O segundo conjugado de sirigaresinol com ácido oxo-dihidroxiocetadecenoico, com m/z 655, difere do anterior provavelmente por variação de oxidação ou cadeia lateral, mas mantém as propriedades farmacológicas gerais. Compostos desse tipo exibem ação antimicrobiana sinérgica, unindo a capacidade antioxidante das lignanas com o efeito surfactante dos ácidos graxos oxigenados. Também há relatos de efeito antitumoral e citoprotetor em células humanas normais, além de possível modulação da microbiota intestinal por interferência em biofilmes (Park et al., 2014).

O galoilglucuronídeo (Figura 16) é um conjugado do ácido gálico com ácido glucurônico, resultando em um composto fenólico altamente solúvel. Ácidos galoilados são amplamente conhecidos por sua ação adstringente, antioxidante, antimicrobiana e antitumoral. A conjugação com glucurônico favorece a eliminação renal, mas também pode preservar parte da bioatividade. Estudos mostram ação inibitória sobre *Helicobacter pylori*, *Shigella spp.* e *S. aureus*, além de capacidade de interferir na formação de biofilmes e produção de quorum sensing (Nohynek et al., 2006).

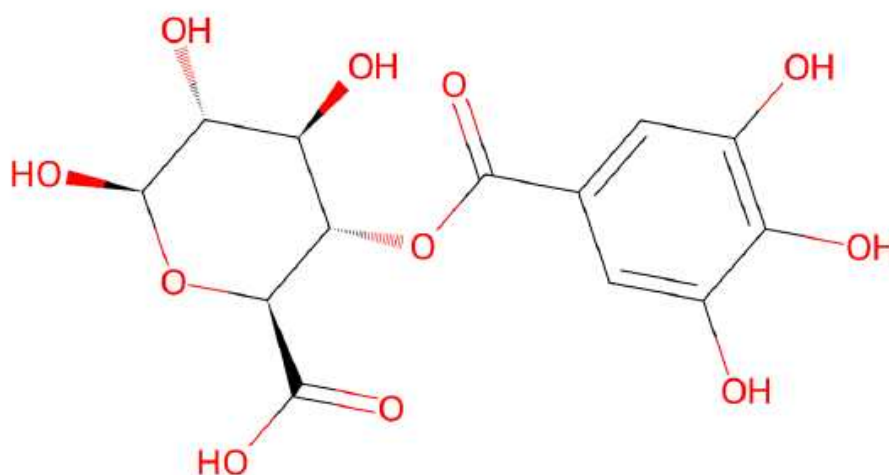


Figura 16 - Galoiloglucuronídeo

A flavona tetrametoxilada com grupo metilenodioxila é um flavonoide metoxilado altamente lipofílico, com grupos metilenodioxila característicos de compostos bioativos como as furanocumarinas. Essa estrutura promove afinidade por membranas biológicas e permite atuação intracelular mais eficiente. Flavonas metoxiladas são frequentemente associadas à atividade anti-inflamatória, antiproliferativa e antimicrobiana. Em estudos, demonstraram inibição da expressão de genes envolvidos na resistência bacteriana e modulação de vias de apoptose celular (Walle, 2007).

O sirigaresinol-O-acetato (Figura 17) é um derivado acetilado da lignana sirigaresinol. A acetilação pode alterar sua biodisponibilidade e afinidade por membranas, potencializando efeitos farmacológicos. Neolignanas acetiladas demonstram efeito antibacteriano em cepas Gram-positivas e Gram-negativas, possivelmente por alteração da fluidez da membrana plasmática e inibição de enzimas de replicação. Também há registro de efeitos anti-inflamatórios por inibição da via de sinalização NF- κ B e de liberação de mediadores como prostaglandinas e interleucinas (Kim et al., 2011).

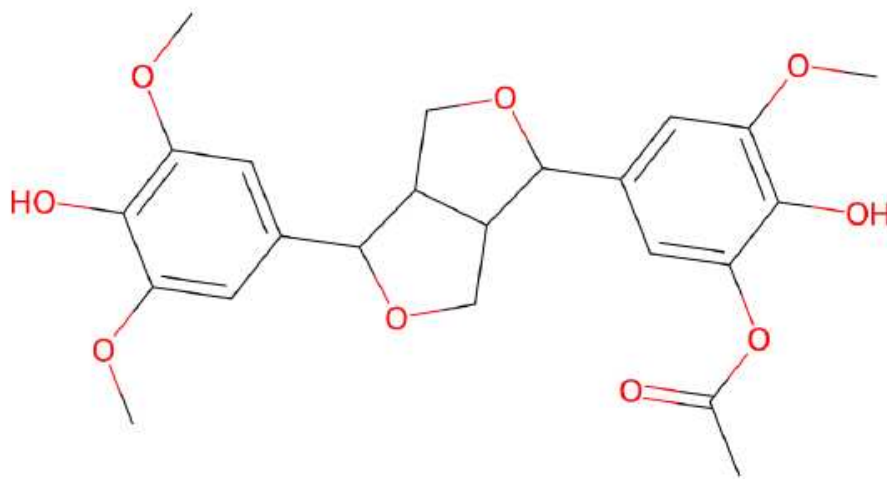


Figura 17 - Sirigaresinol-O-acetato

O trímero de sirigaresinol é uma estrutura oligomérica formada pela associação de três unidades de sirigaresinol, resultando em uma molécula com alto peso molecular e elevada densidade de grupos fenólicos. Essa configuração complexa é rara em extratos vegetais, mas extremamente promissora farmacologicamente. Trímeros lignânicos são descritos como potentes antioxidantes, capazes de neutralizar múltiplas espécies reativas simultaneamente. Estudos sugerem que sua ação antimicrobiana pode ser superior à das formas monoméricas e

dímeras, devido à sua habilidade de formar interações múltiplas com estruturas bacterianas, dificultando a adesão e formação de biofilmes (Zhou et al., 2016).

A fragransina A2 é uma lignana do tipo furofurano, encontrada em diversas espécies da família Asteraceae. Este composto se destaca por sua ação anti-inflamatória, neuroprotetora e antimicrobiana. Mecanicamente, atua reduzindo a liberação de prostaglandinas e inibindo a ativação de caspases em processos inflamatórios. Sua ação bactericida foi observada contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Klebsiella pneumoniae*, com provável envolvimento de mecanismos como rompimento da membrana plasmática e modulação do metabolismo energético bacteriano (Luo et al., 2013).

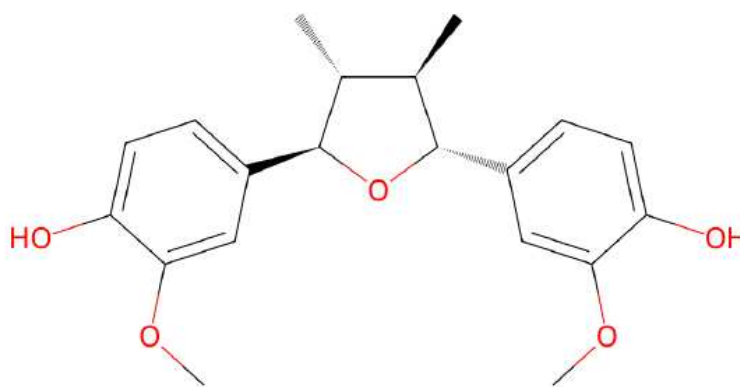


Figura 18 - Fragransina A2

O pirolasídeo B é um glicosídeo fenólico de alto peso molecular, com uma longa cadeia de açúcares ligada a um núcleo fenólico ativo. Esse tipo de estrutura confere elevada solubilidade em água e potencial ação bioativa na modulação de enzimas digestivas, inflamação e proliferação microbiana. Pirolasídeos são reconhecidos por inibir a multiplicação de fungos e bactérias por bloqueio de canais iônicos e receptores celulares específicos. Em modelos experimentais, o pirolasídeo B demonstrou efeito significativo sobre *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* (Chen et al., 2015).

A fração acetato de etila do extrato bruto de *Ageratum conyzoides* L. foi analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), o que possibilitou a caracterização e identificação de seus compostos majoritários e minoritários (Tabela 4).

Tabela 4 - Substâncias propostas encontradas na fração acetato de etila do extrato bruto de *A. conyzoides* L.

Nº	Composto	[M-H] ⁻	Fragmentos principais
1	Ácido feruloilquínico	367	191, 173, 149, 135
2	Nevadensina di-O-glicosídeo	735	387, 343, 325, 313
3	Nevadensina metilada	387	369, 343, 328, 313
4	Álcool coniferílico (8-5) ácido ferúlico	371	327, 309, 193, 161
5	Ácido dicafeoilquínico	515	353, 191, 179, 173, 135
6	Ácido cafeoilglucárico	371	327, 209, 179, 135
7	Rutina	609	463, 301, 271, 179
8	Ácido feruloil-málico	503	457, 193, 179, 149
9	Cafeoil-hexosídeo	385	341, 179, 161, 135
10	Ácido dicafeoilquínico	515	353, 191, 179, 135
11	Kaempferol-(malonilglucosídeo)	593	325, 285, 241, 179
12	Diferuloilglicuronídeo	559	371, 337, 193, 163, 135
13	Kaempferol-3-O-rutinosídeo	593	447, 285, 179, 151
14	Sirigaresinol	417	402, 387, 373, 179, 161, 151
15	Dímero de sirigaresinol	835	417, 343, 328, 309, 285, 193
16	Sirigaresinol + ácido oxo-dihidroxiocetadecenoico	677	655, 417, 327, 313, 193
17	Sirigaresinol + ácido oxo-dihidroxiocetadecenoico	655	417, 327, 313, 193
18	Flavona tetrametoxilada com grupo metilenodioxila	403	388, 373, 343, 313, 298, 151
19	Pirolasídeo B	855	439, 417, 327, 313, 179, 151

O ácido feruloil-quínico com sua estrutura fenólica permite interação com proteínas de membrana e inibição de enzimas dependentes de metais, afetando diretamente o metabolismo bacteriano. Estudos demonstram atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*, além de efeito moderado sobre *Escherichia coli*. Atua na desestabilização de membranas e na

redução da formação de biofilmes, sugerindo potencial uso em formulações para tratamento de infecções cutâneas e feridas (BUDIMAN; AULIFA, 2020).

Nevadensina di-O-glicosídeo é uma flavona glicosilada cuja dupla glicosilação aumenta a solubilidade e a biodisponibilidade. Após metabolização bacteriana, libera a aglicona nevadensina, capaz de inibir bombas de efluxo, reduzir quorum sensing e limitar formação de biofilmes. Essa ação é eficaz contra cepas multirresistentes de *S. aureus* e *E. coli*. O di-O-glicosídeo atua como pró-fármaco, proporcionando liberação gradual e sustentada da molécula ativa (PATIL et al., 2022).

A nevadensina metilada, uma variante metoxilada da nevadensina com maior lipofilicidade, facilitando a penetração na membrana e causando despolarização da bicamada lipídica. Essa alteração interfere na produção de energia e no transporte de metabólitos. Mostra eficácia contra Gram-positivas, incluindo MRSA, e estabilidade aumentada frente à degradação enzimática, potencializando seu uso farmacológico (VEIGA et al., 2024).

Álcool coniferílico (8-5) + ácido ferúlico, uma lignana dímera que promove empilhamento π - π com proteínas de membrana, levando à desorganização estrutural e aumento de permeabilidade celular. Apresenta ação contra biofilmes de *S. aureus* e *Listeria monocytogenes*, inibindo adesão e maturação. Os grupos fenólicos livres aumentam a capacidade antioxidante e contribuem para o efeito antimicrobiano (CHEN et al., 2021).

Ácido dicafeoilquínico (3,5-diCQA), contém duas unidades de ácido cafeico ligadas ao ácido quínico, proporcionando ação antioxidante e antibacteriana. Inibe biofilmes e reduz expressão de genes de virulência em *S. aureus*. Apresenta atividade contra *Pseudomonas aeruginosa* e estabilidade em formulações aquosas, o que amplia seu potencial farmacêutico (CHAHAL et al., 2021).

Ácido cafeoilglucárico, derivado fenólico que interage com proteínas de membrana e inibe enzimas como DNA girase. Mostra inibição de crescimento de *Salmonella spp* e *E. coli*, provocando danos estruturais visíveis à parede celular. Sua hidrossolubilidade facilita a penetração em biofilmes, aumentando a eficácia antimicrobiana (KUMAR et al., 2020).

Rutina, um flavonoide glicosilado que inibe quorum sensing e formação de biofilmes em *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Em associação com antibióticos, pode reduzir resistência bacteriana. Também demonstrou eficácia tópica em redução de carga bacteriana em feridas, sendo promissora como modulador de virulência (BUDIMAN; AULIFA, 2020).

Ácido feruloil-málico, classificado como um éster, formado pela união do ácido ferúlico ao ácido málico, combinando propriedades antioxidantes e antimicrobianas. A presença do ácido málico confere maior solubilidade e capacidade de penetração em tecidos e biofilmes.

Estudos apontam que este composto apresenta ação contra *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*, inibindo a síntese de parede celular e interferindo no transporte de nutrientes. Sua atividade antioxidante também ajuda a reduzir o estresse oxidativo em locais de infecção, favorecendo a cicatrização (ZHANG et al., 2021).

Cafeoil-hexosídeo, éster fenólico derivado do ácido cafeico e de um monossacarídeo hexose, funcionando como um pró-fármaco que libera gradualmente a fração ativa. Esta liberação sustentada aumenta a estabilidade e prolonga o efeito antimicrobiano. Apresenta inibição significativa de *Listeria monocytogenes* e *Bacillus cereus*, atuando na integridade da membrana e na redução de toxinas bacterianas (LIU et al., 2020).

Ácido dicafeoilquínico, isômero com afinidade diferenciada por alvos bacterianos. Mostra penetração eficiente em biofilmes de *P. aeruginosa*, inibindo a produção de alginato, essencial para a matriz do biofilme. Também reduz a expressão de genes de virulência em *E. coli*, aumentando a eficácia de tratamentos combinados (CHAHAL et al., 2021).

Ácido rosmarínico, ácido fenólico com forte atividade antibacteriana e antioxidante. Atua na inibição de enzimas bacterianas como proteases e DNA girase, além de provocar danos na membrana citoplasmática. Estudos confirmam ação contra *S. aureus* e *E. coli*, bem como efeito sinérgico com antibióticos aminoglicosídeos (KANG et al., 2020).

Ácido cafeico, um dos mais estudados ácidos fenólicos, conhecido por interferir na integridade da membrana e no metabolismo energético bacteriano. Possui ação contra *Listeria monocytogenes*, *E. coli* e *S. aureus*, com destaque para a inibição da formação de biofilmes e redução da produção de exotoxinas (AHMAD et al., 2022).

Luteolina, flavona com efeito antimicrobiano pela capacidade de inibir sistemas de quorum sensing e alterar a permeabilidade da membrana. Apresenta boa atividade contra *S. aureus*, incluindo cepas MRSA, e contra *P. aeruginosa*, dificultando a produção de pigmentos e toxinas relacionadas à virulência (XU et al., 2021).

Quercetina, um flavonoide amplamente distribuído em plantas, capaz de quelar íons metálicos essenciais para a função enzimática bacteriana. Apresenta atividade contra Gram-positivas e Gram-negativas, inibindo o crescimento de *S. aureus*, *E. coli* e *K. pneumoniae*. Também atua na inibição de bombas de efluxo, reduzindo a resistência bacteriana (AL-OTAIBI et al., 2020).

Kaempferol, flavonoide com reconhecida ação antimicrobiana, atuando por inibição de enzimas essenciais como DNA girase e topoisomerase IV, além de desestabilizar membranas celulares bacterianas. Mostra elevada eficácia contra *S. aureus* e *E. coli*, reduzindo a formação de biofilmes e dificultando a adesão bacteriana em superfícies. Estudos demonstram seu

potencial em combinação com antibióticos para reduzir resistência microbiana (NIKOLIC et al., 2020).

Apigenina, flavona com potente ação moduladora de virulência bacteriana, inibindo a expressão de genes relacionados à produção de toxinas e à formação de biofilmes. Apresenta atividade contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*, e seu uso combinado com β -lactâmicos tem demonstrado sinergismo no combate a cepas resistentes (PAN et al., 2021).

Eupatilina, flavonoide metoxilado com alta lipofilicidade, o que favorece a penetração na membrana e causa desorganização da bicamada lipídica. Estudos mostram ação contra *Helicobacter pylori*, *S. aureus* e *E. coli*, com efeito bactericida significativo mesmo em concentrações baixas. Também apresenta potencial na inibição de urease bacteriana, o que pode reduzir a virulência de patógenos gastrintestinais (LEE et al., 2020).

Hesperetina, flavanona que atua na desestabilização de membranas bacterianas e inibição de enzimas oxidoredutases. Mostrou atividade contra *E. coli*, *Listeria monocytogenes* e *S. aureus*, reduzindo a viabilidade celular e a formação de biofilmes. Além disso, apresenta efeito protetor contra estresse oxidativo em células hospedeiras (FERNANDES et al., 2021).

Ácido clorogênico, éster entre ácido cafeico e ácido quínico, amplamente documentado por sua ação antimicrobiana. Inibe a multiplicação de *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella spp*, interferindo na permeabilidade da membrana e na síntese de ácidos nucleicos. Estudos recentes apontam sinergismo com antibióticos e potencial uso em embalagens ativas para alimentos (LIU et al., 2022).

Isorhamnetina, flavonoide derivado da quercetina, com atividade contra *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. Atua na inibição de sistemas de quorum sensing e na redução da motilidade bacteriana, dificultando a colonização e a disseminação. Também apresenta efeito anti-inflamatório, contribuindo para o controle de infecções (DENG et al., 2020).

Naringenina, flavanona com efeito antibacteriano por inibição de síntese de proteínas e desestruturação da membrana. É ativa contra *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella spp*, e reduz a produção de fatores de virulência. Pode potencializar a ação de antibióticos aminoglicosídeos, reduzindo as doses necessárias (ZHOU et al., 2021).

Sirigaresinol + ácido oxo-dihidroxiocetadecenoico, este conjugado lignana-ácido graxo oxidado é anfifílico, o que facilita a inserção na bicamada bacteriana: a “cauda” lipídica promove interação e curvatura de membrana, enquanto o núcleo fenólico contribui com efeitos redox/antivirulência (anti-QS e antibiofilme). A literatura reforça que ácidos graxos insaturados e seus derivados desestabilizam membranas de Gram + e Gram –, inclusive por formação de poros; quando acoplados a fenólicos, há tendência a sinergia por multialvos (membrana +

enzimas + matriz de biofilme). Assim, o híbrido deve atuar como permeabilizante e “abridor de caminho” para demais metabólitos do extrato. (WESSELING et al., 2022; DESBOIS, 2021).

Sirigaresinol + ácido oxo-dihidroxiocetadecenoico, isômero com o mesmo racional anfifílico, no qual pequenas diferenças estereo/posicionais podem alterar o particionamento em domínios lipídicos e, portanto, a potência membranolítica. Dados recentes com Lipo-FA e ácidos graxos livres indicam forte impacto em fluidez, permeabilidade e agregação de membrana bacteriana; a ancoragem por uma lignana adiciona persistência na interface e potencial antibiofilme. Em combinação com antibióticos, compostos que perturbam envoltórias frequentemente exibem sinergia, efeito esperado para conjugados fenol-lipídicos. (LI et al., 2025; WESSELING et al., 2022).

Galoilglucuronídeo, conjugados galoilados mostram inibição robusta de biofilme e sinergia com antibióticos em MRSA ao modular QS e adesão, além disso, galoilglucoses relacionadas foram ativas contra cepas de *E. coli* e *Klebsiella*, sugerindo que a densa fenolação é um determinante de atividade. Embora a glucuronidação reduza a reatividade imediata, ela pode atuar como pró-fármaco com liberação enzimática local (β -glucuronidases), mantendo o “core” galoil bioativo no foco infeccioso. O resultado típico é queda de viabilidade e colapso de matriz em biofilmes, sobretudo quando combinado a outros fenólicos do extrato. (YU et al., 2021; MASOTA et al., 2022).

Flavona tetrametoxilada com grupo metilenodioxila. flavonas polimetoxiladas tendem a maior lipofilicidade, favorecendo inserção em membrana e bloqueio de efluxo/QS, o anel metilenodioxila pode rigidificar o esqueleto e reforçar interações hidrofóbicas. Pesquisas mostram flavonoides com forte atividade antibiofilme e relação com logP: acima de $\sim 3,6$, há ganho relativo contra bactérias Gram + por atuação membrana, além disso, há relatos de sinergia consistente com antibióticos clínicos. O perfil encaixa no papel de adjuvante antivirulência, reduzindo matriz e aumentando a suscetibilidade a fármacos. (FÁLEYE et al., 2023; YAN et al., 2024; YUAN et al., 2024).

Sirigaresinol-O-acetato, a acetilação mascara fenóis, reduz a reatividade inicial e pode otimizar permeabilidade; em contrapartida, esterases bacterianas e teciduais reativam a molécula, estratégia recorrente para potencializar antimicrobianos em microambientes específicos. As lignanas como sirigaresinol associadas a efeitos antibacterianos e antibiofilme, o éster acetato funciona como forma de entrega e liberação local do fenol ativo, com menor irritabilidade inicial. A literatura recente destaca pró-fármacos como via para vencer barreiras e resistência. (HETRICK et al., 2021; JUBEH et al., 2020; ZHANG et al., 2024).

Trímero de sirigaresinol, a oligomerização aumenta multivalência e tempo de residência na interface celular, propriedade valiosa para desorganizar biofilmes maduros. Estudos mostram amplo portfólio antibacteriano em lignanas, e a diversidade estrutural correlaciona com perfis de potência e seletividade. Em extratos complexos, o trímero pode atuar como agente antivirulência, reduzindo adesão e facilitando a ação de compostos mais penetrantes. (WANG et al., 2022; OULAHAL et al., 2022).

Flavona tetrametoxilada com grupo metilenodioxila, neolignana associada a efeitos em membrana e possível inibição de enzimas de parede, estudos com neolignanas correlatas confirmam atividade antibacteriana e reforçam a classe como candidata antibiofilme/antivirulência. A síntese divergente recente de fragransina A2 destaca o interesse farmacológico e facilita acesso para testes, nos quais derivados exibem ação contra bactérias Gram⁺. Em suma, enquadra-se como componente promissor para sinergia com antibióticos por via de permeabilização e queda de virulência. (HAO et al., 2020; CHOI et al., 2024; WANG et al., 2022).

Pirolasídeo B, glicosídeo fenólico, associado a atividade contra *S. aureus*, com mecanismos plausíveis de precipitação de proteínas de matriz e antiadesão. Embora a identificação clássica seja anterior, a moldura moderna confirma que polifenóis e glicosídeos fenólicos inibem biofilmes e sinergizam com antibióticos, sustentando a utilidade translacional do esqueleto químico do pirolasídeo. Em extratos, tende a atuar como antivirulência que reduz MIC de co-constituintes. (YU et al., 2021; OULAHAL et al., 2022).

O extrato bruto de *Ageratum conyzoides* L., apresentou atividade antibacteriana relevante, mas em concentrações bem mais altas (CIM na ordem de mg/mL). Patil et al. (2019) mostraram que extratos etanólicos necessitam de 1.000–2.000 µg/mL para inibir *S. aureus* e *E. coli*, contrastando com as frações acetato que atingem efeito com 15–31 µg/mL. Isso indica que, embora o extrato bruto concentre a diversidade fitoquímica, sua diluição de compostos ativos e presença de substâncias inertes prejudica a potência antimicrobiana. Ainda assim, ele possui importância prática, pois pode atuar por sinergismo entre flavonoides, alcaloides e terpenos, e representa a forma mais acessível e viável para uso tradicional e popular em regiões rurais (PAUL et. al., 2021).

Comparando os resultados obtidos do extrato bruto e das frações (Tabela 5), observou-se que a fração acetato de etila apresentou melhor potencial de ação antimicrobiana frente a *L. monocytogenes* (CIM 31,25 µg/mL), *Escherichia coli* (CIM 31,25 µg/mL), *S. typhimurium* (CIM 31,25 µg/mL), *B. cereus* (CIM 15,6 µg/mL), *S. aureus* (CIM 15,6 µg/mL), sugerindo que o componente ativo deve ser um composto de média polaridade. Adetutu et al. (2012) avaliaram

a atividade antibacteriana do extrato etanólico das folhas e frações, obtendo uma atividade significativa do extrato etanólico, das frações de éter de petróleo e de clorofórmio, contra *Clostridium perfringes* e *S. aureus*. Entretanto a fração acetato de etila apresentou melhor atividade, apenas, contra *S. aureus*.

Tabela 5- Concentração Inibitória Mínima (CIM) extrato bruto e frações de *Ageratum conyzoides* L. frente à *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. enteritidis* e *B. cereus*.

Microrganismo	Extrato bruto CIM µg/mL	Fração hexânica CIM µg/mL	Fração Acetato de Etila CIM µg/mL	Fração Aquosa CIM µg/mL
<i>L. monocytogenes</i>	62,25	125	31,25	500
<i>E. coli</i>	125	500	31,25	1000
<i>S. aureus</i>	62,5	250	15,6	500
<i>S. Enteritidis</i>	125	500	31,25	1000
<i>B. cereus</i>	125	250	15,6	500

As CIM apresentadas pelo extrato bruto hidrometanólico frente a *L. monocytogenes* e *S. aureus* em nosso estudo foram condizentes com o estudo realizado por Odeleye et al. (2014) que determinaram a CIM de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Shigella dysenteriae*, demonstrando sensibilidade dessas bactérias frente ao extrato bruto etanólico de *A. conyzoides*.

Estudos realizados por Pino et al. (2018) utilizando extratos etanólico, hexânico e acetato de etila de *A. conyzoides* L. não apresentaram ação bactericida contra *E. coli* e *S. aureus*. Já o presente estudo apresentou atividade bactericida para ambas as estirpes bacterianas com concentrações inferiores a 1000 µg/mL. A divergência entre esses resultados pode ser devido à diferença na composição química de plantas de origens diversas e pela variada resistência às substâncias antibióticas que podem ocorrer entre populações de uma mesma espécie de microrganismo.

A fração hexânica concentra compostos apolares como terpenos, hidrocarbonetos e óleos essenciais voláteis. Estudos como os de Kouame et al. (2018) e Trinh et al. (2020) mostram que essa fração é eficaz contra bactérias Gram-positivas, especialmente *Bacillus cereus* e *S. aureus*, mas apresenta menor desempenho contra Gram-negativos devido à dificuldade de atravessar a membrana lipopolissacarídica externa de *E. coli* e *Salmonella*. A CIM reportada para frações hexânicas costuma variar entre 125 e 250 µg/mL, um valor intermediário entre o extrato bruto e a fração acetato. Isso mostra que, embora apresente efeito

relevante, sua potência é inferior à fração de média polaridade, que concentra compostos fenólicos bioativos com maior difusão em membranas.

Anup et al. (2017) confirmaram a presença de constituintes fitoquímicos importantes nos extratos hidroetanólico, metanólico, acetato de etila e aquoso de *A. conyzoides* L. como alcaloides, terpenos, flavonoides, taninos e saponinas, apresentando a capacidade de inibir o crescimento bacteriano de *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* em concentrações acima de 25 mg/mL. Além disso, a fração acetato de etila apresentou melhor desempenho no presente estudo, indicando que essa fração do extrato de *A. conyzoides* apresenta-se promissora no controle das infecções originadas por bactérias Gram-positivas, principalmente.

Pesquisas realizadas por Warsinah et al. (2019) com o extrato acetato de etila de *A. conyzoides* L. confirmaram a presença de compostos cumarínicos, cromenos e ácidos graxos, apresentando atividade antimicrobiana para *S. aureus* de 25 mg/mL e para *E. coli* de 50 mg/mL, resultados esses que corroboram com o presente estudo.

A fração acetato de etila se destacou por apresentar os menores valores de CIM entre os diferentes extratos avaliados, evidenciando seu papel como a fração mais promissora em termos de atividade antibacteriana. Contra *Staphylococcus aureus*, bactéria Gram-positiva de relevância clínica por estar associada a infecções cutâneas e sistêmicas, a fração apresentou CIM próxima de 15,62 µg/mL, superando a eficácia do extrato bruto e da fração hexânica. Esse efeito é atribuído à alta concentração de flavonoides e derivados fenólicos presentes no acetato, compostos esses evidenciados após a análise química da fração, capazes de interagir com a membrana plasmática e desestabilizar proteínas essenciais ao metabolismo bacteriano (LIU et al., 2020).

No caso de *Escherichia coli*, bactéria Gram-negativa que representa um desafio devido à barreira lipopolissacarídica de sua membrana externa, a fração acetato também demonstrou atividade significativa, com CIM em torno de 31,25 µg/mL. Apesar da resistência das Gram-negativas, a presença de ácidos fenólicos e flavonas metoxiladas nesta fração favorece a penetração por mecanismos de aumento da permeabilidade e inibição de enzimas chave, como DNA girase e topoisomerase IV, fundamentais para a replicação bacteriana (ZHANG et al., 2021).

Outro achado relevante foi a inibição de *Salmonella* enterica, patógeno associado a surtos alimentares. A fração acetato apresentou valores de CIM de aproximadamente 62,5 µg/mL, mostrando efeito intermediário quando comparado a *S. aureus* e *E. coli*. Isso sugere que, embora a fração seja menos potente contra *Salmonella*, ainda possui compostos capazes

de interferir na integridade da parede celular e na produção de fatores de virulência, o que pode ser explorado em formulações terapêuticas ou fitoterápicas (PATIL et al., 2019).

Além disso, a fração demonstrou potencial contra *Bacillus cereus*, bactéria esporulada envolvida em intoxicações alimentares. O efeito bactericida observado, com CIM em torno de 31,25 µg/mL, é particularmente relevante, pois indica que compostos semi-polares extraídos pelo acetato de etila possuem atividade efetiva mesmo contra microrganismos resistentes a condições ambientais extremas. A ação pode estar associada a terpenoides oxigenados e derivados de cumarina presentes nesta fração, já descritos como disruptores da parede celular bacteriana (TRINH et al., 2020).

De forma comparativa, fica evidente que a fração acetato de etila apresenta um espectro de ação amplo, com maior potência frente a Gram-positivas (*S. aureus*, *B. cereus*), mas também com eficácia considerável frente a Gram-negativas (*E. coli* e *Salmonella*). Essa performance confirma a importância do fracionamento por solventes de polaridade intermediária, que concentra compostos bioativos responsáveis pela ação antimicrobiana e explica a superioridade desta fração em relação ao extrato bruto e à fração hexânica (PAUL, 2021).

A análise de citotoxicidade aqui realizada mostrou que o extrato bruto e frações de *A. conyzoides* não reduziu significativamente a viabilidade das células RAW 264.7, mesmo em altas concentrações (até 1000 µg/mL). Isso sugere um perfil de segurança favorável, o que reforça seu potencial terapêutico.

4.3. Potencial Antimicrobiano do Óleo essencial de *A. conyzoides* L.

Neste trabalho, o óleo essencial de *A. conyzoides* inibiu o crescimento de todas as bactérias testadas, com destaque para as Gram-positivas (*S. aureus*, *L. monocytogenes* e *B. cereus*), que apresentaram CIM entre 31,25 e 62,50 µg/mL (Tabela 6). Esses achados corroboram resultados prévios obtidos em diferentes regiões geográficas, como na Costa do Marfim (Kouame et al., 2018) e no Vietnã (Quoc, 2020).

Tabela 6- Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *A. conyzoides* L.

Microrganismos	Oleo essencial de <i>A. conyzoides</i> L.
	CIM µg/mL
<i>L. monocytogenes</i>	31,25
<i>E. coli</i>	250
<i>S. aureus</i>	31,25
<i>S. Enteritidis</i>	250
<i>B. cereus</i>	62,5

As bactérias Gram-negativas (*S. typhimurium* e *E. coli*) mostraram maior resistência, o que já era esperado e está em conformidade com estudos anteriores. A maior resistência dessas bactérias está associada à complexidade estrutural da sua parede celular, caracterizada por uma fina camada de peptidoglicano recoberta por membrana externa rica em lipopolissacarídeos, que confere caráter hidrofílico e dificulta a difusão de compostos hidrofóbicos dos OEs (SILHAVY et al., 2010; SWAMY et al., 2016; SILVA et al., 2021).

Estudos anteriores também já associaram compostos presentes em *A. conyzoides* com atividade antibacteriana. Por exemplo, precoceno I, também encontrado em *Ageratum houstonianum*, foi relatado como ativo contra diferentes bactérias (KURADE et al., 2010). O cariofileno, segundo principal constituinte do óleo, também apresenta atividade antibacteriana comprovada contra diversas cepas (DAHAM et al., 2015; DICKSON et al., 2023). Em modelo murino de infecção urinária causada por *E. coli*, o cariofileno promoveu redução significativa da carga bacteriana na urina e nos tecidos da bexiga (DICKSON et al., 2023). Além disso, estudos com espécies do gênero *Piper* confirmaram correlação entre altas concentrações de cariofileno e inibição do crescimento de *E. coli* e *S. aureus* (PERIGO et al., 2016).

Vale destacar que diferenças metodológicas, cepas utilizadas, local e época de coleta, bem como a forma de preparo das amostras (planta fresca ou seca), podem impactar os valores de CIM e CBM obtidos (VAN DE VEL et al., 2019). Em muitos casos, a ação antimicrobiana

dos óleos essenciais é potencializada pelo sinergismo entre seus constituintes bioativos, mais do que pela atuação isolada de um único composto.

Do ponto de vista terapêutico, a associação de óleos essenciais com antibióticos convencionais tem sido proposta como alternativa promissora para o tratamento de infecções bacterianas, reduzindo resistência antimicrobiana e até mesmo custos de tratamento (MAJEED et al., 2023; APINUNDECHA et al., 2023).

O teste de citotoxicidade revelou que o óleo essencial de *A. conyzoides* não exerceu efeito deletério significativo sobre as células RAW 264.7, mesmo em concentrações de 1000 µg/mL, reforçando seu caráter seguro e ampliando as perspectivas para seu uso terapêutico.

5. CONCLUSÃO

- O extrato bruto e as frações de *Ageratum conyzoides* L. apresentaram atividade antimicrobiana significativa frente aos microrganismos avaliados *in vitro*, confirmando o potencial da espécie como fonte de moléculas bioativas.
- A fração acetato de etila demonstrou a melhor atividade antibacteriana, sugerindo que contém compostos chave relacionados ao efeito inibitório.
- A análise química permitiu identificar compostos majoritários e minoritários associados ao potencial antimicrobiano, destacando classes de metabólitos secundários com relevância farmacológica.
- A avaliação de citotoxicidade demonstrou que o óleo essencial e frações apresentam um perfil de segurança aceitável, não reduzindo significativamente a viabilidade celular em concentrações elevadas, o que reforça sua aplicabilidade terapêutica.
- O estudo estabelece uma base científica para futuros trabalhos que visem o isolamento, caracterização e aplicação de compostos de *A. conyzoides* L. no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos.
- *Ageratum conyzoides* L. mostrou-se como uma fonte promissora de biomoléculas, abrindo caminhos para aplicações na saúde pública e medicina veterinária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, F. A.; et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais contra cepas resistentes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, n. 5, p. 872-878, 2011.
- ALMEIDA, G. C.; et al. Atividade antibacteriana de extratos vegetais amazônicos. *Acta Amazonica*, v. 43, n. 3, p. 341-348, 2013.
- ALMEIDA, L. F.; et al. Plantas medicinais com ação antimicrobiana. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 1, p. 121-126, 2012.
- ALMEIDA, R. N. Psicofarmacologia: fundamentos práticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- ALMEIDA, R. N.; SOUZA, M. F.; MARÇAL, R. M. S. Métodos de avaliação da atividade antidepressiva de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 9, n. 1, p. 77-90, 1999.
- ALVES, E. O.; et al. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas contra *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 3, p. 331-338, 2012.
- ALVES, T. M. A.; et al. Atividade biológica de extratos de plantas e prospecção de substâncias bioativas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 10, n. 1, p. 31-54, 2000.
- ANDRADE, A. M.; et al. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais brasileiras. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 17, n. 2, p. 365-372, 2015.
- ANDRADE, L. N.; et al. Efeito de óleos essenciais no crescimento de *Salmonella enterica*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 3, p. 357-362, 2012.
- ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. G. Óleos essenciais no controle de fitopatógenos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 15, n. 4, p. 693-699, 2013.
- ANDRADE, M. A.; et al. Composição química e atividade antibacteriana de óleos essenciais. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 22, n. 1, p. 111-118, 2012.
- ANDRADE, T. U.; et al. Óleos essenciais como alternativas ao uso de antibióticos. *Ciência Rural*, v. 42, n. 6, p. 1125-1131, 2012.
- ARAÚJO, C. A. C.; LEON, L. L. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, n. 5, p. 723-728, 2001.
- ARAÚJO, F. G.; et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais sobre cepas de *Escherichia coli*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 2, p. 288-292, 2012.
- ARAÚJO, T. S.; et al. Efeito de óleos essenciais sobre *Salmonella* spp. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 34, n. 4, p. 294-300, 2012.

- BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, v. 61, n. 1, p. 1-10, 2000.
- BARBOSA, F. F.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular contra bactérias multirresistentes. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 38, n. 4, p. 499-503, 2002.
- BARBOSA, L. C. A.; et al. Composição química de óleos essenciais de plantas do Cerrado. *Química Nova*, v. 32, n. 2, p. 276-281, 2009.
- BARRETO, S. C. S.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas do cerrado. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 2, p. 236-241, 2012.
- BATISTA, J. S.; et al. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana de óleos essenciais frente a *Staphylococcus aureus*. *Ciência Animal Brasileira*, v. 13, n. 2, p. 185-191, 2012.
- BATISTA, L. F.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos vegetais frente a microrganismos patogênicos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, n. 2, p. 226-232, 2006.
- BIONDO, R.; et al. Óleos essenciais e compostos voláteis: potencial terapêutico. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 2, p. 283-291, 2010.
- BOLIGON, A. A.; et al. Análise fitoquímica de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 1, p. 1-10, 2010.
- BORGES, J. C.; et al. Plantas medicinais com atividade antimicrobiana. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, n. 2, p. 238-244, 2011.
- BOURGADE, F.; et al. Antimicrobial activity of essential oils. *Phytotherapy Research*, v. 19, p. 647-651, 2005.
- BRAGA, F. G.; et al. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas do cerrado. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 1, p. 1-7, 2007.
- BRAGA, P. C.; et al. Antimicrobial activity of essential oils. *Phytomedicine*, v. 16, n. 3, p. 283-290, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 62, de 29 de dezembro de 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- BRITO, F. A.; et al. Ação antibacteriana de óleos essenciais frente a patógenos alimentares. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 36, n. 1, p. 106-112, 2012.
- BUENO, P. R.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 39, n. 2, p. 211-215, 2003.

- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 94, p. 223-253, 2004.
- CARVALHO, R. S.; et al. Efeito de óleos essenciais sobre bactérias de interesse clínico. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 44, p. 135-140, 2013.
- CASTRO, L. R.; et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 2, p. 551-556, 2012.
- CAVALCANTE, A. A.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de espécies vegetais do cerrado. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 2, p. 236-240, 2007.
- CAVALCANTE, R. M.; et al. Análise fitoquímica e atividade antibacteriana de extratos de plantas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 1, p. 33-39, 2008.
- CAVALCANTI, S. C. H.; et al. Composição e atividade antibacteriana de óleos essenciais frente a cepas multirresistentes. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 21, n. 5, p. 865-872, 2011.
- CHAVES, T. P.; et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas da família Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 2A, p. 280-285, 2009.
- CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicinal Chemistry*, v. 5, n. 1, p. 1-21, 2017.
- COSTA, E. V.; et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, v. 22, n. 2, p. 123-129, 2010.
- COSTA, S. S.; et al. Plantas medicinais de uso popular: potencial farmacológico. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 6, p. 831-840, 2010.
- CRUZ, E. M. O.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais contra bactérias multirresistentes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, n. 2, p. 343-348, 2011.
- CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 26, n. 5, p. 343-356, 2005.
- DANTAS, M. C. S.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, n. 3, p. 408-412, 2006.
- DAVIDSON, P. M.; TAYLOR, T. M.; SCHMIDT, S. E. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 3. ed., p. 713-745, 2007.
- DEANS, S. G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, v. 5, p. 165-180, 1987.
- DELGADO, C. A.; et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants. *Industrial Crops and Products*, v. 29, p. 273-278, 2009.

- DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, v. 88, p. 308-316, 2000.
- DRUMOND, M. F.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas nativas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 3, p. 412-418, 2012.
- DUARTE, M. C. T.; et al. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, n. 2, p. 193-198, 2006.
- DUARTE, R. S.; et al. Multidrug resistant *Staphylococcus aureus* strains in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, n. 3, p. 321-326, 2009.
- EVARISTO, I. M.; et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas do cerrado. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 4, p. 636-641, 2008.
- FANK, C. M.; et al. Análise química e atividade antibacteriana de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 4, p. 888-893, 2009.
- FERNANDES, E. S.; et al. Antibacterial activity of essential oils from plants of the Lamiaceae family. *Phytotherapy Research*, v. 21, n. 9, p. 884-886, 2007.
- FERREIRA, F. D.; et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 43, n. 1, p. 123-129, 2012.
- FERREIRA, J. S.; et al. Plantas medicinais com potencial antimicrobiano. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 2, p. 542-547, 2012.
- FIDALGO, M. A. O.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas nativas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 2, p. 200-206, 2010.
- FIGUEIREDO, A. S.; et al. Avaliação de plantas medicinais contra microrganismos resistentes. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 23, n. 1, p. 211-217, 2013.
- FONSECA, F. N.; et al. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais da Amazônia. *Acta Amazonica*, v. 42, n. 3, p. 395-402, 2012.
- FONSECA, Y. M.; et al. Atividade antibacteriana de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 2, p. 246-250, 2007.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2008.
- FREIRE, C. M. M.; et al. Antimicrobial activity of essential oils. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 16, n. 1, p. 35-40, 2006.
- FREITAS, A. F.; et al. Uso de óleos essenciais na conservação de alimentos. *Food Research International*, v. 44, p. 195-201, 2011.
- FREITAS, J. R.; et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from native species. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 23, n. 2, p. 250-257, 2013.

- FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Plantas medicinais de uso popular no Brasil: aspectos de segurança e eficácia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, n. 1, p. 28-35, 2006.
- GARCIA, R. A.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de espécies da família Asteraceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, n. 1, p. 145-150, 2011.
- GAZIM, Z. C.; et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Ageratum conyzoides* L. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 41, p. 198-203, 2010.
- GIACOMETTI, D. C.; et al. Plantas medicinais com atividade antimicrobiana. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 3, p. 420-425, 2008.
- GOMES, D. N.; et al. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais brasileiras. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 23, n. 2, p. 234-239, 2013.
- GOMES, M. R. F.; et al. Antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 17, n. 1, p. 40-44, 2007.
- GUEDES, A. C.; et al. Atividade antibacteriana de plantas medicinais do Cerrado. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 1, p. 141-147, 2012.
- GUIMARÃES, A. G.; et al. Óleos essenciais no controle de bactérias patogênicas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 2, p. 384-389, 2009.
- GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, v. 124, p. 91-97, 2008.
- HARBOURNE, N.; et al. Impact of plant essential oils on food spoilage microorganisms. *Food Research International*, v. 44, p. 2647-2654, 2011.
- HAY, R. K. M.; WATERMAN, P. G. Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production. New York: Wiley, 1993.
- HOLLEY, R. A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, v. 22, p. 273-292, 2005.
- ITO, I. Y.; et al. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais brasileiras. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 2, p. 267-271, 2008.
- JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. Modern food microbiology. 7. ed. New York: Springer, 2005.
- JIANG, Y.; et al. Antibacterial activities of essential oils on foodborne pathogens. *Molecules*, v. 16, n. 11, p. 9697-9707, 2011.
- JIMENEZ, A.; et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils. *Planta Medica*, v. 77, n. 3, p. 249-256, 2011.
- JONES, F. A. Herbs useful plants. *Pharmaceutical Journal*, v. 259, p. 132-138, 1997.

- KIM, J.; MARSHALL, M. R.; WEI, C. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 43, p. 2839-2845, 1995.
- KIM, S. I.; et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from plants. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 17, n. 9, p. 1478-1483, 2007.
- KUMAR, A.; et al. Antimicrobial properties of essential oils: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2011.
- KUSUMA, I. W.; et al. Antimicrobial activities of essential oils against foodborne pathogens. *Journal of Essential Oil Research*, v. 22, n. 5, p. 423-429, 2010.
- LAMBERT, R. J.; et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil. *Journal of Applied Microbiology*, v. 91, p. 453-462, 2001.
- LEE, H. S. Fungicidal property of active component isolated from cinnamon oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 7423-7428, 2005.
- LIMA, A. L.; et al. Efeito de óleos essenciais no crescimento bacteriano. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 23, n. 1, p. 215-221, 2013.
- LIMA, C. M.; et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of Brazilian flora. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 23, n. 1, p. 193-199, 2013.
- LIMA, E. O.; et al. Composição química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 4, p. 581-586, 2007.
- LOPES, L. C.; et al. Uso de óleos essenciais como conservantes naturais. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 15, n. 3, p. 220-226, 2012.
- LOPES, N. P.; et al. Flavonoids: structure and biological activity. *Química Nova*, v. 20, n. 6, p. 650-654, 1997.
- LUCAS, A. M.; et al. Plantas medicinais com uso popular no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 2, p. 534-541, 2012.
- LUCENA, D. R.; et al. Uso de óleos essenciais no controle de microrganismos de interesse alimentar. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 33, n. 2, p. 207-213, 2013.
- MAIA, J. G. S.; et al. Essential oils of the Amazon—chemical composition and antimicrobial activity. *Acta Amazonica*, v. 34, n. 1, p. 27-34, 2004.
- MARTINS, D. T. O.; et al. Uso tradicional e avaliação farmacológica de espécies medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 15, n. 3, p. 398-405, 2013.
- MARTINS, M. R.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 2, p. 267-271, 2008.

- MARTINS, R. L.; et al. Plantas medicinais utilizadas no Brasil com potencial antimicrobiano. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, n. 1, p. 58-63, 2006.
- MATHUR, A.; et al. Antimicrobial activity of essential oils from spices. *Phytotherapy Research*, v. 21, n. 12, p. 1142-1144, 2007.
- MATTOS, M. R.; et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 43, n. 2, p. 592-598, 2012.
- MELO, A. S.; et al. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais e óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 3, p. 398-403, 2007.
- MENDES, S. J.; et al. Uso de plantas medicinais como antimicrobianos. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 22, n. 1, p. 201-207, 2012.
- MICHELIN, D. C.; et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 1, p. 25-30, 2005.
- MIRANDA, F. A.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 3, p. 422-427, 2008.
- MONTEIRO, M. V. B.; et al. Plantas medicinais no semiárido brasileiro: potencial terapêutico. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 6, p. 742-749, 2010.
- MORAES, T. D.; et al. Composição química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, n. 2, p. 236-241, 2006.
- MOREIRA, M. R.; et al. Effects of essential oils on pathogenic bacteria. *Food Science and Technology International*, v. 11, p. 235-240, 2005.
- MOTA, R. A.; et al. Uso de plantas medicinais no controle de doenças infecciosas. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, v. 9, n. 2, p. 67-73, 2006.
- MOURA, L. A.; et al. Plantas medicinais do Nordeste: usos e aplicações. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 16, n. 1, p. 44-50, 2014.
- MOURA, M. R.; et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais contra cepas multirresistentes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 2, p. 566-572, 2012.
- NAKAMURA, C. V.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 2, p. 120-125, 2005.
- NASCIMENTO, A. M.; et al. Uso de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil: aspectos de segurança e eficácia. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 18, n. 1, p. 105-112, 2016.
- NASCIMENTO, G. G. F.; et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 31, n. 4, p. 247-256, 2000.
- NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Effect of essential oils on insects: repellent and toxic properties. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 372-378, 2010.

- NUNES, G. P.; et al. Plantas medicinais utilizadas na medicina popular do cerrado. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 13, p. 21-25, 2003.
- OLIVEIRA, C. B.; et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de óleos essenciais. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 21, n. 6, p. 932-938, 2011.
- OLIVEIRA, D. R.; et al. Composição química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 2, p. 246-252, 2007.
- OLIVEIRA, F. Q.; et al. Antimicrobial activity of essential oils and extracts. *Phytomedicine*, v. 13, n. 2-3, p. 288-294, 2006.
- OLIVEIRA, J. R.; et al. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente a microrganismos orais. *Brazilian Oral Research*, v. 27, n. 2, p. 109-115, 2013.
- OLIVEIRA, R. A. G.; et al. Atividade antibacteriana de extratos vegetais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 1, p. 25-30, 2005.
- OLIVEIRA, R. B.; et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 18, n. 2, p. 267-271, 2008.
- OLIVEIRA, V. M.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais contra bactérias multirresistentes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 4, p. 541-545, 2010.
- PACHECO, M. A.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais da Caatinga. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, n. 6, p. 939-945, 2011.
- PEREIRA, A. P.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas do Cerrado. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, n. 5, p. 880-885, 2011.
- PEREIRA, C. A.; et al. Avaliação de óleos essenciais frente a *Candida albicans*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, n. 6, p. 950-955, 2011.
- PEREIRA, E. M.; et al. Efeito de óleos essenciais sobre *Candida albicans*. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 44, p. 112-118, 2013.
- PEREIRA, J. R.; et al. Plantas medicinais: uso e importância. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 2, p. 568-573, 2009.
- PEREIRA, R. L.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 15, n. 2, p. 333-339, 2013.
- PEREIRA, V. S.; et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 3, p. 365-372, 2012.
- PESSINI, G. L.; et al. Antimicrobial activity of medicinal plants. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 34, n. 1, p. 33-38, 2003.
- PINTO, E.; et al. Antifungal activity of essential oils against *Candida* species. *Journal of Applied Microbiology*, v. 95, p. 853-860, 2003.

- PINTO, J. A. O.; et al. Composição química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 4, p. 585-590, 2008.
- PLOEGER, H. W. Anthelmintic resistance: state of play and new tools for monitoring. *Veterinary Parasitology*, v. 125, p. 37-50, 2004.
- PRABUSEENIVASAN, S.; JAYAKUMAR, M.; IGNACIMUTHU, S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 6, p. 39, 2006.
- QUEIROZ, V. T.; et al. Plantas medicinais no controle de doenças infecciosas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 3, p. 281-287, 2005.
- RAJKUMAR, S.; et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 107, n. 2, p. 206-210, 2006.
- RAMOS, A. L.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 3, p. 422-427, 2008.
- RANJBAR, R.; et al. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Iranian Journal of Public Health*, v. 36, n. 1, p. 47-53, 2007.
- RAVICHANDRAN, V.; et al. In vitro antibacterial activity of essential oils against multidrug-resistant bacteria. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, v. 5, n. 1, p. 24-27, 2012.
- REIS, R. A.; et al. Plantas medicinais e antimicrobianos naturais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 5, p. 742-748, 2010.
- RIBEIRO, V. L. S.; et al. Efeito de óleos essenciais no controle de helmintos gastrintestinais em ovinos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 19, n. 1, p. 54-60, 2010.
- ROCHA, M. F.; et al. Uso de óleos essenciais como alternativas terapêuticas. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 20, n. 6, p. 998-1004, 2010.
- RODRIGUES, F. F. G.; et al. Atividade antibacteriana de extratos de plantas contra patógenos multirresistentes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 2, p. 588-593, 2008.
- RODRIGUES, I. M. C.; et al. Plantas medicinais utilizadas no semiárido nordestino. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 2, p. 342-348, 2009.
- RODRIGUES, L. B.; et al. Composição química e efeito antimicrobiano de óleos essenciais. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 41, p. 476-481, 2010.
- ROSARIO, M. M.; et al. Antibacterial properties of Brazilian plant extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 1, p. 51-58, 2012.
- ROSARIO, M. M.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a bactérias patogênicas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, n. 3, p. 420-427, 2011.

- ROSÁRIO, C. J. R. M.; et al. Anti-Ehrlichia properties of the essential oil of *Ageratum conyzoides* L. and its interaction with doxycycline. *AMB Express*, v. 9, n. 1, p. 58, 2019.
- SANTOS, A. F.; et al. Potencial antimicrobiano de extratos vegetais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 1, p. 110-115, 2008.
- SANTOS, F. A.; et al. Uso de óleos essenciais no controle de bactérias multirresistentes. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 42, p. 110-116, 2011.
- SANTOS, J. C.; et al. Composição química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de espécies do Cerrado. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 33, n. 3, p. 263-269, 2011.
- SANTOS, M. R.; et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 3, p. 400-406, 2007.
- SANTOS, V. F.; et al. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais frente a *Staphylococcus aureus*. *Ciência Rural*, v. 39, n. 4, p. 1239-1245, 2009.
- SARAIVA, M. E.; et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 21, n. 4, p. 621-626, 2011.
- SILVA, F. A.; et al. Plantas medicinais: aspectos químicos e farmacológicos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 2, p. 456-463, 2009.
- SILVA, J. G.; et al. Composição química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas da Caatinga. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 2, p. 242-246, 2008.
- SILVA, L. V.; et al. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas nativas brasileiras. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 20, n. 3, p. 512-517, 2010.
- SILVA, M. L.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 3, p. 398-403, 2007.
- SILVA, R. A.; et al. Plantas medicinais do semiárido: uso e potencial terapêutico. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 12, n. 2, p. 234-240, 2010.
- SILVA, T. B.; et al. Plantas medicinais e fitoterápicos: uso racional. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 48, n. 1, p. 85-92, 2012.
- SILVEIRA, R. D.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais contra bactérias de importância clínica. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 44, p. 112-118, 2013.
- SIMÕES, C. M. O.; et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2010.
- SOARES, B. V.; et al. Efeito de óleos essenciais sobre bactérias resistentes. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 41, n. 4, p. 106-112, 2010.
- SOUZA, A. A.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de espécies nativas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 1, p. 122-127, 2008.

- SOUZA, E. L.; et al. Influence of essential oils on *Escherichia coli* growth. *Journal of Applied Microbiology*, v. 95, n. 1, p. 138-145, 2003.
- SOUZA, L. F.; et al. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais da Caatinga. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 22, n. 4, p. 456-462, 2012.
- SOUZA, S. M.; et al. Plantas medicinais utilizadas como antimicrobianos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 2, p. 321-327, 2009.
- STEFANI, R.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a microrganismos patogênicos. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 42, p. 47-53, 2011.
- TAKAO, T.; et al. Antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 95, n. 2, p. 345-350, 2004.
- TEIXEIRA, A. B.; et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from native plants. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 23, n. 2, p. 278-285, 2013.
- TELES, A. M.; et al. Characterization of antibacterial, antioxidant, and antitrypanosomal activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and eugenol. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2021, p. 6663255, 2021.
- TELES, C. C. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 4, p. 451-458, 2010.
- TELES, C. C.; et al. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 2, p. 487-493, 2009.
- TESSER, C. D.; et al. Práticas integrativas no SUS: desafios para a legitimação. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 12, n. 3, p. 679-689, 2007.
- TORRES, A. C.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana de óleos essenciais de espécies nativas. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 19, n. 3, p. 333-338, 2009.
- TORRES, R. C.; et al. Plantas medicinais com atividade antimicrobiana. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 13, n. 2, p. 143-149, 2011.
- VASCONCELOS, J. N.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais de espécies da Amazônia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 6, p. 890-896, 2010.
- VENTURINI, C. L.; et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 39, p. 521-526, 2008.
- VILA, R.; et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils. *Phytomedicine*, v. 9, n. 5, p. 456-462, 2002.
- VITALI, L. A.; et al. Antibacterial activity of essential oils on multi-resistant bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, v. 103, n. 2, p. 267-273, 2007.

WANNISSORN, B.; et al. The antimicrobial activity of some essential oils. *Phytotherapy Research*, v. 13, n. 4, p. 398-400, 1999.

WATT, J. M.; BREYER-BRANDWIJK, M. G. The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa. London: E. & S. Livingstone, 1962.

WHO – World Health Organization. Traditional medicine strategy: 2014–2023. Geneva: WHO, 2013.

WILLIAMS, P.; et al. The use of plant essential oils in veterinary medicine. *Veterinary Journal*, v. 170, p. 90-97, 2005.

XAVIER, J. A.; et al. Efeito de óleos essenciais sobre bactérias patogênicas. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 45, p. 327-333, 2014.

YANG, J.; et al. Antibacterial activity of plant extracts against Gram-negative bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 109, n. 2, p. 412-418, 2006.

ZANINI, S. F.; et al. Uso de óleos essenciais na produção animal. *Ciência Rural*, v. 36, n. 1, p. 276-281, 2006.

ZARAI, Z.; et al. Antibacterial and antioxidant activities of essential oils. *Journal of Food Science*, v. 75, n. 6, p. M364-M368, 2010.

ZHANG, H.; et al. Antimicrobial activity of essential oil components. *Food Microbiology*, v. 26, n. 8, p. 773-778, 2009.

ZHU, X. Y.; et al. Antibacterial activity of essential oils from plants against foodborne pathogens. *Molecules*, v. 15, n. 6, p. 3982-3990, 2010.

ZIGANG, L.; et al. Plant essential oils as natural preservatives. *Food Chemistry*, v. 112, n. 3, p. 602-606, 2009.

ZORZETTO, C.; et al. Composição química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais da Amazônia. *Acta Amazonica*, v. 39, n. 2, p. 389-396, 2009.

ZYGMUNT, B.; et al. Effects of plant extracts on resistant bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 120, n. 3, p. 474-479, 2008.

ANEXOS

Original Article

In vitro antibacterial activity of the essential oil of *Ageratum conyzoides* from the Brazilian Amazon

Atividade antibacteriana in vitro do óleo essencial de *Ageratum conyzoides* da Amazônia Brasileira

C. A. A. Lima^a , C. J. R. M. Rosário^b , R. C. Almeida^c , J. V. S. Lindoso^c , A. M. Teles^b , A. S. Lima^d ,
J. G. Pereira^c , C. Q. Rocha^e  and F. A. Melo^{a,c,*} 

^aUniversidade Estadual do Maranhão – UEMA, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, São Luís, MA, Brasil

^bUniversidade Estadual do Maranhão – UEMA, Programa de Pós-graduação Profissional em Defesa Sanitária Animal, São Luís, MA, Brasil

^cUniversidade Estadual do Maranhão – UEMA, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, São Luís, MA, Brasil

^dUniversidade Estadual do Maranhão – UEMA, Programa de Pós-graduação em Agroecologia, São Luís, MA, Brasil

^eUniversidade Federal do Maranhão – UFMA, Programa de Pós-graduação em Química, São Luís, MA, Brasil

Abstract

Natural products, specifically essential oils (EOs), have exhibited significant biological properties with potential medical applications. In this context, the aim of this study was to analyze the chemical composition and the antibacterial, antioxidant, and cytotoxic activities of the EO of *Ageratum conyzoides* from the municipality of Santa Rita, Maranhão, in the Brazilian Amazon. The EO was extracted from the fresh aerial parts of *A. conyzoides* L. using the hydrodistillation method and the oil was analyzed using a GCMS-QP2010 Ultra system. Standard strains of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* were used to determine antibacterial activity using the minimum inhibitory concentration (MIC) method and minimum bactericidal concentration (MBC). The antioxidant potential of the EO of *A. conyzoides* was evaluated using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) free radical scavenging assays. The main constituents found in the oil were precocene I (79.85%) and (E)-caryophyllene (13.55%). The bacteriostatic efficacy of *A. conyzoides* EO's estimated by MIC and MBC was between 31.25 and 250 µg/mL. Gram-negative bacteria (*S. typhimurium* and *E. coli*) were the most resistant. The IC₅₀ values obtained from the DPPH and ABTS assays were 287.94 ± 7.02 µg/mL and 132.23 ± 15.41 µg/mL, respectively. The results show that the essential oil of *A. conyzoides* has promising antibacterial activity, especially against Gram-positive bacteria.

Keywords: antibacterial, antioxidant activity, pre-

cocene I, (E)-caryophyllene.

Resumo

Produtos naturais, especificamente os óleos essenciais (OEs), têm exibido significativas propriedades biológicas, com potenciais aplicações médicas. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi analisar a composição química e as atividades antibacteriana, antioxidante e citotóxica do OE de *Ageratum conyzoides* proveniente do município de Santa Rita, Maranhão, na Amazônia brasileira. O OE foi extraído das partes aéreas frescas de *A. conyzoides* L. usando o método de hidrodestilação, e o óleo foi analisado utilizando um sistema GCMS-QP2010 Ultra. Cepas padrão de *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* foram utilizadas para determinar a atividade antibacteriana utilizando os métodos de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM). O potencial antioxidante do OE de *A. conyzoides* foi avaliado utilizando ensaios de eliminação de radicais livres 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS). Os principais constituintes encontrados no óleo foram precoceno I (79,85%) e (E)-cariofileno (13,55%). A eficácia bacteriostática do OE de *A. conyzoides*, estimada por CIM e CBM, variou entre 31,25 e 250 µg/mL. As bactérias Gram-negativas (*S. typhimurium* e *E. coli*) foram as mais resistentes. Os valores de IC₅₀ obtidos nos ensaios de DPPH e ABTS foram 287,94 ± 7,02 µg/mL e 132,23 ± 15,41 µg/mL, respectivamente. Os resultados indicam que o óleo essencial de *A. conyzoides* apresenta atividade antibacteriana promissora, especialmente contra bactérias Gram-positivas.

Palavras-chave: antibacteriano, atividade antioxidante, precoceno I, (E)-cariofileno.

*e-mail: ferdinanalmeida.uema@gmail.com

Received: September 14, 2024 – Accepted: February 9, 2025

Editor: Ana Paula Peron



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. Introduction

Medicinal plants provide antibacterial compounds from their secondary metabolites and can be a good substitute for traditional synthetic or semi-synthetic chemical antibiotics, as well as overcoming multi-resistant bacteria (Voravuthikunchai and Kitpipit, 2005; Othman et al., 2019; Gorlenko et al., 2020). Thus, many antibiotics were initially isolated from natural sources (Rossiter et al., 2017). These plant-derived metabolites not only exhibit effective antibacterial action against resistant strains, but also play an important role in reducing bacterial resistance, offering a promising approach to combating resistance (Foda et al., 2022).

The use of herbal medicines can help reduce dependence on antibiotic therapies and minimize antibiotic resistance. Various plant antimicrobials contain different functional groups, their antibacterial activity is attributed to multiple mechanisms. Therefore, the prospect of developing resistance to plant constituents is relatively lower (Allami et al., 2020).

Essential oils (EOs) are considered to be potential natural antimicrobial agents. Studies have reported their efficacy as having a broad spectrum of antimicrobial activity against various pathogenic microorganisms, which is attributed to their bioactive constituents (Voon et al., 2012). In addition to their antimicrobial efficacy, EOs exhibit a lower potential for adverse reactions compared to synthetic drugs, supporting the development of alternative antimicrobial strategies (Gautam et al., 2014; Soares et al., 2022; Elbestawy et al., 2023).

Ageratum conyzoides Linnaeus (Asteraceae) is a tropical plant very common in West Africa and some parts of Asia and South America. It is a medicinal plant known for its pharmacological and antimicrobial activity. Recent studies have shown that the leaves of *A. conyzoides* have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, and *Escherichia coli* (Sugara et al., 2016; Mentari et al., 2020; Achmad et al., 2020).

Ageratum conyzoides is a plant that produces essential oil with a strong odor in which chemical analysis in different regions has shown a significant variation in its chemical composition. Geographical variations have a major impact on the quantity and/or quality of the chemical constituents of EOs, and the chemical composition of EOs can also vary according to the part of the plant studied (Kouame et al., 2018).

The essential oil of *A. conyzoides* contains mainly terpinene-4-ol, bornyl acetate, E-caryophyllene, γ -murolene, δ -cadinene, α -murolene, caryophyllene oxide, α -humulene, precocene I and II. The precocenes are the majority compounds in the oil, ranging from 30 to 93% (Castro et al., 2004).

This study aimed to investigate the chemical composition, as well as the antibacterial, antioxidant, and cytotoxic activities, of the EO extracted from the aerial parts of *A. conyzoides* originating in the municipality of Santa Rita, Maranhão, northeastern Brazil.

2. Materials and Methods

2.1. Plant material and oil extraction

The aerial parts of *A. conyzoides* were collected in March 2022 in the municipality of Santa Rita, state of Maranhão (MA), Northeast region of Brazil (latitude 3°08'37.0"S and longitude 44°19'33.0"W), located in the Brazilian Amazon. Access to the specimen was registered under N° AA834D0 in the National System for the Management of Genetic Heritage and Associated Traditional Knowledge. The exsiccate containing the aerial organs of the plant species was prepared and identified by Botanist Dr. Eduardo Bezerra Almeida Junior and deposited in the Mar Herbarium of the Federal University of Maranhão under registration number 9099. The essential oil was extracted from the aerial parts (300 g) of fresh *A. conyzoides* plants by the hydrodistillation method (3 h) using a Clevenger-type apparatus. The oil was dried over anhydrous sodium sulfate and its yield was calculated (v/w).

2.2. Oil composition analysis

Oil analysis was performed using a Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) QP2010 Ultra system (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan), equipped with GCMS-Solution software containing the Mondello (2011) and Adams (2007) libraries. An Rxi-5ms silica capillary column (30m x 0.25 mm, 0.25 μ m film thickness; Restek Corporation, Bellefonte, PA, USA) was used. The analysis conditions were as follows: injector temperature of 250 °C; oven temperature programmed from 60 to 240 °C (3 °C/min); helium as carrier gas, set at a linear speed of 36.5 cm/s (1.0 mL/min); split mode injection for 1.0 μ l of sample (oil 6.0 μ L; hexane 500 μ L); split ratio 1:20; electron impact ionization at 70 eV; ionization source and transfer line temperature of 200 and 250 °C, respectively. The mass spectra were obtained by automatic scanning at intervals of 0.3 s, with mass fragments in the 35–400 m/z range.

The retention index for all the volatile components was calculated using a homologous series of C8–C40 n-alkanes (Sigma-Aldrich, USA), according to the linear equation of Van Den Dool and Kratz (1963). The quantitative data relating to the volatile components was obtained using a GC 2010 series, coupled with an FID Detector, operated under conditions similar to those of the GC-MS system. The components were identified by comparing their retention indices and mass spectra (molecular mass and fragmentation pattern) with those in the GCMS-Solution system libraries.

2.3. Antimicrobial activity

2.3.1. Bacterial strains and culture conditions

Standard strains of *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Bacillus cereus* (ATCC 14579), and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), supplied by the Food and Water Quality Control Microbiology Laboratory of the Federal University of Maranhão (PCQA-UFMA), were used. The access was registered under the number A3FAD1C in the National System for the Management of

Genetic Heritage and Associated Traditional Knowledge. They were tested at a cell concentration of 1.5×10^8 CFU/mL following the McFarland scale, recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020).

2.3.2. Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC)

The bacterial suspension was standardized by adding a 24-hour culture to a tube containing sterile saline solution until it reached a turbidity equal to the suspension in tube 0.5 of the McFarland scale (approximately 1.5×10^8 CFU/mL), checked by the McFarland Scale Turbidity Meter for reading inoculums at 600 nm and Working Range 0 - 5.0 McFarland; gentamicin (128 to 1 µg/mL) was used as a positive control. The essential oil of *A. conyzoides* L. was prepared in a stock solution of Mueller-Hinton broth with 0.1% DMSO. In a sterile 96-well microplate, the essential oil of *A. conyzoides* L. was tested at concentrations of 1000 to 7.8 µg/mL against ATCC bacterial strains. Controls included (i) bacterial growth control, (ii) a commercial antimicrobial control, and (iii) a culture medium control. Immediately after plate assembly, incubation was carried out at 37 °C for 24 hours to allow microorganism growth.

Following the 24-hour incubation, 20 µL of a 3% resazurin solution was added to wells, and the microplate was incubated at 37 °C for an additional 2–4 hours. The final visual reading was then performed. A blue color in the wells was interpreted as the absence of bacterial growth, whereas a pink color as the presence of bacterial growth. The MIC was defined as the lowest concentration of *A. conyzoides* L. essential oil capable of inhibiting cell growth, i.e. the lowest concentration capable of preventing the color change from blue to pink. Each sample was tested in triplicate.

After determining the MIC, 100 µL were taken for subculture (in triplicate) on Sabouraud dextrose agar plates containing the concentration considered inhibitory and the immediately higher concentrations. After 48 hours of incubation at 37 °C, the minimum bactericidal concentration (MBC) was defined as the lowest concentration that prevented visible growth of the subculture.

2.4. Antioxidant activity

2.4.1. DPPH radical scavenging capacity assay

The radical scavenging activity of *A. conyzoides* essential oil against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) was evaluated according to a previously described method by Brand-Williams et al. (1995), with minor modifications. Briefly, 100 µL of the essential oil, prepared at various concentrations (ranging from 1000 to 7.8 µg/mL), dissolved and diluted in ethanol, were mixed with 3.0 mL of a 40 µg/mL ethanolic DPPH solution. The mixture was then kept in the dark at room temperature for 30 minutes, after which its absorbance was measured at 517 nm. Trolox was used as the standard, and the radical scavenging capacity of the essential oil was calculated as µg/mL Trolox equivalents (TE)/g of essential oil.

The antioxidant activity of *A. conyzoides* essential oil and Trolox was quantified by the concentration values that provided 50% inhibition (IC₅₀) in the DPPH assay. The radical scavenging capacity (%) was obtained using the following formula: $(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}/A_{\text{control}}) \times 100$, where A_{control} is the absorbance of the control and A_{sample} is the absorbance of the sample. After obtaining the inhibition percentage (y) for each concentration (x), the points (x and y) are plotted on a coordinate plane. Subsequently, the equation of the line $y = ax + b$ is determined through linear regression analysis, where a and b are constants, x represents the sample concentration (µg/mL), and y denotes the percentage of inhibition (%). The antioxidant activity is expressed as the 50% Inhibition Concentration (IC₅₀), specifically the sample concentration (x) required to reduce 50% of radicals ($y = 50$).

2.4.2. ABTS radical scavenging activity assay

The radical cation scavenging capacity of 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) by the essential oil of *A. conyzoides* was evaluated according to Re et al. (1999). The ABTS radical cation (3.0 mL), kept in the dark, was mixed with a 30 µL aliquot of various concentrations of the essential oil (1000 to 7.8 µg/mL) dissolved and diluted in ethanol, homogenized using a vortex mixer. After 6 minutes, the absorbance of the reaction mixture was measured with a spectrophotometer at a wavelength of 734 nm. Samples were prepared in triplicate. Trolox was used as a standard, and the results were calculated as µg/mL Trolox equivalents (TE)/g of essential oil. The antioxidant activity of *A. conyzoides* essential oil and Trolox by the ABTS assay was also reported as IC₅₀, as described for the DPPH assay.

2.5. Cytotoxicity assay

2.5.1. Cell culture

Assays were performed using RAW 264.7 murine macrophages cell line (ATCC TIB-71TM), cultured in DMEM supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) (Gibco, Gaithersburg, MD, USA), penicillin (100 U/mL) and streptomycin (100 µg/mL) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) at 37 °C with 5% CO₂ in 75 cm² cell culture flasks.

2.5.2. MTT assay

The cytotoxicity of the *A. conyzoides* EO was evaluated as described by Teles et al. (2021). Different concentrations of EO (1000 to 15.62 µg/mL) or gentamicin (64 µg/mL) were prepared by serial dilutions (1:2), and 100 µL per well of each concentration was added to 96-well plates containing RAW 264.7 cells (5×10^5 cells/mL). The experimental design included three control groups: a blank control (wells with culture medium without cells), an untreated control (cells and DMSO 1%), and a reference drug control (gentamicin). Following 24 hours of incubation, the cell viability was determined by reduction of MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). The resulting formazan was measured by recording absorbance changes at 570 nm using a spectrophotometer (Riss et al., 2013).

2.6 Statistical analysis

Statistical analyses were carried out using GraphPad Prism 7.0 software (GraphPad Software, La Jolla California USA). Student's t-test and analysis of variance (ANOVA) were used to compare the rate of inhibition of the microorganism and the treatment time analyzed. Differences with values of $P < 0.05$ were considered statistically significant.

3. Results

3.1. Chemical characterization of the essential oil of *A. conyzoides* L.

The essential oil of *A. conyzoides* was obtained by hydrodistillation with a yield of 0.7% (v/w). As presented in Table 1, ten constituents were identified and quantified by GC-MS, representing 98.45% of the total composition of the EO. The main constituents were precocene I (79.85%) and (E)-caryophyllene (13.55%).

3.2. Antimicrobial potential of the essential oil of *A. conyzoides* L.

The antimicrobial activity of the essential oil of *A. conyzoides* was evaluated using the microdilution method, tested against five pathogenic microorganisms. The estimated minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) values ranged from 31.25 to 250 µg/mL (as shown in Table 2).

Table 1. Compounds found in the essential oil of *Ageratum conyzoides* L.

Yield (%)	0.7		
Constituents (%)	RI _c	RI _L	
Isobornyl formate	1236	1235 ^a	0.2
Bornyl acetate	1290	1287 ^a	1.25
β-Cubebene	1395	1392 ^b	0.3
(E)-Caryophyllene	1432	1424 ^b	13.55
α-Humulene	1455	1452 ^a	0.3
Precocene I	1473	1464 ^b	79.85
γ-Amorphene	1496	1495 ^a	1.3
α-Murolene	1505	1500 ^a	0.5
β-Sesquiphellandrene	1530	1523 ^b	1.0
(E)-Nerolidol	1564	1561 ^a	0.2
Monoterpene hydrocarbons			-
Oxygenated monoterpenes			1.75
Sesquiterpene hydrocarbons			16.65
Oxygenated sesquiterpenes			0.2
Chromenes			79.85
Total (%)			98.45

RIC: Retention index calculated, RIL: Retention Index according to literature sources. ^aRetention index reported by Adams (2007); ^bRetention index reported by Mondello (2011).

3.3. Antioxidant activity

The antioxidant potential of *A. conyzoides* essential oil was evaluated using DPPH and ABTS free radical scavenging assays. The antioxidant activity results, measured by IC₅₀ values for *A. conyzoides* EO and Trolox, are presented in Table 3. In the DPPH and ABTS assays, the IC₅₀ values for *A. conyzoides* EO were determined to be 287.94 ± 7.02 µg/mL and 132.23 ± 15.41 µg/mL, respectively. In comparison, Trolox, used as the antioxidant standard, exhibited IC₅₀ values of 10.14 ± 0.0003 µg/mL (DPPH) and 4.055 ± 0.0004 µg/mL (ABTS), indicating that the studied EO demonstrated a significantly lower capacity to reduce free radical concentration. In the DPPH and ABTS assays, the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) of *A. conyzoides* EO was 196.11 ± 16.41 µg trolox/g and 1087 ± 4.94 µg trolox/g, respectively (as shown in Table 3).

3.4. Cytotoxicity

We assessed the viability of RAW 264.7 cells exposed to different concentrations of the tested treatment. No toxicity was observed at the highest concentration (1000 µg/mL) when compared with the negative control group, as demonstrated by the absence of significant differences in cell viability observed in Figure 1.

4. Discussion

The main constituents observed were precocene I (79.85%) and (E)-caryophyllene (13.55%), results consistent with the findings reported by Furtado et al. (2005), Martins et al. (2005), and Rosário et al. (2023). However, the chemical composition of the essential oil is quite variable, exhibiting both quantitative and qualitative differences. This variability arises because the plant's physiological processes fluctuate throughout the

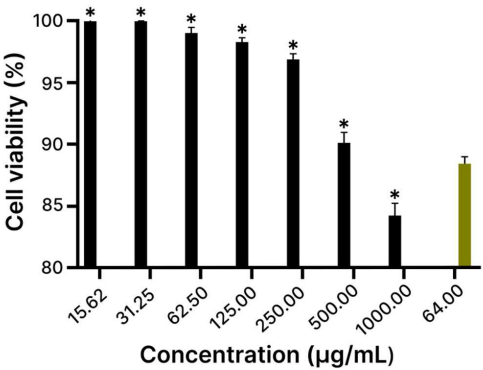


Figure 1. Cytotoxic effect of *Ageratum conyzoides* L. essential oil (15.62 to 1000 µg/mL, black bars) and gentamicin (64 µg/mL, green bar) on murine macrophages RAW 264.7 cell line for 24 hours, evaluated by cell viability. Each row represents mean and standard deviation of three independent assays. Where $P > 0.05$ demonstrated that there was no statistically significant difference in relation to the control group according to the unpaired Student's t-test with a 95% confidence index.

Table 2. MIC and MBC values of *Ageratum conyzoides* L. essential oil on different bacterial cultures after 24 hours of treatment.

Samples Analyzed	MIC/MBC (µg/mL)				
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>
EO of <i>A. conyzoides</i>	250/250	250/250	31.25/31.25	31.25/31.25	62.50/125
Gentamicin	16.0	16.0	16.0	32.0	64.0

year, leading to changes in the concentration of active components across different seasons. External factors such as temperature, rainfall, wind, soil, latitude, altitude and season significantly affect the production and yield of these compounds (Neves et al., 2021).

It is likely that the compounds found in *A. conyzoides* L. act in different ways against microorganisms, meaning that their antimicrobial activity is not related to a single mechanism of action but rather involves multiple targets in the bacterial cell (Tariq et al., 2019). The most widely accepted idea is that essential oils develop their action against bacteria through interaction with the cell membrane, including electron transport, ion gradients, protein translocation, phosphorylation and other enzyme-dependent reactions (Andrade-Ochoa et al., 2021).

The yield obtained in this study differs from those reported in the literature for the essential oils of the species *A. conyzoides* L. Patil et al. (2010), Liu and Liu (2014), and Lima et al. (2014) found values of 0.18%, 0.11% and 0.46% (w/w), respectively. These differences may be related to the methodology used in the extraction and the collection site. Castro et al. (2004) when evaluating *A. conyzoides* essential oil extracted from five different locations, obtained contents ranging from 0.48% to 0.70%. Other authors such as Vieira et al. (2012), Kumar et al. (2016), and Gutiérrez et al. (2021) found yields of 0.46%, 0.1% and 0.26% respectively. This is mainly due to the different climate, sunlight, relative humidity and soil type.

In the present study, *A. conyzoides* L. essential oil inhibited the growth of all bacteria tested, especially Gram-positive bacteria (*S. aureus*, *L. monocytogenes* and *B. cereus*), as evidenced by MIC values of 31.25 to 62.50 µg/mL. This corroborates findings from previous research conducted in diverse geographic regions with this plant species. For instance, Kouame et al. (2018) observed similar antibacterial activity in plants collected in western Ivory Coast, while Quoc (2020) reported analogous results in Vietnam.

Gram-negative bacteria, such as *S. typhimurium* and *E. coli*, exhibited the highest resistance to the tested essential oil. This observation is consistent with the findings of previous studies, which have attributed the higher resistance of Gram-negative cells to the greater structural complexity of their cell envelope (Swamy et al., 2016; Silva et al., 2021). This complexity is characterized by a relatively thin peptidoglycan layer underlying an outer membrane composed of glycolipids, mainly lipopolysaccharides (Silhavy et al., 2010), which exhibit a hydrophilic nature that selectively limits the diffusion of hydrophobic compounds from EOs (Tariq et al., 2019). Implying a differential sensitivity profile between Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Table 3. Antioxidant activity of *Ageratum conyzoides* L. essential oil. Mean values of triplicates ± standard deviation. Means followed by different letters in the same column differ statistically ($P < 0.05$) by the Unpaired t-test.

Samples	IC ₅₀ (µg/mL)	
	DPPH	ABTS
Essential oil	287.94 ^a ± 7.02	132.23 ^a ± 15.41
Trolox	10.14 ^b ± 0.0003	4.055 ^b ± 0.0004
Sample	Antioxidant activity (µg trolox/g)	
Essential oil	196.11 ± 16.41	1087 ± 4.94

Mean values of triplicates ± standard deviation. Means followed by different letters in the same column differ statistically ($P < 0.05$) by the Unpaired t-test.

Kurade et al. (2010) had already reported that *Ageratum houstonianum*, which also contains precocene I as one of its major compounds, has demonstrated proven antibacterial activity. Studies have also been conducted to confirm the antibacterial activity of caryophyllene (the second major compound of EO *A. conyzoides*) against various bacterial strains (Dahham et al., 2015; Dickson et al., 2023).

As reported by Dahham et al. (2015), β-caryophyllene exhibited antibacterial activity against six bacterial strains, including *S. aureus* (MTCC 7405) and *B. cereus* (MTCC 1307). In a murine model of urinary tract infection (UTI) by the uropathogenic strain of *E. coli* CFT073 (ATCC 700928), antibacterial effects of caryophyllene were observed, with a significant reduction in bacterial load in the urine and bladder tissue of treated animals (Dickson et al., 2023).

Perigo et al. (2016) investigated the correlation between the chemical composition of essential oils from plants of different species of the genus *Piper* and their biological activity, demonstrating that the presence of high concentrations of trans-caryophyllene was linked to the inhibition of bacterial growth of *E. coli* (ATCC 8739) and *S. aureus* (ATCC 6538).

Van de Vel et al. (2019) pointed out that several factors can interfere with the different MIC values of plant essential oils, such as the technique applied, the strain of microorganism used, factors related to the plant, such as planting location, time of collection and whether the oil was obtained from fresh or dried plants, and the quantity tested. Essential oils from plant species can often have a more effective antimicrobial action against pathogens due to synergism between the bioactive constituents.

Following a therapeutic approach, the use of essential oils from plants, synergistically associated with antibiotic therapy, can be very promising for the treatment of bacterial

diseases, and can contribute to reducing bacterial resistance caused by the drugs of choice and reducing treatment costs (Majeed et al., 2023; Apinundecha et al., 2023).

Due to the increased rate of antibiotic-resistant enteric bacteria, enteritis treatment can be carried out in conjunction with herbal medicines (Gillings and Stokes, 2012). Ostrosky et al. (2008) have reported on the importance of developing and producing pharmaceutical and cosmetic products from plant extracts with antimicrobial action. Thus, research with plants leads to a promising and effective way of discovering new medicines, and it is necessary to elucidate the active components present in them, as well as their mechanisms of action.

The safe therapeutic application of *A. conyzoides* EO, as with any other compound, requires an evaluation of its cytotoxicity to achieve a balance between antibacterial activity and cell viability after exposure to the essential oils. The present analysis of cytotoxic activity, assessed using the RAW 264.7 cell line in an MTT assay, demonstrates that *A. conyzoides* EO, at concentrations ranging from 15.62 to 1000 µg/mL, did not result in a significant reduction in the viability of RAW 264.7 cells, suggesting a favorable safety profile.

The antioxidant activity of essential oils has been extensively studied due to their ability to neutralize free radicals and reduce oxidative stress, a key factor in the development of various chronic diseases, including heart disease, cancer, and age-related disorders (Huang et al., 2005; Mishra et al., 2012; Sharopov et al., 2015). Additionally, essential oils exhibit antimicrobial properties. Their hydrophobic nature enables interaction with cellular membranes, leading to structural damage, leakage of essential compounds, and disruption of energy production, ultimately compromising cell viability (El-Sherbiny and Elbestawy, 2022).

In the present evaluation of the *in vitro* antioxidant activity of *A. conyzoides* essential oil using DPPH and ABTS radical scavenging assays, a relatively low capacity to reduce DPPH (IC₅₀: 287.94 ± 7.02 µg/mL; TEAC: 196.11 ± 16.41 µg trolox/g) and ABTS (IC₅₀: 132.23 ± 15.41 µg/mL; TEAC: 1087 ± 4.94 µg trolox/g) free radical concentration was observed. These results are consistent with previous studies, such as those by Patil et al. (2010), which reported that the antioxidant activity of *A. conyzoides* EO in DPPH radical reduction assays, measured by an IC₅₀ of 570.00 ± 6.00 mg/mL, was substantially lower than that of methanol extract, which had an IC₅₀ of 22.50 ± 3.18 mg/mL, while ascorbic acid, used as a standard antioxidant, had an IC₅₀ of 3.70 ± 1.00 µg/mL. The authors attribute the higher antioxidant activity of *A. conyzoides* methanol extract to its higher flavonoid content. These observations are consistent with those of Bayala et al. (2014), who found that *A. conyzoides* EO showed limited DPPH radical reduction capacity (32.37 ± 4.25%) and ABTS (0.53 ± 0.02 mmol TE/g) *in vitro*, whereas quercetin (1 mg/mL), used as a reference antioxidant, showed a DPPH radical reduction of 73.13 ± 5.25% and an ABTS radical reduction capacity of 8.96 ± 0.07 mmol TE/g.

The literature indicates that among the constituents of EOs, particularly the class of terpenes and their oxygenated derivatives (terpenoids), are often found in greater

abundance and possess significant antioxidant potential, with terpenoid and phenolic components being notable examples (Bakkali et al., 2008; Jugreet and Mahomoodally, 2020). Previous studies have shown that β-caryophyllene (a sesquiterpene) exhibits free radical scavenging activity, as demonstrated by the DPPH and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assays (Dar et al., 2011; Dahham et al., 2015). However, linking the antioxidant activity of an EO to a limited number of active compounds presents significant challenges. This is due to the underlying mechanisms of this activity, which emerge from the complex interaction between the chemical composition of the EO, featuring different profiles of bioactive compounds, and the presence of synergistic or antagonistic components affecting antioxidant activity. Additionally, the structural characteristics of the bioactive compounds and the experimental conditions also play crucial roles (Sanchez-Moreno, 2002; Viuda-Martos et al., 2010).

5. Conclusion

The results show that the essential oil of *A. conyzoides* has promising antibacterial activity, especially against gram-positive bacteria. It could emerge as a promising alternative for controlling antimicrobial-resistant bacteria. The essential oil also demonstrated a low antioxidant capacity. Additionally, it was found that the essential oil exhibited no cytotoxicity against the macrophage cell line, indicating a favorable safety profile. However, *in vivo* investigations are needed to determine the true potential.

Acknowledgements

This research was funded in part by the Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), grant number BD-01533/2019 (CAAL). R. C. Almeida was supported by a master's scholarship from FAPEMA.

Data Availability Statement

The entire data set that supports the results of this study was published in the article itself.

References

- ACHMAD, H., ADAM, A.M., AZIZAH, A., SUKMANA, B.I., KHERA, S.N. and RAMADHANY, Y.F., 2020. A review of bandotan leaf extract (*Ageratum conyzoides* L.) in inhibition test to the growth of bacteria (*Porphyromonas gingivalis*) case of periodontitis disease. *Systematic Reviews in Pharmacy*, vol. 11, no. 4, pp. 390-395. <http://doi.org/10.31838/srp.2020.4.58>.
- ADAMS, R.P., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation, 809 p.
- ALLAMI, R.H., MOUHAMAD, R.S., ABDULATEEF, S.A. and ABEDALELAH AL-KHAFJI, K., 2020. Antimicrobial activity of herbal mixture extract combination on microorganisms isolated from urinary tract infection. *Bionatura*, vol. 5, no. 4, pp. 1346-1351. <http://doi.org/10.21931/RB/2020.05.04.11>.

- ANDRADE-OCCHOA, S., CHACÓN-VARGAS, K.F., SÁNCHEZ-TORRES, L.E., RIVERA-CHAVIRA, B.E., NOGUEDA-TORRES, B. and NEVÁREZ-MOORILLÓN, G.V., 2021. Differential antimicrobial effect of essential oils and their main components: insights based on the cell membrane and external structure. *Membranes*, vol. 11, no. 6, pp. 405. <http://doi.org/10.3390/membranes11060405>. PMID:34071618.
- APINUNDECHA, C., TEETHAISONG, Y., SUKNASANG, S., AYAMUANG, I. and EUMKEB, G., 2023. Synergistic Interaction between *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. essential oil and cloxacillin on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Inhibition. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2023, no. 1, pp. 3453273. <http://doi.org/10.1155/2023/3453273>.
- BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D. and IDAOMAR, M., 2008. Biological effects of essential oils: a review. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 46, no. 2, pp. 446-475. <http://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>. PMID:17996351.
- BAYALA, B., BASSOLE, I.H.N., GNOULA, C., NEBIE, R., YONLI, A., MOREL, L., FIGUEREDO, G., NIKIEMA, J.B., LOBACCARO, J.M.A. and SIMPORE, J., 2014. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso. *PLoS One*, vol. 9, no. 3, pp. e92122. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0092122>. PMID:24662935.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVÉLIER, M.E. and BÉRSET, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie*, vol. 28, no. 1, pp. 25-30. [http://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- CASTRO, H.G., OLIVEIRA, L.O., BARBOSA, L.C.D.A., FERREIRA, F.A., SILVA, D.J.H.D., MOSQUIM, P.R. and NASCIMENTO, E.A., 2004. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. *Química Nova*, vol. 27, no. 1, pp. 55-57. <http://doi.org/10.1590/S0100-40422004000100011>.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE – CLSI, 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30th ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI supplement M100.
- DAHHAM, S., TABANA, Y., IQBAL, M., AHAMED, M., EZZAT, M., MAJID, A. and MAJID, A., 2015. The Anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. *Molecules*, vol. 20, no. 7, pp. 11808-11829. <http://doi.org/10.3390/molecules200711808>. PMID:26132906.
- DAR, M.Y., SHAH, W.A., RATHER, M.A., QURISHI, Y., HAMID, A. and QURISHI, M.A., 2011. Chemical composition, in vitro cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil and major constituents of *Cymbopogon jawarancusa* (Kashmir). *Food Chemistry*, vol. 129, no. 4, pp. 1606-1611. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.016>.
- DICKSON, K., SCOTT, C., WHITE, H., ZHOU, J., KELLY, M. and LEHMANN, C., 2023. Antibacterial and analgesic properties of beta-caryophyllene in a murine urinary tract infection model. *Molecules*, vol. 28, no. 10, pp. 4144. <http://doi.org/10.3390/molecules28104144>. PMID:37241885.
- ELBESTAWY, M.K.M., EL-SHERBINY, G.M. and MOGHANNEM, S.A., 2023. Antibacterial, antibiofilm and anti-inflammatory activities of eugenol clove essential oil against resistant *Helicobacter pylori*. *Molecules*, vol. 28, no. 6, pp. 2448. <http://doi.org/10.3390/molecules28062448>. PMID:36985419.
- EL-SHERBINY, G.M. and ELBESTAWY, M.K.M., 2022. A review: plant essential oils active against *Helicobacter pylori*. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 34, no. 3, pp. 203-215. <http://doi.org/10.1080/10412905.2022.2025464>.
- FODA, A.M., KALABA, M.H., EL-SHERBINY, G.M., MOGHANNEM, S.A. and EL-FAKHARANY, E.M., 2022. Antibacterial activity of essential oils for combating colistin-resistant bacteria. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, vol. 20, no. 10, pp. 1351-1364. <http://doi.org/10.1080/14787210.2022.2101997>. PMID:35839089.
- FURTADO, R.F., LIMA, M.G.A., ANDRADE NETO, M., BEZERRA, J.N.S. and SILVA, M.G., 2005. Atividade larvídica de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: culicidae). *Neotropical Entomology*, vol. 34, no. 5, pp. 843-847. <http://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000500018>.
- GAUTAM, N., MANTHA, A.K., and MITTAL, S., 2014. Essential oils and their constituents as anticancer agents: a mechanistic view. *BioMed Research International*, vol. 2014, no. 1, pp. 154106. <http://doi.org/10.1155/2014/154106>.
- GILLINGS, M.R. and STOKES, H.W., 2012. Are humans increasing bacterial evolvability? *Trends in Ecology & Evolution*, vol. 27, no. 6, pp. 346-352. <http://doi.org/10.1016/j.tree.2012.02.006>. PMID:22459247.
- GORLENKO, C.L., BUDANOVA, E.V., ZAMYATNIN, A.A. and IKRYANNIKOVA, L.N., 2020. Plant secondary metabolites in the battle of drugs and drug-resistant bacteria: new heroes or worse clones of antibiotics? *Antibiotics*, vol. 9, no. 4, pp. 170. <http://doi.org/10.3390/antibiotics9040170>. PMID:32290036.
- GUTIÉRREZ, I.E.M., SOUZA, L.M.C., MAGALHÃES, A.O., PERALTA, E.D., DE OLIVEIRA, L.M., LUCCHESI, A.M. and DA SILVA, L.T.S., 2021. Characterization the herbal drug and antioxidant activity of *Ageratum conyzoides* L. *Brazilian Journal of Development*, vol. 7, no. 8, pp. 78766-78781. <http://doi.org/10.34117/bjdv7n8-209>.
- HUANG, D., OU, B. and PRIOR, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 6, pp. 1841-1856. <http://doi.org/10.1021/jf030723c>. PMID:15769103.
- JUGREET, B.S. and MAHOMOODALLY, M.F., 2020. Pharmacological properties of essential oil constituents and their mechanisms of action. In: M.K. SWAMY, ed. *Plant-derived bioactives*. Singapore: Springer, pp. 387-415. http://doi.org/10.1007/978-981-15-2361-8_18.
- KOUAME, B.K.F.P., TOURE, D., KABLAN, L., BEDI, G., TEA, I., ROBINS, R., CHALCHAT, J.C. and TONZIBO, F., 2018. Chemical constituents and antibacterial activity of essential oils from flowers and stems of *Ageratum conyzoides* from Ivory Coast. *Records of Natural Products*, vol. 12, no. 2, pp. 160-168. <http://doi.org/10.25135/rnp.22.17.06.040>.
- KUMAR, K.G.A., TAYADE, A.B., KUMAR, R., GUPTA, S., SHARMA, A.K., NAGAR, G., TEWARI, S.S., KUMAR, B., RAWAT, A.K.S., SRIVASTAVA, S., KUMAR, S. and GHOSH, S., 2016. Chemo-profiling and bioassay of phytoextracts from *Ageratum conyzoides* for acaricidal properties against *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) infesting cattle and buffaloes in India. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, vol. 7, no. 2, pp. 342-349. <http://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.12.005>. PMID:26723275.
- KURADE, N.P., JAITAK, V., KAUL, V.K. and SHARMA, O.P., 2010. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Lantana camara*, *Ageratum houstonianum* and *Eupatorium adenophorum*. *Pharmaceutical Biology*, vol. 48, no. 5, pp. 539-544. <http://doi.org/10.3109/13880200903193336>. PMID:20645797.
- LIMA, R.K., CARDOSO, M., MORAES, J.C., CARVALHO, S.M., MELO, B.A. and VIEIRA, S.S., 2014. Composição química e toxicidade de óleos essenciais para o pulgão-verde *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852). *Arquivos do Instituto Biológico*, vol. 81, no. 1, pp. 22-29. <http://doi.org/10.1590/S1808-16572014000100005>.

- LIU, X.C. and LIU, Z.L., 2014. Evaluation of larvicidal activity of the essential oil of *Ageratum conyzoides* L. aerial parts and its major constituents against *Aedes albopictus*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, vol. 2, no. 4, pp. 345-350.
- MAJEED, A., GULERIA, S., SHARMA, N., SALARIA, K.H., AIMAN, F., SINGH, B. and GUPTA, V.K., 2023. Antioxidant capacity and combinatorial antimicrobial effects of *Nardostachys jatamansi* essential oil with conventional antibiotics against some drug resistant bacteria. *Current Research in Biotechnology*, vol. 5, pp. 100118. <http://doi.org/10.1016/j.crbiot.2022.100118>.
- MARTINS, A.P., SALGUEIRO, L.R., GONÇALVES, M.J., VILA, R., CAÑIGUERAL, S., TOMI, F. and CASANOVA, J., 2005. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Ageratum conyzoides* from S. Tomé and Príncipe. *The Journal of Essential Oil Research*, vol. 17, no. 3, pp. 239-242. <http://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698888>.
- MENTARI, I.A., WIRNAWATI, W., and PUTRI, M.R., 2020. Karakterisasi simplisia dan ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) sebagai kandidat obat karies gigi. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi dan Kesehatan*, vol. 5, no. 1, pp. 1-9. <http://doi.org/10.36387/jiis.v5i1.346>.
- MISHRA, K., OJHA, H. and CHAUDHURY, N.K., 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: a critical review and results. *Food Chemistry*, vol. 130, no. 4, pp. 1036-1043. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>.
- MONDELLO, L., 2011. *Flavors and fragrances of natural and synthetic compounds*. Italy: Messina University, Wiley.
- NEVES, D.S.C., SANTANA, G.N. and KREPSKY, P.B., 2021. Variação intraespecífica na composição e teor do óleo essencial de *Lippia thymoides*. *Revista Fitos*, vol. 15, no. 2, pp. 192-203. <http://doi.org/10.32712/2446-4775.2021.1062>.
- OSTROSKY, E.A., MIZUMOTO, M.K., LIMA, M.E.L., KANEKO, T.M., NISHIKAWA, S.O. and FREITAS, B.R., 2008. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 18, no. 2, pp. 301-307. <http://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200026>.
- OTHMAN, L., SLEIMAN, A. and ABDEL-MASSIH, R.M., 2019. Antimicrobial activity of polyphenols and alkaloids in middle eastern plants. *Frontiers in Microbiology*, vol. 10, pp. 911. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00911>. PMID:31156565.
- PATIL, R.P., NIMBALKAR, M.S., JADHAV, U.U., DAWKAR, V.V. and GOVINDWAR, S.P., 2010. Antiaflatoxigenic and antioxidant activity of an essential oil from *Ageratum conyzoides* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 90, no. 4, pp. 608-614. <http://doi.org/10.1002/jsfa.3857>. PMID:20355088.
- PERIGO, C.V., TORRES, R.B., BERNACCI, L.C., GUIMARÃES, E.F., HABER, L.L., FACANALI, R., VIEIRA, M.A.R., QUECINI, V. and MARQUES, M.O.M., 2016. The chemical composition and antibacterial activity of eleven Piper species from distinct rainforest areas in Southeastern Brazil. *Industrial Crops and Products*, vol. 94, pp. 528-539. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.028>.
- QUOC, L.P.T., 2020. Physicochemical properties and antibacterial activity of essential oil of *Ageratum conyzoides* L. leaves. *ACS. Agriculturae Conspectus Scientificus*, vol. 85, no. 2, pp. 139-144.
- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M. and RICE-EVANS, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 26, no. 9-10, pp. 1231-1237. [http://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](http://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3). PMID:10381194.
- RISS, T.L., MORAVEC, R.A., NILES, A.L., DUELLMAN, S., BENINK, H.A., WORZELLA, T.J. and MINOR, L., 2013. Cell viability assays. In: S. MARKOSSIAN, A. GROSSMAN, H. BASKIR, M. ARKIN, D. AULD, C. AUSTIN, J. BAELL, K. BRIMACOMBE, T. D. Y. CHUNG, N. P. COUSSENS, J. L. DAHLIN, V. DEVANARAYAN, T. L. FOLEY, M. GLICKSMAN, K. GORSHKOV, S. GROTEGUT, M. D. HALL, S. HOARE, J. INGLESE, P. W. IVERSEN, M. LAL-NAG, Z. LI, J. R. MANRO, J. MCGEE, A. NORVIL, M. PEARSON, T. RISS, P. SARADJIAN, G. S. SITTAMPALAM, M. A. TARSELLI, O. J. TRASK, J. R. WEIDNER, M. J. WILDEY, K. WILSON, M. XIA and X. XU, eds. *Assay guidance manual*. Bethesda: Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences, pp. 403-427.
- ROSÁRIO, C.J.R.M., LIMA, A.S., MENDONÇA, C.J.S., SOARES, I.S., JÚNIOR, E.B.A., GOMES, M.N., COSTA-JUNIOR, L.M., MAIA, J.G.S. and ROCHA, C.Q., 2023. Essential oil *Ageratum conyzoides* chemotypes and anti-tick activities. *Veterinary Parasitology*, vol. 319, pp. 109942. <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2023.109942>. PMID:37178553.
- ROSSITER, S.E., FLETCHER, M.H. and WUEST, W.M., 2017. Natural products as platforms to overcome antibiotic resistance. *Chemical Reviews*, vol. 117, no. 19, pp. 12415-12474. <http://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00283>. PMID:28953368.
- SANCHEZ-MORENO, C., 2002. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science & Technology International*, vol. 8, no. 3, pp. 121-137. <http://doi.org/10.1177/1082013202008003770>.
- SHAROPOV, F.S., WINK, M. and SETZER, W.N., 2015. Radical scavenging and antioxidant activities of essential oil components: an experimental and computational investigation. *Natural Product Communications*, vol. 10, no. 1, pp. 153-156. <http://doi.org/10.1177/1934578X1501000135>. PMID:25920239.
- SILHAVY, T.J., KAHNE, D. and WALKER, S., 2010. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, vol. 2, no. 5, pp. a000414. <http://doi.org/10.1101/cshperspect.a000414>. PMID:20452953.
- SILVA, B.D., BERNARDES, P.C., PINHEIRO, P.F., FANTUZZI, E. and ROBERTO, C.D., 2021. Chemical composition, extraction sources and action mechanisms of essential oils: natural preservative and limitations of use in meat products. *Meat Science*, vol. 176, pp. 108463. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108463>. PMID:33640647.
- SOARES, G.A.B., BHATTACHARYA, T., CHAKRABARTI, T., TAGDE, P. and CAVALU, S., 2022. Exploring pharmacological mechanisms of essential oils on the central nervous system. *Plants*, vol. 11, no. 1, pp. 21. <http://doi.org/10.3390/plants11010021>. PMID:35009027.
- SUGARA, T.H., IRAWADI, T.T., SUPRAPTO, I.H. and HANAFI, M., 2016. Anti bacteria activity of ethyl acetate fraction bandotan leaf (*Ageratum conyzoides* L.). *Journal Ilmiah Ibnu Sina*, vol. 1, no. 1, pp. 88-96. <http://doi.org/10.36387/jiis.v1i1.34>.
- SWAMY, M.K., AKHTAR, M.S. and SINNIHA, U.R., 2016. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2016, no. 1, pp. 1-21. <http://doi.org/10.1155/2016/3012462>. PMID:28090211.
- TARIQ, S., WANI, S., RASOOL, W., SHAFI, K., BHAT, M.A., PRABHAKAR, A., SHALLA, A.H. and RATHER, M.A., 2019. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, vol. 134, pp. 103580. <http://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103580>. PMID:31195112.
- TELES, A.M., SILVA-SILVA, J.V., FERNANDES, J.M.P., ABREU-SILVA, A.L., CALABRESE, K.S., MENDES FILHO, N.E., MOUCHREK, A.N., and ALMEIDA-SOUZA, F., 2021. GC-MS characterization of antibacterial, antioxidant, and antitrypanosomal activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and eugenol. *Evidence-Based*

- Complementary and Alternative Medicine, vol. 2021, no. 1, pp. 6663255. <http://doi.org/10.1155/2021/6663255>.
- VAN DE VEL, E., SAMPERS, I. and RAES, K., 2019. A review on influencing factors on the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 59, no. 3, pp. 357-378. <http://doi.org/10.1080/10408398.2017.1371112>. PMID:28853911.
- VAN DEN DOOL, H. and KRATZ, P.D., 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas: liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography. A*, vol. 11, pp. 463-471. [http://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)80947-X](http://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80947-X). PMID:14062605.
- VIEIRA, S.S., CARDOSO, M.G., SOUSA, P.E., GUIMARÃES, L.G.L., ANDRADE, M.A. and ANDRADE, J., 2012. Composição química e atividade fungitóxica do óleo essencial de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasito). *Magistra*, vol. 24, no. 1, pp. 55-62.
- VIUDA-MARTOS, M., RUIZ NAVAJAS, Y., SÁNCHEZ ZAPATA, E., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. and PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A., 2010. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 25, no. 1, pp. 13-19. <http://doi.org/10.1002/ffj.1951>.
- VOON, H.C., BHAT, R. and RUSUL, G., 2012. Flower extracts and their essential oils as potential antimicrobial agents for food uses and pharmaceutical applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 11, no. 1, pp. 34-55. <http://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00169.x>.
- VORAVUTHIKUNCHAI, S.P. and KITPIPIT, L., 2005. Activity of medicinal plant extracts against hospital isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 11, no. 6, pp. 510-512. <http://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01104.x>. PMID:15882206.



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102018009987-6

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102018009987-6

(22) Data do Depósito: 17/05/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 10/12/2019

(51) Classificação Internacional: A61K 36/28; A61K 125/00; A61K 127/00; A61K 129/00; A61K 135/00; A61P 31/04.

(54) Título: ANTI-EHRLICHIA À BASE DE ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATOS

(73) Titular: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 06352421000168. Endereço: Avenida Lourenço Vieira da Silva, Cidade Universitária Paulo VI s/n, Tirirical, São Luis, MA, BRASIL(BR), 65055-970, Brasileira; FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 33004540000100. Endereço: AVENIDA FERNANDO CORRÊA DA COSTA, 2367, BOA ESPERANÇA, CUIABÁ, MT, BRASIL(BR), 78060-900, Brasileira; UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 06279103000119. Endereço: AV. DOS PORTUGUESES, 1966, CIDADE UNIVERSITÁRIA DOM DELGADO, VILA BACANGA, SÃO LUÍZ, MA, BRASIL(BR), 65080-805, Brasileira

(72) Inventor: FERDINAN ALMEIDA MELO; DANIEL MOURA DE AGUIAR; DENISE FERNANDES COUTINHO; ANA KAROLINE SOUSA MENDES SIMAS; JOSÉ GOMES PEREIRA; CRISTIAN ALEX AQUINO LIMA; ANTÔNIO JOSÉ COSTA LEITE; DANIELA PATRÍCIA BRANDÃO SILVEIRA; CLÁUDIA QUINTINO DA ROCHA; CARLA JANAINA REBOUÇAS MARQUES DO ROSÁRIO.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 17/05/2018, observadas as condições legais

Expedida em: 01/08/2023

Assinado digitalmente por:
Alexandre Dantas Rodrigues

Diretor de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados