

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS E
PARASITÁRIAS**

DANIELE CRISTINA VITORELLI VENANCIO

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E PROSPECÇÃO
FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS DE *Equisetum pyramidale*, *Pouteria ramiflora*,
Porophyllum ruderale, *Tapirira obtusa* e *Smilax fluminensis***

**CAMPO GRANDE
2021**

DANIELE CRISTINA VITORELLI VENANCIO

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E PROSPECÇÃO
FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS DE *Equisetum pyramidale*, *Pouteria ramiflora*,
Porophyllum ruderale, *Tapirira obtusa* e *Smilax fluminensis***

Dissertação apresentada como exigência para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob a orientação da Prof^a Dr^a Marilene Rodrigues Chang e co-orientação da Prof^a Dr^a Doroty Mesquita Dourado.

**CAMPO GRANDE
2021**

Dedico este trabalho ao meu esposo,
Fabio, que foi o meu grande
incentivador e aos meus filhos,
Miguel e Maitê, meus pequenos
raios de sol.

Agradecimentos

À Deus, pelo dom da vida e por derramar sobre as trevas da minha inteligência um raio da Sua claridade, por seu fiel e eterno amor.

Ao meu amado esposo Fabio Antonio Venancio, pelo companheirismo, paciência e dedicação. Meu porto seguro em todas as circunstâncias.

Aos meus filhos, Miguel e Maitê, que mesmo nas mais duras ausências acalentaram meu coração com carinhos, sorrisos e abraços.

À minha orientadora Profa. Dra. Marilene Rodrigues Chang, pelo acolhimento, compreensão, ensinamentos e pelo inestimável auxílio e confiança depositada em meu trabalho.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Doroty Mesquita Dourado, pela confiança e auxílio antes mesmo do meu ingresso no mestrado.

À Profa. Dra. Rosemary Matias, pela sugestão de espécies vegetais para o estudo, pelos auxílios prestados e pela sincera e constante disposição em ajudar.

À Profa. Dra. Angela Kwiatkoswski pelo auxílio nas análises antioxidantes.

Às técnicas de laboratório Nayara Moreno e Karen Martins por todo apoio, dedicação, auxílio técnico e conselhos.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisas Microbiológicas pela convivência, pelas experiências compartilhadas, pelas sugestões e por solidariamente acompanharem os percalços enfrentados no decorrer deste trabalho.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias pela oportunidade e auxílio financeiro.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias que estiveram envolvidos na construção de minha formação acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

A todos aqueles que me auxiliaram e incentivaram para a conclusão deste trabalho, reitero o meu reconhecimento e agradecimento.

Muito obrigada!

RESUMO

As doenças infecciosas, por décadas, têm sido um dos problemas de saúde pública mais relevantes. A resistência antimicrobiana é uma séria ameaça à eficácia do tratamento e responsável por altos índices de morbimortalidade. Existem bactérias resistentes a todas as classes de antimicrobianos disponíveis e o número de resistência aos antifúngicos também está em ascensão. Entretanto, a produção de novos fármacos pela indústria farmacêutica não ocorre na mesma velocidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante, bem como a composição fitoquímica dos extratos de *Equisetum pyramidale*, *Pouteria ramiflora*, *Porophyllum ruderale*, *Tapirira obtusa* e *Smilax fluminensis*. Extratos etanólicos das folhas e/ou partes aéreas de cada material botânico foram preparados. As classes de metabólitos secundários foram determinadas a partir de um *screening* fitoquímico. Os teores de compostos fenólicos e flavonoides foram obtidos por UV-visível. Para determinar a atividade antimicrobiana dos extratos dessas plantas foram realizados testes de susceptibilidade pelo método de difusão em disco e microdiluição em caldo frente a isolados clínicos multidrogas resistentes de *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* e frente a cepas ATCC de *Candida* spp. Dos extratos que inibiram crescimento microbiano foram determinadas a concentração bactericida mínima e concentração fungicida mínima. A atividade antioxidante total dos extratos foi determinada pelo método de sequestro de radicais livres DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil). A análise fitoquímica demonstrou a presença de algumas classes de metabólitos secundários em comum: compostos fenólicos, flavonoides, esteroides, taninos e saponinas. Os teores de compostos fenólicos e flavonoides foram significativos, sendo superiores na *S. fluminensis* (CF= 230,34 ± 1,20 mg/g (mg Catequina/g extrato) e Flav.= 155,77 ± 0,99 (Quercetina/g extrato)), seguido da *E. pyramidale* (CF= 205,4 ± 0,70 mg/g (mg Catequina/g extrato) e Flav.= 150,9 ± 0,25 mg/g mg (Quercetina/g extrato)). O extrato de *S. fluminensis* apresentou atividade fungicida sobre *C. glabrata* (ATCC 2001) (CIM=500 µg/mL). Atividade bactericida sobre MRSA (CIM=1000 µg/mL) foi demonstrada pelo extrato de *T. obtusa*. Todos os extratos vegetais testados apresentaram atividade antioxidante acima de 50% de sequestro do radical livre DPPH, sendo que os mais significativos foram *T. obtusa* (82,36 ± 0,44 %) e *S. fluminensis* (69,89 ± 1,06). O extrato de *S. fluminensis* mostrou propriedades antifúngicas e antioxidantes promissoras. *Tapirira obtusa* demonstrou atividade antibacteriana sobre um patógeno resistente e pode ser considerada para novas pesquisas, além de representar um antioxidante natural em potencial. *Porophyllum ruderale*, *E. pyramidale*, e *P. ramiflora* possuem potencial antioxidante.

Palavras-chave: plantas medicinais; atividade antimicrobiana; *Klebsiella pneumoniae*; *Staphylococcus aureus*; *Candida*.

ABSTRACT

Infectious diseases, for decades, have been one of the most relevant public health problems. Antimicrobial resistance is a serious threat to treatment efficacy and responsible for high morbidity and mortality rates. There are bacteria resistant to all classes of antimicrobials available and the number of antifungal resistances is also on the rise. However, the production of new drugs by the pharmaceutical industry does not occur at the same speed. The objective of this work was to evaluate the antimicrobial and antioxidant activity, as well as the phytochemical composition of the extracts of *Equisetum pyramidale*, *Pouteria ramiflora*, *Porophyllum ruderale*, *Tapirira obtusa* and *Smilax fluminensis* extracts. Ethanol extracts from leaves and/or aerial parts of each botanical material were prepared. The classes of secondary metabolites were determined from a phytochemical screening. The contents of phenolic compounds and flavonoids were obtained by UV-visible. To determine the antimicrobial activity of extracts from these plants, susceptibility tests were performed using the disk diffusion method and microdilution in broth against resistant multidrug clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* and against ATCC strains of *Candida*. From the extracts that inhibited microbial growth, the minimum bactericidal concentration and the minimum fungicidal concentration were determined. The total antioxidant activity of the extracts was determined by the DPPH free radical scavenging method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Phytochemical analysis showed the presence of some classes of secondary metabolites in common: phenolic compounds, flavonoids, steroids, tannins and saponins. The contents of phenolic compounds and flavonoids were significant, being higher in *S. fluminensis* (CF= 230,34 ± 1,20 mg/g (mg Catechin/g extract) e Flav.= 155,77 ± 0,99 (quercetin/g extract)), followed by *E. pyramidale* (CF= 205,4 ± 0,70 mg/g (mg Catechin/g extract) e Flav.= 150,9 ± 0,25 mg/g mg (quercetin/g extract)). The extract of *S. fluminensis* showed fungicidal activity on *C. glabrata* (ATCC 2001) (MIC=500 µg/mL). Bactericidal activity on MRSA (MIC=1000 µg/mL) was demonstrated by the extract of *T. obtusa*. All plant extracts tested showed antioxidant activity above 50% of DPPH free radical scavenging, the most significant being *T. obtusa* (82.36 ± 0.44 %) and *S. fluminensis* (69.89 ± 1.06 %). The *S. fluminensis* extract showed promising antifungal and antioxidant properties. *Tapirira obtusa* demonstrated antibacterial activity against a resistant pathogen and can be considered for further research, in addition to representing a potential natural antioxidant. *Porophyllum ruderale*, *E. pyramidale*, and *P. ramiflora* have antioxidant potential.

Keywords: medicinal plants; antimicrobial activity; *Klebsiella pneumoniae*; *Staphylococcus aureus*; *Candida*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representante do gênero <i>Equisetum</i>	19
Figura 2 - <i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass.	20
Figura 3 - <i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk.....	21
Figura 4 - <i>Smilax fluminensis</i> Steud.....	22
Figura 5 - <i>Tapirira obtusa</i> (Benth.) J.D. Mitch.	23
Figura 6 - Fluxograma das atividades desenvolvidas.....	25
Figura 7 - Quadro das espécies vegetais, órgão vegetal, local e data de coleta e número de registro no Herbário.....	26
Figura 8 - Quadro dos metabólitos secundários e valores das absorvâncias dos extratos etanólicos das espécies <i>Equisetum pyramidale</i> , <i>Porophyllum ruderale</i> , <i>Pouteria ramiflora</i> , <i>Smilax fluminensis</i> e <i>Tapirira obtusa</i> provenientes do Cerrado sul-mato-grossense, Brasil....	34
Figura 9 - Gráfico representativo dos teores de compostos fenólicos e flavonoides de <i>Equisetum pyramidale</i> , <i>Porophyllum ruderale</i> , <i>Pouteria ramiflora</i> , <i>Smilax fluminensis</i> e <i>Tapirira obtusa</i>	35
Figura 10 - Comparação das médias da atividade antioxidante das espécies vegetais determinado pelo intervalo de confiança de Tukey.....	36
Figura 11 - Determinação da CBM do extrato etanólico de <i>T. obtusa</i> e da CFM do extrato etanólico de <i>S. fluminensis</i>	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Micrograma
µL	Microlitro
µM	Micromolar
Amax.	Absorbância máxima
AMH	Ágar Mueller Hinton
ASD	Ágar Sabouraud Dextrose
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion
BSA	Bacteremia por <i>Staphylococcus aureus</i>
C.	<i>Candida</i>
CAMHB	Caldo Mueller Hinton cátion ajustado
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
DPPH	2,2 difenil-1-picrilhidrazil
<i>E. pyramidale</i>	<i>Equisetum pyramidale</i> Gold.
ERT	Ertapenem
FDA	Food and Drug Administration
FLU	Fluconazol
g	Gramma
h	Hora
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
KP-KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de carbapenemase
mg	Miligramma
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MOPS	Ácido morfolino- propanosulfônico
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
nm	Nanômetro
°C	Graus Celsius
ONU	Organização das Nações Unidas
<i>P. ramiflora</i>	<i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk.
<i>P. ruderale</i>	<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass.
RM	Resistência Microbiana
RPMI 1640	Meio de cultura sintético criado por Roswell Park Memorial Institute
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. fluminensis</i>	<i>Smilax fluminensis</i> Steud.
spp.	Espécies
<i>T. obtusa</i>	<i>Tapirira obtusa</i> (Benth.) J.D. Mitch.
UFC	Unidade Formadoras de Colônias
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	RESISTÊNCIA MICROBIANA	11
2.1.1	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina.....	12
2.1.2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de carbapenemase.....	13
2.1.3	<i>Candida</i> spp.....	14
2.2	PRODUTOS NATURAIS	16
2.3	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	17
2.4	ESPÉCIES BOTÂNICAS.....	18
2.4.1	<i>Equisetum pyramidale</i> Gold	18
2.4.2	<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass.	19
2.4.3	<i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk.....	20
2.4.4	<i>Smilax fluminensis</i> Steud.....	21
2.4.5	<i>Tapirira obtusa</i> (Benth.) J.D. Mitch.....	22
3	OBJETIVOS	24
4	METODOLOGIA	25
4.1	PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS.....	25
4.1.1	Local da pesquisa.....	25
4.1.2	Delineamento experimental.....	25
4.1.3	Coleta e identificação das espécies vegetais.....	26
4.1.4	Obtenção dos extratos.....	26
4.1.5	Análise fitoquímica.. ..	26
4.1.6	Quantificação de fenóis e flavonoides.....	27
4.1.7	Atividade antioxidante.....	28
4.1.8	Teste de susceptibilidade antimicrobiana.....	28
4.2	ORGANIZAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS	33
5	RESULTADOS	34
5.1	ANÁLISE FITOQUÍMICA	34
5.2	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	36
5.3	TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA.....	37
5.3.1	Método de difusão em disco	37
5.3.2	Microdiluição em caldo	39
6	DISCUSSÃO	40
7	CONCLUSÕES	45
8	REFERENCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

Infecções causadas por micro-organismos multidrogas resistentes são de difícil tratamento e estão associadas à elevada morbimortalidade. Essas infecções têm gerado um impacto significativo nos hospitais do mundo todo devido à falta de opções terapêuticas e constituem um sério problema de saúde pública.

Dentre as bactérias com maior relevância em infecções hospitalares estão *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase. Leveduras do gênero *Candida* são as principais responsáveis por infecções fúngicas na comunidade e nos hospitais. Assim como ocorre com as bactérias, o uso de antifúngicos em larga escala parece ter contribuído com a emergência de *Candida* spp resistentes, em especial, ao fluconazol.

Diante desse cenário, crescente e dinâmico, da disseminação de patógenos resistentes, os fármacos disponíveis vão se tornando ineficazes e as opções terapêuticas escassas. Assim, se torna imprescindível a busca de novos compostos ativos para serem utilizados na terapia antimicrobiana. Devido à alta diversidade química das espécies vegetais elas se tornam fortes candidatas para programas de bioprospecção, sendo um campo fértil para busca de novos compostos com atividades terapêuticas.

O Brasil, por sua diversidade de espécies vegetais nos diferentes biomas, é notadamente uma fonte de recursos naturais em potencial para a descoberta de novos compostos ou o desenvolvimento de formulações à base de extratos vegetais. Diante da possibilidade de prospectar materiais botânicos da flora brasileira ainda pouco ou não investigados para obter informações para a descoberta de alvos, elegemos cinco espécies vegetais: *Equisetum pyramidale*, *Pouteria ramiflora*, *Porophyllum ruderale*, *Tapirira obtusa* e *Smilax fluminensis*. A escolha se justifica no fato de que pouco se sabe sobre a atividade farmacológica dessas espécies e elas podem representar potencial de uso como agentes antimicrobianos.

Assim, pela relevância da questão e com o intuito de encontrar agentes que atuem inibindo patógenos bacterianos e fúngicos de interesse médico, foi desenvolvido este estudo. Aqui, analisamos a atividade antioxidante e antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase e *Candida* spp., bem como realizamos um *screening* fitoquímico dessas espécies vegetais. Cada estudo realizado é único e pode representar um passo na direção da descoberta de novas moléculas terapêuticas ou de um novo fármaco.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 RESISTÊNCIA MICROBIANA

As doenças infecciosas estão entre as principais causas de mortes em todo o mundo, principalmente nos países de baixa renda (WHO, 2020a). Desde a descoberta do primeiro antibiótico, em 1911, os antimicrobianos têm sido fundamentais para o tratamento de doenças infecciosas (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019; JONES, 1911). Com aumento progressivo de micro-organismos resistentes, a resistência microbiana (RM) se tornou um dos problemas de saúde pública mais relevantes e responsável por altos índices de morbimortalidade (ASLAM *et al.*, 2018; FOUNOU; FOUNOU; ESSACK, 2017). A RM é uma fonte crescente de preocupação para as organizações de saúde em todo o mundo e uma séria ameaça à eficácia da terapia antimicrobiana atual, que tem limitado a prevenção e o tratamento de infecções, especialmente em ambiente hospitalar (SCIRE; HOZÉ; UECKER, 2019; WHO, 2020b).

De acordo com o Grupo de Coordenação Interinstitucional da Organização das Nações Unidas (ONU) sobre resistência a antimicrobianos (IACG, 2019), pelo menos 700.000 pessoas morreram no ano de 2019 devido a doenças resistentes a medicamentos. Estima-se que até 2050, haverá 10 milhões de mortes a cada ano causadas por micro-organismos multidroga resistente. Cada vez mais, doenças comuns como infecções do trato respiratório e do trato urinário, se tornam intratáveis devido à RM (WHO, 2019).

À medida que micro-organismos resistentes a medicamentos se espalham globalmente, os antimicrobianos disponíveis se tornam cada vez mais ineficazes. A RM também aumenta o risco de morte nos casos de tratamento de infecções decorrentes de procedimentos médicos como cirurgias, inclusive cesarianas, transplante de órgãos e quimioterapias para o tratamento de câncer (WHO, 2020b). Em algumas regiões, micro-organismos resistentes são isolados rotineiramente, por isso alguns pesquisadores inferem que podemos retornar ao nível da era pré-antibiótico (BROWN; WRIGHT, 2016; WHO, 2014).

Muitos países de baixa renda apresentam elevadas taxas de infecções hospitalares, gerando uma dependência contínua de antimicrobianos ao mesmo tempo que exerce pressão seletiva substancial para que a resistência evolua (LAXMINARAYAN *et al.*, 2016). O uso excessivo de antimicrobianos em medicina humana e veterinária diminui a sua eficácia,

impulsionando a pressão seletiva por resistência e acelerando o desenvolvimento de patógenos multirresistentes (LAXMINARAYAN *et al.*, 2016; WHO, 2017).

O tratamento de doenças infecciosas ocasionadas por micro-organismos resistentes representa também um custo significativo para a economia. Além da morte, doenças prolongadas resultam em estadias hospitalares mais longas, necessidade de medicamentos mais caros e cuidados mais intensivos, além de afetar a produtividade dos pacientes e seus cuidadores (WHO, 2020b).

Entre os patógenos mais frequentemente relatados em infecções hospitalares estão as bactérias *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KP-KPC) e leveduras do gênero *Candida*.

Uma lista global de patógenos prioritários divulgada pela OMS identifica as bactérias multidroga resistente (MDRO) que devem ser priorizadas para pesquisa e desenvolvimento de medicamentos. Esses organismos estão organizados em três rankings prioritários, KP-KPC é classificada como crítica (primeira prioridade) e MRSA é classificada como alto risco (segunda prioridade) (WHO, 2017).

2.1.1 *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

Staphylococcus aureus são cocos Gram-positivos não esporulados pertencente à família Staphylococcaceae.

Indivíduos sadios podem ser colonizados na nasofaringe, ocasionalmente na pele e raramente na mucosa vaginal. A partir desses sítios, o *S. aureus* pode ocasionar infecções a partir da quebra da barreira cutânea ou diminuição da imunidade. É responsável por uma grande variedade de infecções, como infecções na pele e subcutâneas, infecções pós-cirúrgicas, osteomielites, pneumonias, abscessos, endocardites e sepses potencialmente letais (BRASIL, 2013). São umas das causas mais comuns de infecções hospitalares e comunitárias, apresentando-se como responsável por altos índices de morbimortalidade (KOURTIS *et al.*, 2019; TONG *et al.*, 2015).

Antes da disponibilidade de antibióticos, as infecções invasivas causadas por *S. aureus* eram frequentemente fatais. Após a introdução da penicilina na prática clínica, em 1940 houve queda na letalidade causada por *S. aureus*. No entanto, em 1942 foram reconhecidos os primeiros isolados resistentes à penicilina, devido a produção de enzimas beta-lactamases (MARANAN *et al.*, 1997; PALAVECINO, 2020). No início da década de 1960 foram desenvolvidas as penicilinas semissintéticas, como a meticilina, o que possibilitou um avanço

na terapêutica. Entretanto, a resistência foi descoberta quase imediatamente, em 1961, sendo posteriormente verificada a multirresistência (MARANAN *et al.*, 1997).

Staphylococcus aureus é o patógeno predominante em infecções de corrente sanguínea e apresenta alta morbimortalidade (DIEKEMA *et al.*, 2019; GU *et al.*, 2020). Pelo menos 50% dos pacientes com bacteremia por *S. aureus* (BSA) desenvolverão a forma complicada da doença (GUIMARAES *et al.*, 2019). A taxa de mortalidade associada a BSA é de aproximadamente 20 a 30% e de endocardite varia de 22 a 66% (GUIMARAES *et al.*, 2019, PEREZ-MONTARELO *et al.*, 2018; TONG *et al.*, 2015). Em países desenvolvidos a incidência de BSA varia de 10 a 30 por 100.000 pessoas-ano (LAUPLAND *et al.*, 2013). No entanto, não há um sistema de vigilância que divulgue dados clínicos e epidemiológicos de BSA, principalmente em países menos desenvolvidos (SEALE *et al.*, 2017).

A prevalência de infecções por MRSA varia consideravelmente. Na União Europeia, o percentual de resistência à meticilina varia de 1,1 a 46,7% dentre as infecções invasivas causadas por *S. aureus* (ECDC, 2019). Na América Latina, MRSA foi responsável por 44,7% dos casos de BSA, tendo percentuais bastante elevados no Brasil, ultrapassando 80% (SEAS *et al.*, 2018). Já nos Estados Unidos, estima-se aproximadamente 323.700 casos anuais de infecções causadas por MRSA apenas em pacientes hospitalizados e cerca de 119.247 casos de BSA com 19.832 mortes associadas (CDC, 2019; KOURTIS *et al.*, 2019)

2.1.2 *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) pertence à família Enterobacteriaceae; são bastonetes gram-negativos, encapsulados, que fazem parte do microbioma do trato gastrointestinal de humanos e animais saudáveis (NAVON-VENEZIA; KONDRATYEVA; CARATTOLI, 2017). Entretanto, diante de condições favoráveis pode produzir uma série de infecções como no trato urinário, pneumonia, infecções de feridas cirúrgicas, endocardite e septicemia (VADING *et al.*, 2018). Infecções por *K. pneumoniae* representam uma ameaça particular para pessoas com sistema imunológico debilitado ou ainda não totalmente desenvolvido, incluindo recém-nascidos, populações em envelhecimento, pessoas submetidas a cirurgias e pacientes oncológicos (AKTURK *et al.*, 2016; MICOZZI *et al.*, 2017; WANG *et al.* 2018, ZAIDI *et al.*, 2005). Embora existam tratamentos para infecções por *K. pneumoniae*, o surgimento de mecanismos de resistência aos antibióticos carbapenêmicos tem reduzido as opções terapêuticas e acarretado desfechos fatais.

As carbapenemases mais comuns em enterobactérias são as *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC; classe A). *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KP-KPC) está entre as espécies *K. pneumoniae* mais prevalentes, o que a torna resistente aos antibióticos carbapenêmicos, principal classe utilizada no tratamento (NORDMANN; DORTET; POIREL, 2012; PITOUT; NORDMANN; POIREL, 2015).

O primeiro micro-organismo produtor de KPC em *K. pneumoniae*, foi identificado em 1996 no leste dos Estados Unidos e, dentro de poucos anos, foram relatados globalmente (YIGIT *et al.*, 2001; NORDMANN; NAAS; POIREL, 2011). A rápida disseminação de genes de resistência mediada por plasmídeos e a crescente resistência aos carbapenêmicos são uma grande ameaça à saúde pública.

Em uma revisão sistemática e meta análise, Ramos-Castañeda *et al.*, (2018), demonstram que a taxa de mortalidade geral relacionada à infecção por KPC-KP varia de 41,0%, a 51,0%, tendo maior incidência em países menos desenvolvidos e em pacientes oncológicos. Um percentual igual a taxa de mortalidade pelo vírus Ebola, que fica em torno de 50%. Os autores (RAMOS-CASTAÑEDA *et al.*, 2018) ainda apontam para associação do aumento da taxa mortalidade nos últimos anos, com a falta de tratamentos seguros e eficazes contra esse micro-organismo.

Dentre as Enterobactérias, KP-KPC é o micro-organismo resistente mais predominante em infecções hospitalares no estado de Mato Grosso do Sul (RODRIGUES *et al.*, 2021).

2.1.3 *Candida* spp

O gênero *Candida* é composto por células leveduriformes e inclui aproximadamente 150 espécies, das quais cerca de 15 foram descritas como patogênicas (MAGALHÃES *et al.*, 2015; ODDS, 1987). Dentre essas, cinco espécies apresentam maior prevalência: *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. Espécies do gênero *Candida* são leveduras comensais comuns na pele humana normal e na microbiota intestinal e presente em até 60% dos indivíduos saudáveis, mas podem levar ao desenvolvimento de infecções denominadas candidíases, que variam desde lesões superficiais até infecções disseminadas (ANTINORI *et al.*, 2016; DELALOYE; CALANDRA, 2014; PAPPAS *et al.*, 2018).

Candida spp. tem caráter oportunista e são consideradas a causa mais frequente de infecções fúngicas humanas. Afetam principalmente pacientes críticos em unidades de terapia intensiva, aqueles submetidos a cirurgia abdominal, que se encontram com cateteres de demora

ou venosos, pacientes neutropênicos, imunossuprimidos e oncológicos (ANTINORI *et al.*, 2016; MATTOS *et al.*, 2017; STROLLO *et al.*, 2017).

Estima-se que, anualmente, cerca de um bilhão de pessoas têm infecções fúngicas na pele, unhas e cabelos, milhões têm candidíase na mucosa e mais de 150 milhões de pessoas têm doenças fúngicas graves, resultando em aproximadamente 1,7 milhão de mortes por ano (BONGOMIN *et al.*, 2017; KAINZ *et al.*, 2020).

De modo geral, *C. albicans* é o patógeno mais frequentemente isolado em candidíases invasivas, mas espécies de *Candida* não *albicans*, coletivamente, podem representar mais de 50% dos isolados da corrente sanguínea em certas regiões (BONGOMIN *et al.*, 2017; KAINZ *et al.*, 2020; PAPPAS *et al.*, 2018). Tem havido um aumento preocupante em infecções causadas por espécies de *Candida* não *albicans*. Dentre essas, as espécies mais relatadas são *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei* (BONGOMIN *et al.*, 2017; PAPPAS *et al.*, 2018). O aumento da prevalência de espécies de *Candida* não *albicans* é preocupante devido ao surgimento de resistência antifúngica, principalmente aos azólicos e às equinocandinas, principais opções de tratamento (ANTINORI *et al.*, 2016). De modo geral, nota-se que a prevalência de *C. glabrata* tem aumentado, seguida de *C. parapsilosis* (PAPPAS *et al.*, 2018).

No estado de Mato Grosso do Sul já foi documentada a emergência de espécies de *Candida* com sensibilidade reduzida aos antifúngicos, bem como o surgimento de resistência a drogas azólicas, principalmente em espécies de *Candida* não *albicans* (MATTOS *et al.*, 2017).

Candida auris é um patógeno recém-descrito que representa uma ameaça global, devido a sua multirresistência aos antifúngicos disponíveis e o número crescente de países que tem relatado casos de infecção por esse micro-organismo (PAPPAS *et al.*, 2018).

Oitenta por cento das infecções fúngicas relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são causadas por *Candida* spp., sendo que de 30 – 40% dos casos levam à sepse ou choque séptico (DELALOYE; CALANDRA, 2014).

Além das candidíases invasivas representarem uma importante causa de morbimortalidade, demandam maior tempo de internação e custos de tratamento bastante elevados. Nos Estados Unidos, no período de 2002 a 2012, houve um custo médio anual superior a US\$ 2 bilhões no tratamento de pacientes com candidemia ou candidíase invasiva (STROLLO *et al.*, 2017).

2.2 PRODUTOS NATURAIS

Os produtos naturais são amplamente utilizados no tratamento de doenças desde a antiguidade. O conhecimento empírico sobre as propriedades terapêuticas das plantas foi acumulado e transmitido de geração em geração, tornando os medicamentos derivados de plantas o principal tratamento para patologias durante milhares de anos (THOMFORD *et al.*, 2018).

O uso terapêutico da flora é anterior à escrita, sendo que o primeiro registro arqueológico data 60 mil anos e aponta que os Neandertais foram os primeiros usuários de plantas para fins medicinais (HARDY, 2012; CALIXTO, 2019). O conhecimento sobre as propriedades terapêuticas das plantas foi construído gradativamente, por meio da observação, experiência e prática, integrando-o à atual medicina tradicional.

Com o passar do tempo e os avanços técnico-científicos, o uso de plantas como medicamentos foi sendo substituído gradativamente por medicamentos sintéticos (CALIXTO, 2019). Entretanto, nos últimos anos, tem-se observado o crescente interesse pelo uso das plantas medicinais como método terapêutico novamente (CHEIKHYOUSSEF *et al.*, 2011). Embora a medicina moderna esteja bem desenvolvida na maioria dos países, a OMS reconhece que a medicina tradicional é uma parte importante e muitas vezes subestimada dos cuidados de saúde, especialmente às populações que têm pouco acesso aos sistemas de saúde e dependem da medicina tradicional para sua atenção primária (WHO, 2013).

Os produtos naturais derivados de plantas têm sido um recurso de grande relevância no desenvolvimento de modernas drogas terapêuticas (CHEIKHYOUSSEF *et al.*, 2011; NEWMAN; CRAGG, 2012). Estima-se que, aproximadamente, 40% dos medicamentos atualmente disponíveis foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de fontes naturais, sendo as plantas responsáveis por 25% desse total (CALIXTO, 2019).

Newman e Cragg (2016) avaliaram o papel dos produtos naturais nos medicamentos aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) entre 1981 e 2014. Nesse período, dos 1.562 medicamentos aprovados, 64 (4%) eram produtos naturais inalterados, 141 (9,1 %) eram medicamentos botânicos (mistura), 320 (21%) eram derivados de produtos naturais e 61 (4%) eram drogas sintéticas, mas com produtos naturais farmacóforos. Esse fato ressalta a importância das plantas para a pesquisa farmacológica e o desenvolvimento de novas drogas, ainda que seus constituintes sejam utilizados indiretamente, como matérias-primas para a síntese, ou modelos para compostos farmacologicamente ativos.

Diversos fármacos foram isolados a partir de espécies vegetais como por exemplo a atropina, isolada da *Atropa belladonna*; cafeína, obtida da *Coffea arabica*; digoxina, isolada de *Digitalis lanatae*, morfina e codeína (potentes analgésicos) e papaverina (alcalóide antiespasmódico) isolados da *Papaver somniferum* (CALIXTO, 2019; DUTRA *et al.*, 2016).

O Brasil é o país que possui uma das mais ricas biodiversidades do mundo, com mais de 50.000 espécies de plantas catalogadas (20-22% do total planetário). Apesar da grande biodiversidade, poucos produtos inovadores foram desenvolvidos e comercializados no Brasil ou no exterior a partir de constituintes ativos derivados da sua flora (CALIXTO, 2019; DUTRA *et al.*, 2016). Todavia, o crescente número de artigos científicos publicados demonstra uma real possibilidade da descoberta de novos fármacos provenientes de produtos naturais.

2.3 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

As plantas produzem metabólitos secundários decorrentes do mecanismo de defesa contra herbivoria, ataque de patógenos, plantas competidoras, bem como para atração de agentes polinizadores, dispersores de sementes e ação protetora contra estresses abióticos (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Os metabólitos secundários são compostos por substâncias biologicamente ativas e vêm se destacando como fonte de recursos terapêuticos. São classificados em três grupos principais: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides (GUERRIERO *et al.*, 2018).

Os compostos fenólicos constituem um grupo quimicamente heterogêneo com, aproximadamente, 10.000 compostos, dentre os quais se destacam os flavonoides, os taninos e as cumarinas devido as suas propriedades farmacológicas (TAIZ; ZEIGER, 2006; VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Os flavonoides constituem a maior classe de fenólicos vegetais. Possuem a capacidade de induzir sistemas enzimáticos protetores humanos (KUMAR; PANDEY, 2013), efeitos antioxidantes contra processos degenerativos como doenças cardiovasculares, cânceres e outras doenças relacionadas à idade (KUMAR; PANDEY, 2013; PIETTA, 2000), atividade hepatoprotetora (TAPAS; SAKARKAR; KAKDE, 2008), propriedades anti-inflamatórias (MISHRA *et al.*, 2013), atividade sobre agentes infecciosos (bactérias, fungos e vírus) (CHEN *et al.*, 2014; DAVID; ARULMOLI; PARASURAMAN, 2016; JUCÁ *et al.*, 2020) e atividade moduladora do sistema imunológico (JUCÁ *et al.*, 2020).

Os taninos possuem, principalmente, atividade antioxidante (CRUZ *et al.*, 2020; MAISETTA *et al.*, 2019); antimicrobiana (CRUZ *et al.*, 2020; FERREIRA *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2013); antiviral (SZYMAŃSKA *et al.*, 2018) e anticâncer (CAI *et al.*, 2017).

As cumarinas também têm sido associadas a atividade antitumoral (PANNO; GIORDANO, 2014), anti-HIV (GARRO; PUNGITORE, 2015), antimicrobiana e antioxidante (KHAN *et al.*, 2019; TAN *et al.*, 2017).

Os terpenos são o maior e mais diverso grupo estrutural de metabólitos secundários (ISAH *et al.*, 2018). Apresentam atividade antiviral (BALTIMA *et al.*, 2003; DINIZ *et al.*, 2021), anti-inflamatória (LIAW *et al.*, 2013), antioxidante (DAVID *et al.*, 2012), anticâncer (LUO *et al.*, 2011) e antimicrobiana (AHMED *et al.*, 2010; MOKOKA *et al.*, 2013).

Os alcaloides apresentam propriedades medicinais bastante diversas, incluindo atividade antifúngica (CRETTON *et al.*, 2016), antibacteriana (JASIM *et al.*, 2015) e antioxidante (GAN *et al.*, 2017). Dois medicamentos estão entre os alcaloides mais conhecidos: a morfina, derivada da *Papaver somniferum* e a atropina, derivada da *Atropa belladonna* (CUSHNIE; CUSHNIE; LAMB, 2014).

2.4 ESPÉCIES BOTÂNICAS

2.4.1 *Equisetum pyramidale* Gold.

Equisetum (Figura 1) é o único gênero representante da família Equisetaceae e possui cerca de 30 espécies. As espécies do gênero *Equisetum* possuem ampla distribuição geográfica, sendo encontradas em regiões temperadas, em áreas de pântanos e pastagens (LARGE *et al.*, 2006). No Brasil, as espécies deste gênero estão distribuídas na Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Goiás, e no cerrado de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (POTT; POTT, 2000).

Figura 1 – Representante do gênero *Equisetum*.



Nota: (a) caule aéreo de planta adulta; (b) estróbilos.
 Fonte: VINCENTZ, 2007; RUELLAN, 2021.

Equisetum pyramidale Gold. (*E. pyramidale*) é conhecida popularmente por cavalinha, pinheirinho, erva-canudo, cauda-de-raposa, árvore-de-natal (KISSMANN; GROTH, 2000). Na medicina popular é utilizada como remineralizante, diurética e anti-inflamatória (POTT; POTT, 2000). Pesquisas *in vivo* realizadas com o extrato etanólico de *E. pyramidale* mostraram potencial anti-inflamatório e cicatrizante (CARMIGNAN *et al.*, 2019; MATIAS, 2010; OLISKOVICZ *et al.*, 2006).

2.4.2 *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.

A família Asteraceae é o maior grupo dentro das Angiospermas e está representada por mais de 1600 gêneros e cerca de 24 mil espécies, com distribuição cosmopolita e com maior abundância nas regiões temperadas e semiáridas dos trópicos e subtropicais (BENTHAM, 1873; FUNK *et al.*, 2009).

Porophyllum é um dos cinco gêneros encontrados no Brasil e possui aproximadamente 28 espécies (BREMER, 1994; ROQUE, TELES, NAKAJIMA, 2017). *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. (*P. ruderale*) (Figura 2) é nativa do Brasil e distribuída em todas as regiões do País (CARNEIRO, 2020; KISSMAN, GROTH, 1997).

Figura 2 – *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.



Nota: (a) planta adulta; (b) flores.
 Fonte: DJATMIKO, 2010.

Popularmente é conhecida como couvinha, arnica-paulista, couve-cravinho, erva-fresca, arnica-brasileira, arnica-do-campo e picão-branco (MOREIRA; BRAGANÇA, 2011), sendo utilizada na cicatrização de feridas, como anti-inflamatório, fungicida, antibacteriano, analgésico, dentre outros (LIMA-NETO, 1996).

Pesquisas com extratos de *P. ruderale* tem indicado atividade antimicrobiana (BUSSMANN *et al.*, 2010), atividade anti-inflamatória e cicatrizante (JÁCOMO *et al.*, 2015), atividade antiepilética e ansiolítica (AWAD *et al.*, 2009) e atividade sobre *Leishmania amazonensis* (TAKAHASHI *et al.*, 2011).

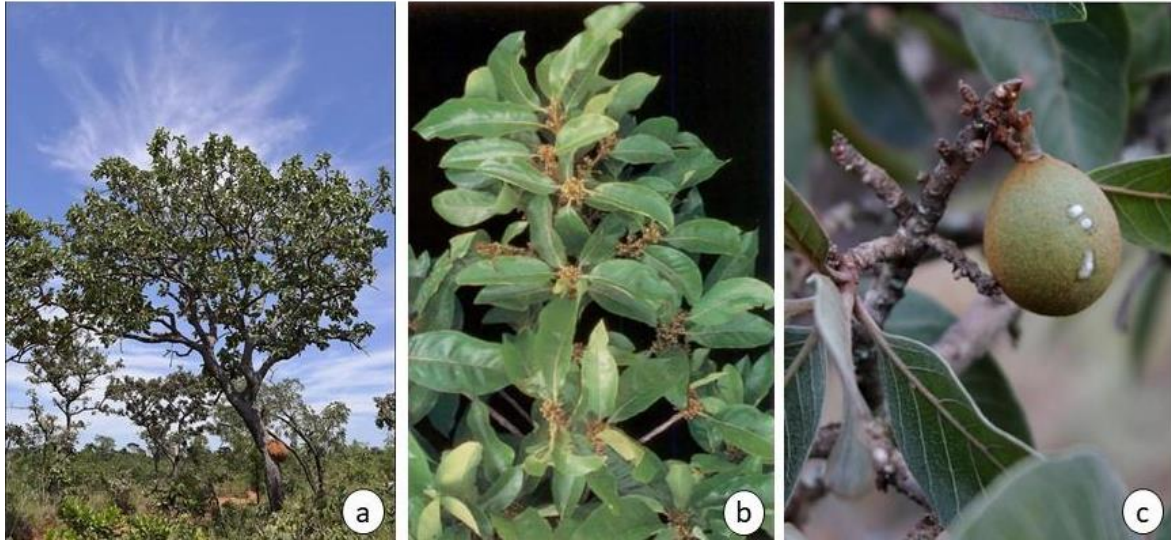
2.4.3 *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk.

A família Sapotaceae está distribuída mundialmente, embora a maioria das espécies concentrem-se em regiões tropicais e subtropicais da Ásia e América do Sul (SWENSON; ANDERBERG, 2005). Dentre os principais gêneros destaca-se *Pouteria* Aubl., que possui cerca de 330 espécies distribuídas pela região Neotropical e 122 espécies registradas no Brasil (ALVES-ARAÚJO, 2015; PENNINGTON, 1990).

Pouteria ramiflora (Mart.) Radlk. (*P. ramiflora*) (Figura 3) é conhecida popularmente como curriola, abiu, fruta-do-veado, massaranduba, abiu-cutite, dentre outros (ALVES

ARAÚJO, 2015). É nativa do Brasil e amplamente distribuída pelo território brasileiro, sendo presente nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (ALVES-ARAÚJO, 2020).

Figura 3 – *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk.



Nota: (a) planta adulta; (b) folhas e inflorescências; (c) fruto imaturo.
Fonte: MERCADANTE, 2015; MERCADANTE, 2013.

Na medicina popular *P. ramiflora* é utilizada no tratamento de verminoses, diarreia, náusea, vômito, dor e inflamação (FONTES JÚNIOR *et al.*, 2009; SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009; TUTTIS *et al.*, 2018).

Estudos *in vivo* demonstraram atividade antinociceptiva e anti-inflamatória (FERREIRA, 2016; FONTES JÚNIOR *et al.*, 2009) e efeito neuroprotetor e antioxidante em animais diabéticos (COSTA *et al.*, 2013). *In vitro* foram verificadas atividade larvicida, anti-HIV e antimicrobiana (BEDOYA *et al.*, 2008; COELHO, 2006; NOGUEIRA, 2012).

2.4.4 *Smilax fluminensis* Steud.

Smilicaceae é uma família composta por lianas, representada por três gêneros e com distribuição tropical e subtropical, mais raramente em regiões temperadas (ANDREATA, 2003). *Smilax* é o maior gênero e mais importante da família, devido não somente ao número de espécies, mas, principalmente, pelo seu amplo uso na medicina popular (ANDREATA, 1997).

Plantas do gênero *Smilax* são utilizadas na medicina popular desde o século XIX como diurético, no tratamento de sífilis, reumatismo e afecções cutâneas (BREITBACH *et al.*, 2013;

MARTINS *et al.*, 2014; MEDEIROS, DE SENNA-VALLE; ANDREATA, 2007). Estudos com espécies do gênero identificaram outras propriedades farmacológicas, tais como: atividades anti-inflamatória e analgésica (JIANG *et al.*, 1997; MONTEIRO; ANDREATA, 1997; RAJESH; PERUMAL, 2014), atividade antimicrobiana e antimutagênica (XU *et al.*, 2013) e propriedades anticancerígenas (COX; JAYASINGHE; MARKHAM, 2005).

No Brasil, *Smilax fluminensis* Steud. (*S. fluminensis*) (Figura 4) é conhecida popularmente como salsaparrilha ou japicanga e está distribuída pelos domínios fitogeográficos da Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal (ANDREATA, 2015; FRAGA, ANDREATA, 2020).

Figura 4 – *Smilax fluminensis* Steud.



Nota: (a) partes aéreas de planta jovem; (b) folhas e fruto.
Fonte: a autora; DUPONT, 2016.

Estudos sobre *S. fluminensis* concentram-se nas áreas de morfoanatomia e determinação do perfil químico da planta. Uma pesquisa avaliou a atividade antifúngica (BRITO *et al.*, 2021) e, até momento, não há estudos que avaliem a atividade antimicrobiana da espécie.

2.4.5 *Tapirira obtusa* (Benth.) J.D. Mitch.

Anacardiaceae é uma família constituída de aproximadamente 81 gêneros e 800 espécies sendo predominantemente encontradas em regiões tropicais e subtropicais com algumas espécies também sendo encontradas em regiões temperadas (MARTINELLI; MORAES, 2013).

Tapirira obtusa (Benth.) J.D. Mitch. (*T. obtusa*) (Figura 5) distribui-se da região tropical do México até a América do Sul; no Brasil ocorre nas formações vegetacionais da Amazônia, no Cerrado e Mata Atlântica, sendo pouco expressiva no Nordeste (SILVA-LUZ *et al.*, 2020; STANDLEY; STEYERMARK, 1949). É conhecida popularmente como pombeiro, pau-pombo, pau-de-pomba, copiúba e copiúva (SILVA-LUZ *et al.*, 2020).

Figura 5 – *Tapirira obtusa* (Benth.) J.D. Mitch.



Nota: (a) planta adulta; (b) folhas e fruto imaturo.
Fonte: ZAPPI, 1988.

Na medicina popular casca e folhas de *T. obtusa* são utilizadas em decocção ou infusão, para doenças de pele e sífilis, respectivamente (CARVALHO, 2006). Devido a escassez de estudos sobre essa espécie, ela representa uma fonte de pesquisas em potencial.

Considerando o conhecimento popular e poucos estudos realizados com as espécies descritas acima, elas foram a base dos nossos estudos na busca por novos agentes terapêuticos.

3 OBJETIVOS

Objetivo geral: Avaliar a atividade antimicrobiana, antioxidante e os constituintes fitoquímicos dos extratos de *Equisetum pyramidale*, *Pouteria ramiflora*, *Porophyllum ruderale*, *Tapirira obtusa* e *Smilax fluminensis*.

Objetivos específicos:

- a. Realizar a análise fitoquímica dos extratos de *E. pyramidale*, *P. ramiflora*, *P. ruderale*, *T. obtusa* e *S. fluminensis*.
- b. Investigar a capacidade antioxidante *in vitro* dos extratos vegetais.
- c. Verificar a atividade antimicrobiana dos extratos de *E. pyramidale*, *P. ramiflora*, *P. ruderale*, *T. obtusa* e *S. fluminensis* frente a isolados clínicos resistentes de *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* e cepas ATCC de leveduras do gênero *Candida*.

4 METODOLOGIA

4.1 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

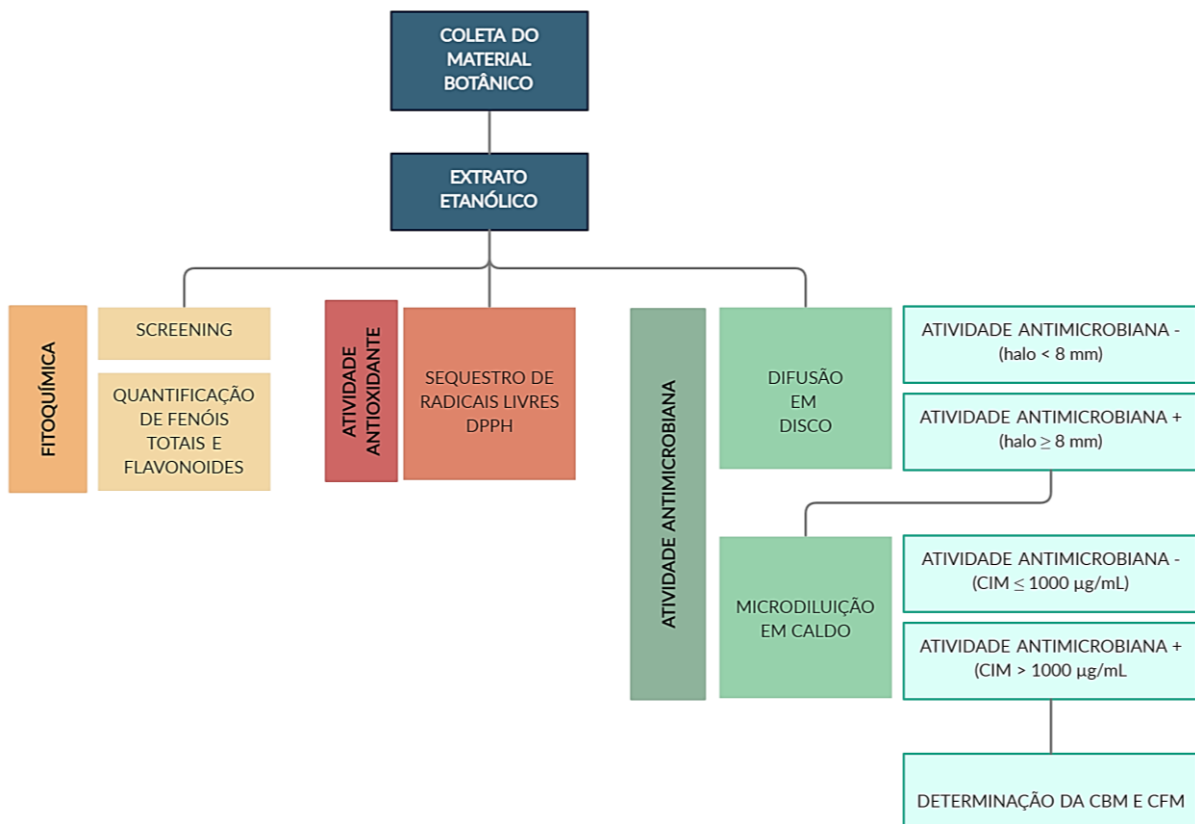
4.1.1 Local da pesquisa

Os experimentos foram realizados no Laboratórios de Pesquisas Microbiológicas da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (FACFAN/UFMS); no Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Anhanguera-Uniderp, no município de Campo Grande-MS e no Laboratório de Química Orgânica do Instituto Federal de Educação, Ciência de Tecnologia de Mato Grosso Do Sul (IFMS) no município de Coxim-MS.

4.1.2 Delineamento experimental

As etapas executadas no desenvolvimento deste trabalho estão sumarizadas na Figura 6.

Figura 6 – Fluxograma das atividades desenvolvidas



Nota: CIM = Concentração Inibitória Mínima; CBM = Concentração Bactericida Mínima; CFM = Concentração Fungicida Mínima.

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

4.1.3 Coleta e identificação das espécies vegetais

O material botânico (folhas e caule/folhas) utilizado foi coletado na área de Cerrado na cidade de Campo Grande e em Taboco, distrito de Corguinho, Mato Grosso do Sul, Brasil (Figura 7). Para a coleta e fins de pesquisa foi obtida autorização de acesso ao patrimônio genético do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN) sob o registro nº 010579/2013-3.

Figura 7 – Quadro das espécies vegetais, órgão vegetal, local e data de coleta e número de registro no Herbário

Espécies Vegetais	Órgão Vegetal	Local	Data	Reg.
<i>Equisetum pyramidale</i> Golden	Folhas e	Campo Grande – MS (S20°26'16,6" O54°32'14,5")	Dezembro 2019	2214
<i>Porophyllum ruderale</i> Jacq.	Caules	Campo Grande – MS (S20°26'20.64" O54°32'26.78")	Dezembro 2019	8021
<i>Smilax fluminensis</i> Steud.	Folhas		Agosto 2019	8569
<i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk. /	Folhas	Taboco, Distrito de Corguinho – MS (20°29'54.47" S 55°48'48.49" O e	Agosto 2019	7829
<i>Tapirira obtusa</i> (Benth.) J.D. Mitch.		19°26'7.60" S 55°00'2.78" O)	Dezembro 2019	8439

Identificação: Ademir Kleber Morbeck de Oliveira. Reg.= Registro no Herbário da Uniderp.
Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

4.1.4 Obtenção dos extratos

As folhas de cada espécie, e especificamente caule e folhas de *E. pyramidale* e *P. ruderale*, após secagem em estufa, com circulação de ar (40° C) e trituração, foram extraídas com etanol, em banho de ultrassom (Unidque®, USC-1450) por 60 minutos seguido de maceração estática por 24 h. Após este período, os extratos resultantes foram filtrados (funil de vidro e algodão) e a eliminação do solvente ocorreu em evaporador rotativo (Tecnal®, MA120). Este procedimento foi repetido por sete dias e a secagem final ocorreu em dessecador sob pressão reduzida para obter o extrato bruto etanólico.

4.1.5 Análise fitoquímica

Para realizar o rastreamento químico dos constituintes presentes em cada extrato etanólico, foi obtida uma solução etanólica a 20% dos cinco extratos e estas soluções foram submetidas à triagem fitoquímica seguindo os procedimentos de Matos (2009) e Simões *et al.* (2017). A exceção foi à análise de saponinas, determinada utilizando-se 1 g da folha seca para estimar o índice de saponinas (índice afrosimétrico) (SCHENKEL *et al.*, 2017).

As análises foram executadas em triplicatas e comparados os extratos originais a 20% com o controle. As leituras dos resultados foram feitas por meio da observação da alteração de cor e/ou precipitação e formação de espuma, o que é indicativo da alta concentração de uma das classes de metabólitos secundários presentes em cada um dos extratos etanólicos que foi denominado como: fortemente positivo com alta intensidade (+++), positivo acentuada (++±), positiva (++), medianamente positivo (+±), positiva discreta (+), parcial (±) e negativo (-), com escore classificado em 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 5% e zero (0), respectivamente. O escore é dado pelo somatório dos pontos obtidos na avaliação de precipitação, intensidade de cor e no caso das saponinas na formação de espuma, com base em metodologia adaptada de Fontoura *et al.* (2015).

Para a confirmação dos grupos químicos, o extrato bruto (1,0 mg/1,0 mL) foi diluído em álcool metílico para HPLC (Merck®) e submetido a análise em espectrofotômetro (FEMTO®, 800XI), tendo como branco o álcool metílico. As medidas das bandas de absorvância máxima (Amax.) foram realizadas em triplicatas, registradas e analisadas com base nos dados da literatura (PIIRONEN *et al.*, 2000; JURASEKOVA *et al.*, 2006; KASAL; BUDESINSKY; GRIFFITHS, 2010; SILVERSTEIN *et al.*, 2014).

4.1.6 Quantificação de Fenóis totais e Flavonoides

A determinação de fenóis totais (FT) foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu, utilizando ácido gálico (Vetec®, 99%) como padrão, nas concentrações de 10, 50, 100, 150, 300 e 400 µg/mL (SOUZA *et al.*, 2007), para construir a curva de calibração ($y = 0,1326 x + 0,0045$, $R^2 = 0,9978$). A leitura da absorvância da mistura de reação da amostra, padrão e branco, ocorreu a 760 nm em espectrofotômetro (Femto®, 800XI). Todos os reagentes, exceto a amostra, foram preparados como branco. As análises foram desenvolvidas em triplicata e o teor de polifenóis foi determinado em miligramas de ácido gálico/g do extrato.

Os flavonoides foram avaliados pelo método cloreto de alumínio (Vetec, 99,5%) e como padrão foi utilizado quercetina (Sigma, $\geq 95\%$), concentrações de 6,0, 8,0, 10,0, 12,0, 16,0 e 20,0 $\mu\text{g/mL}$, para construir a curva de calibração ($Y = 0,0633x - 0,0061$ $R^2 = 0,999$) (PEIXOTO SOBRINHO *et al.*, 2008).

4.1.7 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos etanólicos das espécies vegetais *E. pyramidale*, *P. ruderale*, *P. ramiflora*, *S. fluminensis* e *T. obtusa* foi avaliada pelo método de sequestro de radicais livres DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) de acordo com Mensor *et al.* (2001), com pequenas modificações. Alíquotas dos extratos foram solubilizadas em etanol absoluto (Êxodo Científica[®]) até uma concentração final de 50 mg/mL . A solução estoque de DPPH foi preparada a partir da dissolução de 2,4 mg de DPPH (Sigma[®]) em volume final de 100 mL de metanol, conforme descrito por Rufino *et al.* (2007).

A amostra constituiu de 0,1 mL do extrato diluído, 1,0 mL de solução estoque de DPPH e 3,0 mL de etanol absoluto. Para o branco 0,1 mL de extrato foram adicionados em 4,0 mL de etanol absoluto. O controle foi preparado ao diluir 1,0 mL de solução estoque de DPPH (60 μM) em 3,1 mL de etanol absoluto. As soluções foram incubadas em temperatura ambiente, no escuro, por 45 minutos. Após, a redução da absorbância foi medida a 517 nm em espectrofotômetro (BEL Photonics, Modelo V-M5) em cubetas de vidro. Os testes foram realizados em triplicata e a inibição do radical livre DPPH (em %) foi calculada pela equação: $AA\% = 100 - [(Aa - Ab) \times 100] / Ac$, em que: Aa representa absorbância da amostra; Ab é a absorbância do branco e Ac é a absorbância do controle.

4.1.8 Teste de susceptibilidade antimicrobiana

4.1.8.1 Micro-organismos

Nos testes de suscetibilidade *in vitro* foram utilizadas cepas de referência *American Type Culture Collection* de *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), *Candida krusei* (ATCC 6258) e *Candida glabrata* (ATCC 2001). Também foram utilizados os isolados clínicos resistentes: um *Staphylococcus aureus*, MRSA (resistente aos antimicrobianos oxacilina e penicilina G) e uma cepa de *Klebsiella pneumoniae* sabidamente produtora de carbapenemase (KP-KPC), a qual além dos carbapenêmicos, era também

resistente aos antibióticos das classes dos aminoglicosídeos, cefalosporinas, cefamicina, fluorquinolonas e fosfomicina, sendo sensível apenas à polimixina. No teste de microdiluição em caldo com os isolados clínicos a bactéria *Escherichia coli* (ATCC 25922) foi utilizada como controle positivo.

Os micro-organismos foram selecionados da coleção do Laboratório de Pesquisas Microbiológicas (LPM-FACFAN/UFMS). Os isolados clínicos MRSA e KP-KPC fazem parte de estudos prévios aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul sob CAAE nº 20621919.4.0000.0021 e CAAE nº 50087815.2.0000.0021, respectivamente. Os micro-organismos estavam armazenados sob congelamento em caldo Brain Heart Infusion (BHI) (Himedia[®], Mumbai, Índia) com 15% de glicerol. Para reativação foram colocadas em tubos com BHI e incubadas a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, *E. coli* e KP-KPC foram repicadas em placas com Ágar MacConkey (Oxoid[®], Basingstoke, Inglaterra), MRSA em ágar Sangue de Carneiro (Himedia[®], Mumbai, Índia) e *Candida* spp. em ágar Sabouraud Dextrose (ASD) (Sigma[®], St. Louis, USA) e incubadas a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

4.1.8.2 Método de difusão em disco

A triagem inicial da atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos foi realizada pela técnica de difusão em disco adaptada de Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012a). Inicialmente, foram preparados discos contendo os extratos. Para prepará-los, o extrato bruto foi suspenso em água destilada estéril a fim de obter o extrato em duas concentrações diferentes: 2000 µg/disco e 500 µg/disco. Discos de papel (Cecon[®], São Paulo, Brasil) de 6 mm de diâmetro, estéreis, receberam 20 µL do extrato nas duas concentrações. Foram secos em cabine de segurança microbiológica por 15 min, vedados e armazenados em temperatura ambiente para uso no dia seguinte.

A partir de uma cultura pura de 24 h de cada micro-organismo, foi realizada uma suspensão bacteriana em salina estéril (0,85%) com turbidez equivalente a escala 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Com um *swab*, a suspensão foi semeada confluentemente na superfície de uma placa contendo Ágar Mueller Hinton (AMH) (Himedia[®], Mumbai, Índia). Em seguida, foram adicionados os discos nas diferentes concentrações do extrato, bem como o controle positivo (cloranfenicol 30 µg para as bactérias e fluconazol 25 µg para as leveduras, ambos Cecon[®], São Paulo, Brasil) e o controle negativo (água destilada estéril).

Em seguida, as placas foram invertidas e incubadas a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Transcorridas 18 h para as bactérias e 24h para as *Candida* spp., os diâmetros dos halos de inibição foram mensurados

em milímetros, considerando a área sem crescimento detectável a olho nu. Os testes foram realizados em duplicata.

Os extratos que apresentaram zonas de inibição maiores ou iguais a 8 mm de diâmetro foram considerados ativos (BHALODIA; SHUKLA, 2011; PANDA *et al.*, 2016; SAQUIB *et al.*, 2019) e selecionados para a próxima etapa.

4.1.8.3 Método de microdiluição em caldo

Os extratos que apresentaram atividade antimicrobiana pela técnica de difusão em disco foram utilizados para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) pela técnica de microdiluição em caldo (adaptado de CLSI, 2012b). Nos ensaios de microdiluição com leveduras foi utilizado o meio RPMI 1640 (Sigma[®], Saint Louis, EUA) tamponado com ácido morfolino- propanosulfônico (MOPS) (Sigma[®], Saint Louis, EUA), pH 7,0, conforme CLSI (2008). E nos testes com bactérias foi utilizado o caldo Mueller Hinton cátion ajustado de acordo com CLSI (2012b).

4.1.8.4 Diluição dos antimicrobianos e dos extratos

Previamente, foram preparadas soluções estoque dos agentes antimicrobianos utilizados como controle positivo. O fluconazol (FLU) (Sigma[®], Saint Louis, EUA) foi diluído em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração 1280 µg/mL (CLSI, 2008; CLSI, 2020). O ertapenem (ERT) (Sigma[®], Saint Louis, EUA) foi diluído em tampão fosfato, pH 7,2; 0,01 mol/mL, na concentração 640 µg/mL. Alíquotas dos antimicrobianos foram distribuídas em criotubos e mantidas sob refrigeração à -20 °C. Para o teste foram preparadas soluções de trabalho diluindo uma alíquota da solução estoque em meio de cultura a fim de se obter uma concentração de 128 µg/mL para FLU e uma concentração de 64 µg/mL para ERT.

Para o preparo da solução de trabalho dos extratos, 8 mg de massa de cada espécie vegetal foi solubilizada em 1 mL de água destilada estéril e agitada em vórtex até completa homogeneização, obtendo uma concentração igual a 8.000 µg/mL.

4.1.8.5 Preparo do inóculo

Para o preparo do inóculo foram utilizadas culturas recentes de até 24 h. De cada micro-organismo, foi realizada uma suspensão em salina (0,85%) estéril com turbidez equivalente a

escala 0,5 de McFarland. Cada suspensão de levedura foi diluída em meio RPMI tamponado, para a obtenção de um inóculo na placa de 2×10^3 CFU/mL (CLSI, 2008). Cada suspensão bacteriana foi diluída em CAMHB a fim de se obter uma concentração final no inóculo na placa de aproximadamente 5×10^5 CFU/mL (CLSI, 2012b).

4.1.8.6 Procedimento do teste

Em uma placa de microtitulação de 96 poços, na coluna 1, linhas A – D, foram adicionados apenas 200 μ L do meio de cultura em cada poço (controle negativo). Ainda na coluna 1, linhas E – H, foram inseridos 50 μ L de água destilada estéril, 50 μ L de meio de cultura e 100 μ L do inóculo em cada poço, correspondendo ao controle negativo do solvente do extrato. A coluna 12 foi considerada como controle positivo onde foram inoculados 100 μ L da suspensão microbiana em 100 μ L do meio de cultura.

Em cada poço nas colunas 2 a 11 (linhas A – D) foram adicionados 100 μ L do meio de cultura. Posteriormente, na coluna 2 (linhas A – B) foram colocados 100 μ L do fármaco, homogeneizado e retirados 100 μ L passando para a coluna 3; desta também foram retirados 100 μ L e repassados a coluna 4 e assim sucessivamente até a coluna 11, e desprezando-se após homogeneização os 100 μ L em excesso. O mesmo procedimento foi repetido com a solução de trabalho do extrato nas linhas C e D. Por fim, foram colocados 100 μ L da suspensão microbiana em cada poço, exceto nos poços para controle de esterilidade do meio. Ao final da diluição seriada obteve-se concentrações que variaram de 64 a 0,125 μ g/mL para FLU, 32 a 0,062 μ g/mL para ERT e 2000 a 3,91 μ g/mL para os extratos. O procedimento foi realizado da mesma maneira para se obter a CIM dos extratos sobre MRSA e KP-KPC. As placas foram incubadas a $35^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ por 20h para as bactérias e 24 h para as *Candida* spp.

Após o período de incubação, a leitura foi realizada visualmente com auxílio de um espelho côncavo, comparando o crescimento microbiano do controle positivo com os crescimentos microbianos sob efeitos dos antimicrobianos e dos extratos vegetais. Para a interpretação dos resultados foi considerada a CIM como a menor concentração capaz de inibir em 100% o crescimento bacteriano. Para a interpretação do crescimento das leveduras foram utilizados escores de crescimento (CLSI, 2017; MATTOS, 2017) os quais indicam o grau de inibição ou de crescimento do micro-organismo:

a) escore 4: quando não houve nenhuma redução no crescimento quando comparado ao controle positivo. Pode ser referido como 100% de crescimento e 0% de inibição do crescimento;

b) escore 3: quando ocorre uma pequena redução do crescimento comparado ao controle positivo. Pode ser referido como 80% de crescimento ou 20% de inibição de crescimento;

c) escore 2: quando é possível observar uma redução significativa no crescimento comparado ao controle. Considerado como 50% de crescimento ou 50% de inibição de crescimento;

d) escore 1: ocorrência de um pequeno crescimento comparado ao controle positivo. Considerado 20% de crescimento ou 80% de inibição;

e) escore 0 (zero): ausência de crescimento visível. Considerado sem crescimento ou 100% de inibição.

Embora ainda não exista uma padronização das concentrações inibitórias mínimas para extratos vegetais quando comparados aos antimicrobianos padrão, é crescente o número de autores que têm utilizado o seguinte parâmetro para a descrição de atividade antimicrobiana de produtos naturais: CIM ≤ 100 $\mu\text{g/ml}$ como atividade antimicrobiana potencialmente promissora, CIM de 100 a 500 $\mu\text{g/ml}$ como atividade antimicrobiana moderada, CIM de 501 a 1000 $\mu\text{g/mL}$ como atividade antimicrobiana leve e CIM >1000 $\mu\text{g/mL}$ como inativo (BOGUSZEWSKA-CZUBARA *et al.*, CERVEIRA *et al.*, 2021; SILVA, 2013; HOLETZ *et al.*, 2002).

4.1.8.7 Determinação da Concentração Bactericida Mínima e da Concentração Fungicida Mínima

Para determinar a Concentração Bactericida Mínima (CBM) uma alíquota de 10 μL foi retirada dos poços em que não se verificou o crescimento bacteriano. Cada alíquota foi inoculada em placas de Petri contendo AMH estéril e incubadas a $35^\circ \pm 2^\circ \text{C}$.

Para determinar a Concentração Fungicida Mínima (CFM) uma alíquota de 10 μL foi retirada dos poços em que não se observou a presença de leveduras. Cada alíquota foi inoculada em placas de Petri contendo ASD estéril e incubadas a $35^\circ \pm 2^\circ \text{C}$.

Após 24 h as placas foram analisadas e a CBM e a CFM foram definidas como a menor concentração do extrato em que não se verificou crescimento microbiano na superfície de ágar (VALLE JR *et al.*, 2015; MOGANA *et al.*, 2020). Foi considerada atividade bacteriostática e fungistática do extrato quando houve crescimento microbiano e atividade bactericida e fungicida do extrato quando não houve crescimento microbiano na superfície do ágar.

4.2 ORGANIZAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS

Para organização e tabulação dos dados utilizou-se o programa Microsoft Excel[®]. A análise descritiva e a caracterização dos achados foram realizadas a partir da distribuição de frequência das variáveis selecionadas, cálculo de média e desvio padrão. Para análise estatística foi utilizado o teste de variância (ANOVA) para comparar o grupo de amostras. Para análise da diferença entre os resultados das amostras de atividade antioxidante e doseamento de compostos fenólicos e flavonoides, foi adotado o Teste de Tukey. Para todas as análises foi utilizado software RStudio 4.0 e adotado o nível de significância de 0,05.

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA

Para o rastreamento das classes de metabólitos secundários nos extratos das espécies *E. pyramidale*, *P. ruderale*, *P. ramiflora*, *S. fluminensis* e *T. obtusa* foi realizado um *screening* fitoquímico e os resultados dos escores estão apresentados na Figura 8.

Figura 8 – Quadro dos metabólitos secundários e valores das absorvâncias dos extratos etanólicos das espécies *Equisetum pyramidale*, *Porophyllum ruderale*, *Pouteria ramiflora*, *Smilax fluminensis* e *Tapirira obtusa* provenientes do Cerrado sul-mato-grossense, Brasil

Metabólitos Secundários	Espécies Vegetais				
	<i>E. pyramidale</i>	<i>P. ramiflora</i>	<i>P. ruderale</i>	<i>S. fluminensis</i>	<i>T. obtusa</i>
Compostos fenólicos	+++	+++±	+++	+++	+++±
Flavonoides	++	++	++	+++±	++
Taninos	+±	+	+	+	±
Cumarinas	-	-	-	+	+
Esteroides	+	+++±	+±	+±	+
Triterpenos	+	+±	++	+±	+++
Saponinas	+±	+	+	+	+
Tiofenois	-	-	+	-	-
Número de Classes de Metab. Secund.	6	6	7	7	7
λ_{max}	270, 326, 335, 368	280,330, 350, 417	230, 260, 335, 390	290, 330, 380	250, 320, 390, 420

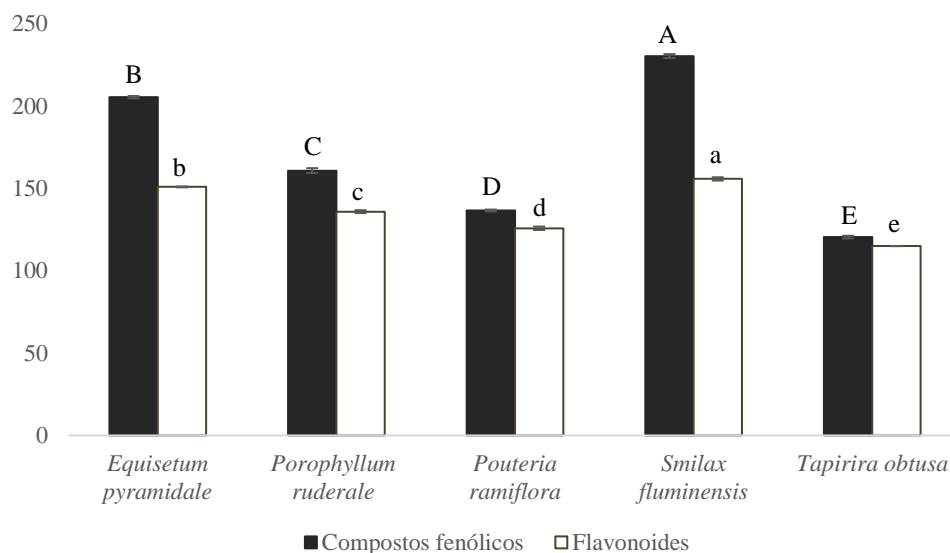
Nota: “+” presença; “-” ausência da classe de metabólitos secundários: fortemente positivo (+++= 100%), seguido de positivo acentuada (++±= 75%), positiva (++= 50%), medianamente positivo (+±= 25%), positiva discreta (+= 10%), parcial (±= 5%) e negativo (= 0), Metab. Secund.= metabólitos Secundários

Os resultados do *screening* fitoquímico dos extratos indicou que a *P. ruderale*, *S. fluminensis* e *T. obtusa* possuem maior diversidade de classes de metabólitos secundários (7 classes), seguido por *E. pyramidale* e *P. ramiflora* (6 classes) (Figura 8). Das classes investigadas os compostos fenólicos, flavonoides, taninos, esteroides, triterpenos, saponinas foram detectados em todas as espécies, com maior frequência dos compostos fenólicos (100 %) para *E. pyramidale*, *P. ruderale* e *S. fluminensis* e triterpenos para *T. obtusa*. As cumarinas foram detectadas apenas *S. fluminensis* e *T. obtusa* e os tiofenois no extrato de *P. ruderale*.

A confirmação das classes majoritárias observadas nos espectros de UV-vísivel (Figura 8), com absorção máxima semelhante em todas as amostras entre 320 e 390 nm, é característico de flavonoides e entre 240 e 290 nm dos compostos fenólicos. Especificamente os esteroides e triterpenos apresentam bandas na região de 410 a 440 nm, a banda em 230 nm observada na *P. ruderale* é indicativo de tiofenóis.

Os resultados do conteúdo de fenólicos totais dos cinco extratos etanólicos analisados encontram-se apresentados na Figura 9. Verifica-se que todos os extratos apresentaram quantidades relevantes de fenólicos totais, com destaque para o extrato etanólico de *S. fluminensis* com teor de $230,34 \pm 1,20$ mg/g (mg Catequina/g extrato) exibindo o mais elevado teor destes constituintes, entre os extratos estudados, sendo estatisticamente diferentes das demais ($p < 0,05$). Em sequência destaca-se os teores de fenólicos totais do extrato de *E. pyramidale* com teor de $205,4 \pm 0,70$ mg/g (mg Catequina/g extrato), seguido do extrato de *P. ruderale* (CF= $160,8 \pm 1,5$ mg/g mg (mg Catequina/g extrato); *P. ramiflora* (CF= $136,6 \pm 0,55$ mg/g (mg Catequina/g extrato) e *T. obtusa* (CF= $120,45 \pm 0,80$ mg/g (mg Catequina/g extrato)).

Figura 9 – Gráfico representativo dos teores de compostos fenólicos e flavonoides de *Equisetum pyramidale*, *Porophyllum ruderale*, *Pouteria ramiflora*, *Smilax fluminensis* e *Tapirira obtusa*



Valores expressos como média \pm desvio padrão (n=3). Os resultados de cada teste foram analisados separadamente por análise de variância (ANOVA). Médias com letras diferentes, na mesma coluna, são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey, sendo $p < 0,05$. Letras maiúsculas para compostos fenólicos, letras minúsculas para flavonoides.

Os resultados dos teores de flavonoides totais também foram superiores para *S. fluminensis* (Flav.= $155,77 \pm 0,99$ (Quercetina/g extrato)) e estatisticamente diferentes dos teores de flavonoides dos demais extratos. Os demais extratos apresentaram o mesmo perfil de fenóis com valores superiores do extrato de *E. pyramidale* com $150,9 \pm 0,25$ mg/g (Quercetina/g extrato), seguido de *P. ruderale* com $135,9 \pm 0,87$ mg/g (Quercetina/g extrato), *P. ramiflora* com $125,8 \pm 1,05$ mg/g (Quercetina/g extrato) e *T. obtusa* Flav= $115,0 \pm 0,05$ mg/g (Quercetina/g extrato).

5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

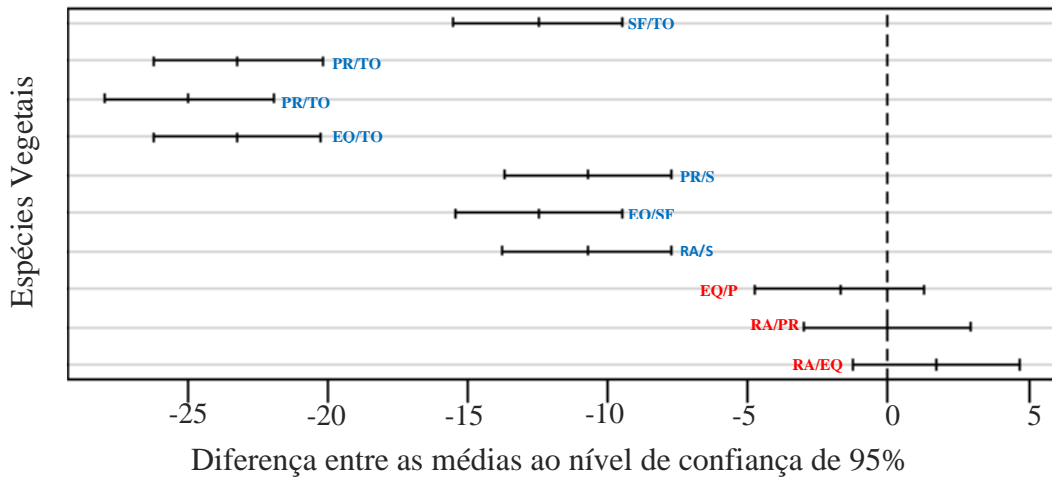
A tabela 3 demonstra a atividade antioxidante expressa em valor percentual médio \pm desvio padrão de sequestro do radical livre DPPH das espécies vegetais avaliadas. O extrato de *T. obtusa* apresentou maior atividade antioxidante ($82,36 \pm 0,44$), seguido de *S. fluminensis* ($69,89 \pm 1,06$).

Tabela 3 – Percentagem da atividade antioxidante pelo método DPPH dos extratos vegetais na concentração de 50 mg/mL

Espécies vegetais	Atividade antioxidante (%) \pm DP
<i>E. pyramidale</i>	$57,43 \pm 0,86$
<i>P. ruderale</i>	$59,16 \pm 1,31$
<i>P. ramiflora</i>	$59,13 \pm 1,16$
<i>S. fluminensis</i>	$69,89 \pm 1,06$
<i>T. obtusa</i>	$82,36 \pm 0,44$

De todas as análises realizadas, somente três pares de médias (*E. pyramidale* vs *P. ramiflora*, *P. ruderale* vs *P. ramiflora* e *P. ramiflora* vs *E. pyramidale*) não apresentaram diferenças. Todas as outras análises entre as médias apresentaram diferenças estatisticamente significativas com p-valor $<0,001$ (Figura 10).

Figura 10 – Comparação das médias da atividade antioxidante das espécies vegetais determinado pelo intervalo de confiança de Tukey



Nota: EQ=*E. pyramidale*; PR=*P. ruderale*; RA=*P. ramiflora*; SF=*S. fluminensis*; e TO=*T. obtusa*

5.3 TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA

5.3.1 Método de difusão em disco

Neste estudo foi avaliada a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de cinco espécies vegetais (*E. pyramidale*, *P. ramiflora*, *P. ruderale*, *T. obtusa* e *S. fluminensis*) sobre *Candida* spp., MRSA e KP-KPC.

Na triagem inicial realizada por meio da técnica de difusão em disco, o extrato de *S. fluminensis* demonstrou atividade antimicrobiana sobre *C. glabrata* nas duas concentrações testadas (500 µg/disco e 2000 µg/disco). No teste realizado sobre MRSA, os extratos de *E. pyramidale*, *T. obtusa* e *S. fluminensis* apresentaram halo de inibição apenas na maior concentração (2000 µg/disco). Já sobre KP-KPC, foi observado halo de inibição ao redor do disco de quatro extratos vegetais utilizados: *P. ruderale*, *E. pyramidale*, *P. ramiflora* e *T. obtusa*. Os extratos etanólicos das espécies vegetais e a média dos diâmetros dos halos de inibição considerados como atividade antimicrobiana (halos ≥ 8 mm) são demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Diâmetro dos halos de inibição por concentração dos extratos etanólicos vegetais sobre *Candida* spp., MRSA e KP-KPC pelo método de difusão em disco.

Espécies vegetais	C* µg/disco	Micro-organismos					
		<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	<i>Candida glabrata</i> ATCC 2001	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	MRSA	KP-KPC
<i>E. pyramidale</i>	500	0	0	0	0	0	8,0 ± 0,0
	2000	0	0	0	0	9,0 ± 0,0	10,5 ± 0,71
<i>P. ruderale</i>	500	0	0	0	0	0	11,5 ± 0,71
	2000	0	0	0	0	0	13,5 ± 0,71
<i>P. ramiflora</i>	500	0	0	0	0	0	0
	2000	0	0	0	0	0	9,5 ± 0,71
<i>S. fluminensis</i>	500	0	11,0 ± 0,0	0	0	0	0
	2000	0	15,0 ± 0,0	0	0	8,0 ± 0,0	0
<i>T. obtusa</i>	500	0	0	0	0	0	0
	2000	0	0	0	0	8,5 ± 0,71	9,0 ± 1,41
Fluconazol ¹	25	17,33 ± 0,52	17,33 ± 0,52	0	17,33 ± 0,52	nt	nt
Cloranfenicol ²	30	nt	nt	nt	nt	30,33 ± 1,37	nt
Ertapenem ³	10	nt	nt	nt	nt	nt	9,50 ± 0,84
Água destilada ⁴	-	0	0	0	0	0	0

Valores expressos em média ± desvio padrão (n=2); * Concentração em µg/disco; 0 ausência de atividade (halo de inibição ausente ou < 8 mm). ¹controle positivo para leveduras; ²controle positivo para MRSA; ³controle positivo para KP-KPC; ⁴controle negativo; nt não testado.

5.3.2 Microdiluição em caldo

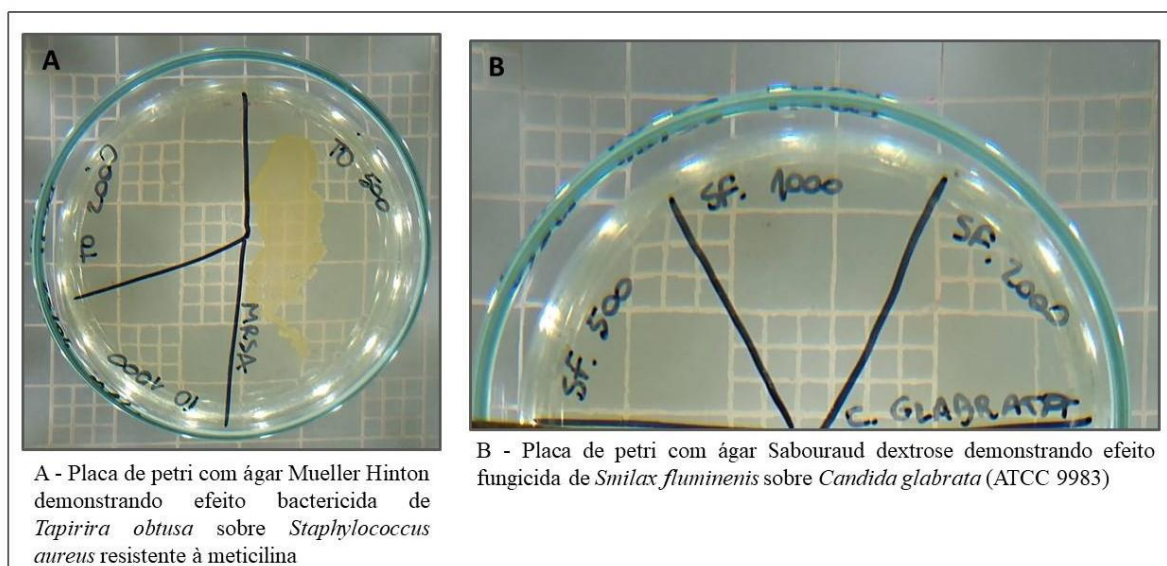
O próximo passo foi submeter os extratos etanólicos das plantas que apresentaram atividade antimicrobiana no teste de difusão em disco à determinação da CIM.

O teste de microdiluição em caldo com o extrato etanólico de *Smilax fluminensis* sobre *C. glabrata* apresentou uma CIM igual a 500 µg/mL. Extratos de *T. obtusa* sobre MRSA apresentaram uma CIM igual a 1000 µg/mL. Em contrapartida, os testes com o extrato de *E. pyramidale* e *S. fluminensis* sobre MRSA e de *E. pyramidale*, *P. ruderale*, *P. ramiflora* e *T. obtusa* sobre KP-KPC apresentaram CIM superior a 2000 µg/mL.

As drogas utilizadas como controle positivo (ERT e FLU) tiveram valores de CIM de acordo com os resultados preconizados pelos documentos do CLSI. O solvente utilizado no preparo dos extratos não inibiu o crescimento microbiano.

No ensaio para determinar a CBM do extrato de *T. obtusa* sobre MRSA o resultado foi de 1000 µg/mL (Figura 11 A). Nessa concentração o extrato teve atividade bactericida, pois não houve crescimento bacteriano na superfície do ágar. O resultado da determinação da CFM do extrato *S. fluminensis* sobre *C. glabrata* não houve crescimento de colônias na concentração 500 µg/mL (Figura 11 B), demonstrando que o extrato tem ação fungicida sobre *C. glabrata* nesta concentração.

Figura 11 – Determinação da CBM do extrato etanólico de *T. obtusa* e da CFM do extrato etanólico de *S. fluminensis*.



Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

6 DISCUSSÃO

A pesquisa com plantas, em especial aquelas de uso na medicina popular é complexa, envolve diversas etapas e é considerada de elevado custo. Assim, o *screening* é uma opção viável, por ser uma metodologia rápida e eficientes (SIMÕES *et al.*, 2010).

O extrato etanólico de *E. pyramidale* indicou diversidade nas classes de metabólitos secundários, com maior frequência no grupo de compostos fenólicos e flavonoides, seguido de taninos e saponinas e, com menor frequência, esteroides e triterpenos, conforme já observado (CARMIGNAN *et al.*, 2020; CORRÊA *et al.*, 2019).

Compostos fenólicos e flavonoides são fitoquímicos comuns em *P. ramiflora* (OLIVEIRA *et al.* 2017; TUTTIS *et al.*, 2018). A presença de triterpenos é característica de plantas pertencentes à família Asteraceae, incluindo *Porophyllum* (CORRÊA *et al.*, 2021; IBRAHIM *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2017). Nesta espécie, esteroides têm sido detectados em extratos etanólicos (CORRÊA *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2014) mas não identificados quando utilizado outro solvente na extração (OLIVEIRA *et al.*, 2014; TUTTIS *et al.*, 2018).

As classes mais representativas de metabólitos secundários em Asteraceae são os compostos fenólicos e os terpenos (BESSADA *et al.*, 2015; LIMA *et al.*, 2016), similarmente à presença de compostos fenólicos, flavonoides e triterpenos encontrados em *P. ruderale*. Outros autores (ATHAYDE *et al.*, 2019; CONDE-HERNÁNDEZ; GUERRERO-BELTRÁN, 2014; JÁCOMO *et al.*, 2015) identificaram a presença de compostos fenólicos em suas amostras, mas não identificaram a presença de triterpenos.

As classes de metabólitos secundários encontradas em *S. fluminensis* (compostos fenólicos, flavonoides, taninos, cumarinas, esteroides, triterpenos e saponinas) estão em conformidade com os resultados de Mendonça *et al.* (2019), incluindo presença expressiva de compostos fenólicos e flavonoides (PETRICA, SINHORIN, SINHORIN, 2014; SOARES, 2010).

Na *T. obtusa* foi evidenciada diversidade de metabólitos secundários, com predominância de compostos fenólicos e triterpenos, seguido de flavonoides (CORREIA *et al.*, 2001; MATIAS *et al.*, 2021).

A produção de metabólitos secundários pode ser alterada por fatores ambientais (localização, luz, temperatura, oferta hídrica, nutrientes e salinidade do solo), época de coleta do material vegetal, parte da planta utilizada ou, ainda, o método de obtenção do extrato pode

comprometer as análises das substâncias isoladas (FERRANDINO; LOVISOLO, 2014; GRIESSER *et al.*, 2015; VERMA; SHUKLA, 2015). Esse fato pode explicar a diferença na frequência de flavonoides e taninos encontrados em *P. ramiflora* (CORRÊA *et al.*, 2021), bem como na ausência de triterpenos em *P. ruderae* (ATHAYDE *et al.*, 2019; JÁCOMO *et al.*, 2015). Todavia, não é possível prever quais desses fatores foram responsáveis por alterar a presença ou identificação dos metabólitos secundários.

Quanto à atividade antioxidante, todos os extratos vegetais testados apresentaram atividade acima de 50% de sequestro do radical livre DPPH, o que sugere que esses extratos são compostos por substâncias com significativa atividade antioxidante. *Tapirira obtusa* demonstrou um alto potencial antioxidante. Embora desconheçamos outros estudos com *T. obtusa*, o extrato metanólico de *T. guianensis* apresentou atividade antioxidante (RODRIGUES *et al.*, 2017). Os extratos de *S. fluminensis* também demonstraram alto potencial antioxidante, como descrito em estudos *in vitro* (PETRICA, SINHORIN, SINHORIN, 2014) e *in vivo* (CUNHA, 2021). *Pouteria ramiflora* neutralizou o estresse oxidativo e apresentou efeito neuroprotetor nos neurônios do de cérebro diabético (COSTA *et al.*, 2013) e potencial antioxidante *in vitro* (CONDESSA, 2011). *Porophyllum ruderae* também já apresentou atividade antioxidante em estudos anteriores (CONDE-HERNANDEZ *et al.*, 2014).

No tocante à atividade antimicrobiana, nossos resultados demonstram que o extrato etanólico das folhas de *S. fluminensis* possui ação fungicida sobre *C. glabrata* (ATCC 2001). Este é o primeiro estudo a investigar atividade antifúngica de *S. fluminensis* sobre *C. glabrata*. São resultados bastante relevantes, pois *C. glabrata* é o segundo agente mais prevalente em candidíase vulvovaginal (MAKANJUOLA; BONGOMIN; FAYEMIWO, 2018; WILLEMS *et al.*, 2020) e em candidíase orofaríngea (MIRANDA-CADENA *et al.*, 2018; TATI *et al.*, 2016). Frequentemente *C. glabrata* apresenta susceptibilidade reduzida aos fármacos azólicos e resistência às equinocandinas (DELLIÈRE *et al.*, 2016; HASSAN; CHEW; THAN, 2021; RIVERO-MENENDEZ *et al.*, 2019) ressaltando a necessidade do desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para o tratamento de candidíases ocasionadas por esse patógeno.

O outro único estudo que avalia atividade antifúngica de *S. fluminensis* foi realizado com extratos das partes aéreas e flores e observou atividade antifúngica sobre *C. tropicalis* e *C. krusei* (BRITO *et al.*, 2021). Outras *Smilax* spp. se destacam por sua ação antimicrobiana *in vitro*. O extrato aquoso do tubérculo de *S. glabra* Roxb, por exemplo, demonstrou atividade sobre *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, e *Salmonella enterica* (MCMURRAY *et al.*, 2020). Os extratos etanólicos dos rizomas de *S. glabra* apresentaram atividade sobre *S. aureus* (ATCC 6538) e *C. albicans* e seus compostos isolados foram reportados, além desses, com

atividade sobre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *K. pneumoniae*, MRSA e *Enterococcus faecalis* (XU *et al.*, 2013). Também já foi demonstrado que os extratos das folhas de *S. china* L. exibiram atividade antimicrobiana sobre *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* e *Salmonella Typhimurium* (SEO *et al.*, 2012).

Este estudo, também, é o primeiro a demonstrar atividade antibacteriana da *T. obtusa*. Nossos resultados revelaram que o extrato etanólico das folhas de *T. obtusa* possui atividade antibacteriana sobre MRSA. Este é um achado de grande importância, devido a relevância clínica desse patógeno. *Staphylococcus aureus* é o principal agente em infecções de pele como foliculite, furúnculo, abscessos e impetigo que, quando resistente à meticilina, dificulta o tratamento podendo, inclusive, acarretar infecções mais graves (CDC, 2019). Na Austrália, um estudo demonstrou que 60% dos casos de em infecções de pele e tecidos moles foram causados por MRSA (MACMORRAN *et al.*, 2017), evidenciando a crescente disseminação de patógenos resistentes a antibióticos e gerando uma enorme necessidade de descoberta de novas opções terapêuticas (SCIRE; HOZÉ; UECKER, 2019; WHO, 2020b; IACG, 2019).

Um estudo realizado com outra espécie brasileira, a *Tapirira guianensis*, verificou que o extrato apresenta atividade antimicrobiana sobre *S. aureus* e *S. epidermidis* (ROUMY *et al.*, 2009), apoiando o uso tradicional do gênero. A família Anacardiaceae, a qual pertence *T. obtusa*, frequentemente tem sido relatada devido a ampla diversidade de suas atividades biológicas (BAPTISTA *et al.*, 2018; SALEHI *et al.*, 2020; SINSINWAR; VADIVEL, 2020).

O extrato etanólico de *Pouteria ramiflora* apresentou atividade antibacteriana sobre *S. aureus* a uma concentração de 4 mg/mL (BUSSMANN *et al.*, 2010), corroborando com nossos achados onde não identificamos atividade antibacteriana até a concentração máxima testada (2.000 µg/mL, que correspondem a 2 mg/mL).

Os extratos etanólicos de *E. pyramidale*, *P. ramiflora*, *P. ruderale* e *T. obtusa* apresentaram atividade inibitória no teste de difusão em disco sobre KP-KPC, porém, esses resultados não foram confirmados pelo teste de microdiluição em caldo nas concentrações testadas. Isso pode explicado pela superfície hidrofílica rica em lipopolissacarídeos da parede celular das bactérias gram-negativas que dificultam a difusão dos compostos ativos, atuando como uma barreira (NIKAIDO, 1994, SHAN *et al.*, 2007).

A diferença entre as metodologias utilizadas para avaliar a atividade antimicrobiana é um ponto que pode resultar em dados de difícil comparação entre as pesquisas. A ausência de metodologias específicas para teste de susceptibilidade antimicrobiana de extratos vegetais pode acarretar diferenças significativas nos resultados que, por sua vez, podem sofrer variações decorrentes do meio de cultura utilizado, preparo do inóculo e técnica empregada.

Todos os extratos vegetais estudados apresentaram atividade antioxidante. Em geral, a atividade antioxidante está relacionada com os teores de compostos fenólicos e flavonoides dos extratos vegetais (KUMAR; PANDEY, 2013; PIETTA, 2000). Entretanto, como os teores de flavonoides foi determinado pelo método de complexação por cloreto de alumínio, que é específico para flavonas e flavonóis, é possível inferir que o valor dos teores de flavonoides encontrados para o extrato de *T. obtusa* possa estar relacionado com outras classes de flavonoides, e/ou triterpenos com potencial antioxidante.

Os compostos fenólicos, incluindo os flavonoides, são reconhecidos por apresentarem propriedades antioxidantes e exercerem muitos efeitos benéficos sobre a saúde, agindo com propriedades farmacológicas, como antitumoral, antiviral, anti-inflamatório, anti-infecciosos, e tratamento de doenças neurodegenerativas (DAVID; ARULMOLI; PARASURAMAN, 2016; LAKHANPAL; RAI, 2007; KUMAR; PANDEY, 2013).

Existem evidências que as saponinas encontradas na *Smilax medica e Smilax aspera* subsp. *mauritanica* possuem atividade antifúngica sobre *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* (SAUTOUR; MIYAMOTO; LACAILLE-DUBOIS, 2006; BELHOUCHE *et al.*, 2008). Diante disso, podemos inferir que a atividade antifúngica de *S. fluminensis* está relacionada, além dos compostos fenólicos e flavonoides, à presença de saponinas. No entanto, esse extrato também apresentou a presença de cumarinas, que estão associadas às atividades antitumorais, anti-HIV, antimicrobiana e antioxidante (BORGES *et al.*, 2005; GARRO; PUNGITORE, 2015; PANNO; GIORDANO, 2014). Nesse contexto, podemos inferir que a atividade antioxidante e antifúngica apresentada pelo extrato de *S. fluminensis* não está restrita a um único metabólito secundário, mas se deve a atuação sinérgica desses constituintes. Dentre os ensaios realizados, a *S. fluminensis*, foi a espécie que se sobressaiu em relação a resultados positivos nos diferentes testes empregados.

Os triterpenos são compostos que têm sido relatados pela sua atividade anti-inflamatória (LIAW *et al.*, 2013), antioxidante (DAVID *et al.*, 2012), antiviral (BALTINA *et al.*, 2003), anticâncer (BISHAYEE *et al.*, 2011), antimicrobianas (AHMED *et al.*, 2010; MOKOKA *et al.*, 2013). Esses metabólitos foram encontrados em todas as espécies vegetais e com maior frequência em *T. obtusa*. Esse fato sugere que a atividade antibacteriana de *T. obtusa* sobre MRSA pode estar relacionada à alta frequência de triterpenos. Além disso, é possível que ocorra uma atuação sinérgica entre os triterpenos e os compostos fenólicos capaz de intensificar as propriedades antibacterianas nessa espécie. Novos estudos são necessários para comprovar esta hipótese.

As limitações deste estudo foram o pequeno número de micro-organismos testados e a realização dos testes de susceptibilidade somente com extrato bruto. Estudos com frações do extrato vegetal podem possibilitar a comparação entre as concentrações necessárias para verificação da atividade antimicrobiana, haja vista que os metabólitos minoritários podem ter sua atividade biológica diminuída por outros componentes da mistura. Por outro lado, em muitas espécies botânicas, a atividade antimicrobiana é conferida por meio da atuação sinérgica entre os compostos dos extratos vegetais.

Diante disso, nossos dados, embora promissores, requerem a necessidade de mais estudos que possam identificar e quantificar os compostos químicos presentes nos extratos vegetais e o seu potencial antimicrobiano nas plantas estudadas.

7 CONCLUSÕES

Este estudo demonstra potencial atividade antimicrobiana de extratos de *S. fluminensis* e *T. obtusa* frente a *Candida glabrata* e isolados clínicos multidrogas resistentes de *Staphylococcus aureus*, respectivamente.

Smilax fluminensis possui princípios ativos que podem ser utilizados no desenvolvimento de produtos antifúngicos tópicos para o tratamento de candidíase vaginal, orofaríngea, ou ainda, outras candidíases na pele e unhas. E *Tapirira obtusa* pode ser utilizada como tratamento tópico para infecções de pele causadas por *Staphylococcus aureus*.

O potencial antioxidante das espécies estudadas representa uma alternativa promissora aos antioxidantes sintéticos que podem ser utilizados pela indústria alimentícia e cosmética, ou ainda, no desenvolvimento de novos produtos nutracêuticos.

Novos estudos são necessários para identificar quais metabólitos secundários estão relacionados com a atividade antimicrobiana e antioxidante encontradas nos extratos de *E. pyramidale*, *P. ramiflora*, *P. ruderale*, *T. obtusa* e *S. fluminensis*.

8 REFERÊNCIAS

- AHMED, Y.; SOHRAB, M. H.; AL-REZA, S. M.; TAREQ, F. S.; HASAN, C. M.; SATTAR, M. A. Antimicrobial and cytotoxic constituents from leaves of *Sapium baccatum*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 2, 2010.
- AKTURK, H.; SUTCU, M.; SOMER, A.; AYDIN, D.; CIHAN, R.; OZDEMIR, A.; SALMAN, N. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization in pediatric and neonatal intensive care units: risk factors for progression to infection. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 20, p. 134-140, 2016.
- ALVES-ARAÚJO, A. *Pouteria in: Flora do Brasil 2020*. 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB21020>. Acesso em: 26 jun. 2020.
- ANDREATA, R.H.P. Revisão das espécies brasileiras do gênero *Smilax* Linnaeus (Smilacaceae). **Botânica**, n 47. 1997.
- ANDREATA, R.H.P. *Smilacaceae In: Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14556>. Acesso em: 20 dez 2018.
- ANTINORI, S.; MILAZZO, L.; SOLLIMA, S.; GALLI, M.; CORBELLINO, M. Candidemia and invasive candidiasis in adults: A narrative review. **European Journal of Internal Medicine**, v. 34, p. 21-28, 2016.
- ASLAM, B.; WANG, W.; ARSHAD, M. I.; KHURSHID, M.; MUZAMMIL, S.; RASOOL, M. H.; NISAR, M. A.; ALVI, R. F.; ASLAM, M. A.; QAMAR, M. U.; SALAMAT, M. K. F.; BALOCH, Z. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p. 1645, 2018.
- ATHAYDE, A. E. D.; RICHETTI, E.; WOLFF, J.; LUSA, M. G.; BIAVATTI, M. W. “Arnicas” from Brazil: comparative analysis among ten species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 401-424, 2019.
- AWAD, R.; AHMED, F.; BOURBONNAIS-SPEAR, N.; MULLALLY, M.; TA, C. A.; TANG, A.; ARNASON, J. T. Ethnopharmacology of Q’eqchi’ Maya antiepileptic and anxiolytic plants: effects on the GABAergic system. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 125, n. 2, p. 257-264, 2009.
- BAPTISTA, A.; GONÇALVES, R. V.; BRESSAN, J.; PELÚZIO, M. D. C. G. Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts and fractions of cashew (*Anacardium occidentale* L.), cajui (*Anacardium microcarpum*), and pequi (*Caryocar brasiliense* C.): a systematic review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, 2018.
- BALTINA, L. A.; FLEKHTER, O. B.; NIGMATULLINA, L. R.; BOREKO, E. I.; PAVLOVA, N. I.; NIKOLAEVA, S. N.; TOLSTIKOV, G. A. Lupane triterpenes and derivatives with antiviral activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, n. 20, 2003.

BEDOYA, L. M.; ÁLVAREZ, A.; BERMEJO, M.; GONZÁLEZ, N.; BELTRAN, M.; SANCHEZ-PALOMINO, S.; ALCAMÍ, J. Guatemalan plants extracts as virucides against HIV-1 infection. **Phytomedicine**, v. 15, n. 6-7, p. 520-524, 2008.

BELHOUCHE, Z.; SAUTOUR, M.; MIYAMOTO, T.; LACAÏLLE-DUBOIS, M. A. Steroidal Saponins from the Roots of *Smilax aspera* subsp. mauritanica. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 56, n. 9, p. 1324-1327, 2008.

BENTHAM, G. Notes on the classification, history and geographical distribution of Compositae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 13, n. 70/72, p. 335-577, 1873.

BESSADA, S. M.; BARREIRA, J. C.; OLIVEIRA, M. B. P. Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 604-615, 2015.

BHALODIA, N. R.; SHUKLA, V. J. Antibacterial and antifungal activities from leaf extracts of *Cassia fistula* l.: An ethnomedicinal plant. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 2, n. 2, p. 104, 2011.

BISHAYEE, A.; AHMED, S.; BRANKOV, N.; PERLOFF, M. Triterpenoids as potential agents for the chemoprevention and therapy of breast cancer. **Frontiers in Bioscience: a Journal and Virtual Library**, v. 16, 2011.

BOGUSZEWSKA-CZUBARA, A.; LAPCZUK-KRYGIER, A.; RYKALA, K.; BIERNASIUK, A.; WNOROWSKI, A.; POPIOLEK, L.; JASIŃSKI, R. Novel synthesis scheme and in vitro antimicrobial evaluation of a panel of (E)-2-aryl-1-cyano-1-nitroethenes. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 31, n. 6, p. 900-907, 2016.

BONGOMIN, F.; GAGO, S.; OLADELE, R. O.; DENNING, D. W. Global and multi-national prevalence of fungal diseases – estimate precision. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 4, p. 57, 2017.

BORGES, F.; ROLEIRA, F.; MILHAZES, N.; SANTANA, L.; URIARTE, E. Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 887-916, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e identificação de bactérias de importância médica. In: **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. Brasília: Anvisa, 2013.

BREITBACH, U. B.; NIEHUES, M.; LOPES, N. P.; FARIA, J. E.; BRANDÃO, M. G. Amazonian Brazilian medicinal plants described by CFP von Martius in the 19th century. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 147, n. 1, p. 180-189, 2013.

BREMER, K. **Asteraceae: cladistics and classification**. Portland: Timber Press, p.752. 1994.

BRITO, D. Z.; CASSEMIRO, N. S.; DE SOUZA, J. M.; DAMASCENO-JUNIOR, G. A.; OLIVEIRA, R. J.; CAROLLO, C. A.; CHANG, M. R. Screening of 20 Pantanal Wetland Plants for Anti-Candida Activity using HPLC-DAD-MS/MS and Bioautography to Characterize Active Compounds. **Planta Medica International Open**, v. 8, n. 03, p. e96-e103, 2021.

BROWN, E. D.; WRIGHT, G. D. Antibacterial drug discovery in the resistance era. **Nature**, v. 529, n. 7586, p. 336-343, 2016.

BUSSMANN, R. W.; MALCA-GARCÍA, G.; GLENN, A.; SHARON, D.; CHAIT, G.; DÍAZ, D.; BENITO, M. Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 132, n. 1, p. 101-108, 2010.

CAI, Y.; ZHANG, J.; CHEN, N. G.; SHI, Z.; QIU, J.; HE, C.; CHEN, M. Recent advances in anticancer activities and drug delivery systems of tannins. **Medicinal Research Reviews**, v. 37, n. 4, p. 665-701, 2017.

CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, 2019.

CARMIGNAN, F.; MATIAS, R.; CAROLLO, C. A.; DOURADO, D. M.; FERMIANO, M. H.; SILVA, B. A. K.; BASTOS, P. R. H. O. Efficacy of application of *Equisetum pyramidale* Goldm. hydrogel for tissue restoration of induced skin lesions in Wistar rats. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, p. 12-22, 2019.

CARNEIRO, C.R. 2020. *Porophyllum* in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB16263>>. Acesso em: 04 jul. 2021.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Coleção Espécies Arbóreas Brasileiras, vol. 2. Brasília, DF: Embrapa informações Tecnológicas; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2006. 627 p.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2019. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Disponível em: <https://www.cdc.gov/mrsa/community/index.html>. Acesso em: 18 ago. 2021.

CERVEIRA, M. M.; VIANNA, H. S., FERRER, E. M. K., DA ROSA, B. N., DE PEREIRA, C. M. P., BALDISSERA, M. D.; ALMEIDA VAUCHER, R. Bioprospection of novel synthetic monocurcuminoids: Antioxidant, antimicrobial, and in vitro cytotoxic activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 133, p. 111052, 2021.

CHEIKHYOUSSEF, A.; SHAPI, M.; MATENGU, K.; ASHEKELE, H. M. Ethnobotanical study of indigenous knowledge on medicinal plant use by traditional healers in Oshikoto region, Namibia. **Journal of Ethnobiology And Ethnomedicine**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2011.

CHEN, X.; MUKWAYA, E.; WONG, M. S.; ZHANG, Y. A systematic review on biological activities of prenylated flavonoids. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 5, p. 655-660, 2014.

CHEN, Z.; KU, T. C.; SELEY-RADTKE, K. L. Thiophene-expanded guanosine analogues of gemcitabine. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 19, p. 4274-4276, 2015.

CLSI. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**. 3 ed. CLSI document M27-A3. Wayne, PA. 2008.

CLSI. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. 11 ed. CLSI document M02-A11. Wayne, PA. 2012a.

CLSI. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. 9 ed. CLSI document M07-A9. Wayne, PA. 2012b.

CLSI. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility of Filamentous Fungi**. 3 ed. CLSI document M38. Wayne, PA. 2017.

CLSI. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 30 ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA. 2020.

COÊLHO, André Afonso Machado. **Análise inseticida de extratos de plantas do bioma cerrado sobre triatomíneos e larvas de *Aedes aegypti***. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, 2006.

CONDE-HERNÁNDEZ, L. A.; GUERRERO-BELTRÁN, J. Á. Total phenolics and antioxidant activity of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale*. **Food Chemistry**, v. 142, p. 455-460, 2014.

CONDESSA, Mirta Bicca. **Avaliação da atividade antioxidante e alelopática de plantas medicinais**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

CORRÊA, A. C. L.; HANS FILHO, G.; DOURADO, D. M.; MATIAS, R.; SILVA, I. S. D.; SARRAGIOTTO, M. H. Healing effect of the ointment made of *Equisetum pyramidale* in the treatment of cutaneous lesions in diabetic rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, p. 377-382, 2013.

CORRÊA, A. C. L.; OLIVEIRA, A. K. M.; DOURADO, D. M.; FACCO, G. G.; BENTO, L. M. A.; RIVERO-WENDT, C. L. G.; MATIAS, R. *Pouteria ramiflora* leaf extract on emulgel in wound healing activity in diabetic rats. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, 2021.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; CHAI, H. B.; PEZZUTO, J. M.; CORDELL, G. A. Alkyl phenols and derivatives from *Tapirira obtusa*. **Phytochemistry**, v. 56, n. 7, p. 781-784, 2001.

- COSTA, A. V.; CALÁBRIA, L. K.; FURTADO, F. B.; DE GOUVEIA, N. M.; DA SILVA OLIVEIRA, R. J.; DE OLIVEIRA, V. N.; ESPINDOLA, F. S. Neuroprotective effects of *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk (Sapotaceae) extract on the brains of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Metabolic Brain Disease**, v. 28, n. 3, p. 411-419, 2013.
- COX, S. D.; JAYASINGHE, K. C.; MARKHAM, J. L. Antioxidant activity in Australian native sarsaparilla (*Smilax glycyphylla*). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, n. 1-3, p. 162-168, 2005.
- CRETTON, S.; DORSAZ, S.; AZZOLLINI, A.; FAVRE-GODAL, Q., MARCOURT, L., EBRAHIMI, S. N.; CHRISTEN, P. Antifungal quinoline alkaloids from *Waltheria indica*. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 2, p. 300-307, 2016.
- CRUZ, J. A.; DA SILVA, A. B.; RAMIN, B. B.; SOUZA, P. R.; POPAT, K. C.; ZOLA, R. S.; MARTINS, A. F. Poly (vinyl alcohol)/cationic tannin blend films with antioxidant and antimicrobial activities. **Materials Science and Engineering**, v. 107, p. 110357, 2020.
- CUNHA, A. P. S. Atividade antioxidante da folha de *Smilax fluminensis* e da casca do caule de *Caesalpinia ferrea* em camundongos *Swiss*. 2021.
- CUSHNIE, T. P. T.; CUSHNIE, B.; LAMB, A. J. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. **International Journal Of Antimicrobial Agents**, v. 44, n. 5, p. 377-386, 2014.
- DAVID, A. V. A.; ARULMOLI, R.; PARASURAMAN, S. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. **Pharmacognosy Reviews**, v. 10, n. 20, p. 84, 2016.
- DAVID, J. P.; SILVA, L. C.; SANTOS, R. A.; DAVID, J. M.; LIMA, L. S.; REIS, P. S.; FONTANA, R. Bioactive oleanane, lupane and ursane triterpene acid derivatives. **Molecules**, v. 17, n. 10, 2012.
- DELALOYE, J.; CALANDRA, T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. **Virulence**, v. 5, n. 1, p. 161-169, 2014.
- DELLIÈRE, S.; HEALEY, K.; GITS-MUSELLI, M.; CARRARA, B.; BARBARO, A.; GUIGUE, N.; ALANIO, A. Fluconazole and echinocandin resistance of *Candida glabrata* correlates better with antifungal drug exposure rather than with MSH2 mutator genotype in a French cohort of patients harboring low rates of resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 2038, 2016.
- DIEKEMA, D. J.; HSUEH, P. R.; MENDES, R. E.; PFALLER, M. A.; ROLSTON, K. V.; SADER, H. S.; JONES, R. N. The microbiology of bloodstream infection: 20-year trends from the SENTRY antimicrobial surveillance program. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, n. 7, p. e00355-19, 2019.
- DINIZ, L. R. L., PEREZ-CASTILLO, Y., ELSHABRAWY, H. A., & DE SOUSA, D. P. Bioactive terpenes and their derivatives as potential SARS-CoV-2 proteases inhibitors from molecular modeling studies. **Biomolecules**, v. 11, n. 1, p. 74, 2021.

DJATMIKO, W. **Porophyllum ruderale, habits**. 2010. Disponível em: <https://eol.org/pt-BR/pages/509389/media>. Acesso em: 11 mar. 2021.

DUPONT, B. **Japécanga-graúda: Smilax fluminensis**. 2016. Disponível em: <https://www.flickr.com/photos/berniedup/28470407223/in/photostream/>. Acesso em: 21 jun. 2021.

DUTRA, R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R.; CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4-29, 2016.

ECDC. EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. **Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2019**. Estocolmo: ECDC; 2020.

FERRANDINO, A; LOVISOLO, C. Abiotic stress effects on grapevine (*Vitis vinifera* L.): Focus on abscisic acid-mediated consequences on secondary metabolism and berry quality. **Environmental and Experimental Botany**, v. 103, p. 138-147, 2014.

FERREIRA, Gabriel Ginani. **Avaliação in vitro de efeitos anti-inflamatórios de extratos de *Pouteria torta* (mart.) Radlk e *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

FERREIRA, P. R. B.; MENDES, C. S. O.; RODRIGUES, C. G.; ROCHA, J. C. M.; ROYO, V. D. A.; VALÉRIO, H. M.; OLIVEIRA, D. A. D. Antibacterial activity tannin-rich fraction from leaves of *Anacardium humile*. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1861-1864, 2012.

FONTES JUNIOR, E. A.; SOUZA, P.; NASCIMENTO, J. L.; SANTOS, S. N.; ESPINDOLA, L. S.; FERREIRA, V. M. Antinociceptive and antiinflammatory properties of the ethanolic extract of *Pouteria ramiflora* roots. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 6, p. 812-8, 2009.

FONTOURA, F.M.; MATIAS, R.; LUDWIG, J.; OLIVEIRA, A.K.M.; BONO, J.A.M.; MARTINS, P.D.F.R.B.; GUEDES, N.M.R. Seasonal effects and antifungal activity from bark chemical constituents of *Sterculia apetala* (Malvaceae) at Pantanal of Miranda, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Amaz.**, Manaus, v. 45, p. 283–292, 2015.

FOUNOU, R. C; FOUNOU, L. L.; ESSACK, S. Y. Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: a systematic review and meta-analysis. **PloS one**, v. 12, n. 12, p. e0189621, 2017.

FRAGA, F.R.M.; ANDREATA, R.H.P. *Smilacaceae in: Flora do Brasil 2020*. 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB14556>. Acesso em: 26 jun. 2020.

FUNK, V. A.; SUSANNA, A.; STEUSSY, T. F.; ROBINSON, H. E. Classification of compositae. **Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae**, 2009.

GAN, J.; FENG, Y.; HE, Z.; LI, X.; ZHANG, H. Correlations between antioxidant activity and alkaloids and phenols of maca (*Lepidium meyenii*). **Journal of Food Quality**, v. 2017, 2017.

GARRO, H. A.; PUNGITORE, C. R. Coumarins as potential inhibitors of DNA polymerases and reverse transcriptases. Searching new antiretroviral and antitumoral drugs. **Current Drug Discovery Technologies**, v. 12, n. 2, p. 66-79, 2015.

GRIESSER, M.; WEINGART, G.; SCHOEDL-HUMMEL, K.; NEUMANN, N.; BECKER, M.; VARMUZA, K.; FORNECK, A. Severe drought stress is affecting selected primary metabolites, polyphenols, and volatile metabolites in grapevine leaves (*Vitis vinifera* cv. Pinot noir). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 88, p. 17-26, 2015.

GU, F., HE, W.; XIAO, S.; WANG, S.; LI, X.; ZENG, Q.; HAN, L. Antimicrobial Resistance and Molecular Epidemiology of Staphylococcus aureus Causing Bloodstream Infections at Ruijin Hospital in Shanghai from 2013 to 2018. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-8, 2020.

GUERRIERO, G.; BERNI, R.; MUÑOZ-SANCHEZ, J. A.; APONE, F.; ABDEL-SALAM, E. M.; QAHTAN, A. A.; FAISAL, M. Production of plant secondary metabolites: Examples, tips and suggestions for biotechnologists. **Genes**, v. 9, n. 6, p. 309, 2018.

GUIMARAES, A. O.; CAO, Y.; HONG, K.; MAYBA, O.; PECK, M. C.; GUTIERREZ, J. ROSENBERGER, C. M. A prognostic model of persistent bacteremia and mortality in complicated Staphylococcus aureus bloodstream infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 68, n. 9, p. 1502-1511, 2019.

HARDY, K.; BUCKLEY, S.; COLLINS, M. J.; ESTALRRICH, A.; BROTHWELL, D.; COPELAND, L.; ROSAS, A. Neanderthal medics? Evidence for food, cooking, and medicinal plants entrapped in dental calculus. **Naturwissenschaften**, v. 99, n. 8, p. 617-626, 2012.

HASSAN, Y.; CHEW, S. Y.; THAN, L. T. L. Candida glabrata: Pathogenicity and Resistance Mechanisms for Adaptation and Survival. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 8, p. 667, 2021.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 1027-1031, 2002.

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

HUYNH, B. T.; KERMORVANT-DUCHEMIN, E.; HERINDRAINNY, P.; PADGET, M.; RAKOTOARIMANANA, F. M. J.; FENO, H.; DELAROCQUE-ASTAGNEAU, E. Bacterial infections in neonates, Madagascar, 2012–2014. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 4, p. 710, 2018.

IACG. THE INTERAGENCY COORDINATION GROUP ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE. 2019. **No time to wait: securing the future from drug-resistant infections.** Disponível em: https://www.who.int/antimicrobial-resistance/interagency-coordination-group/IACG_final_report_EN.pdf?ua=1. Acesso em: 29 nov. 2020.

IBRAHIM, S. R.; ABDALLAH, H. M.; EL-HALAWANY, A. M.; MOHAMED, G. A. Naturally occurring thiophenes: isolation, purification, structural elucidation, and evaluation of bioactivities. **Phytochemistry Reviews**, v. 15, n. 2, p. 197-220, 2016.

ISAH, M. B.; TAJUDEEN, N.; UMAR, M. I.; ALHAFIZ, Z. A.; MOHAMMED, A.; IBRAHIM, M. A. Terpenoids as emerging therapeutic agents: cellular targets and mechanisms of action against protozoan parasites. In: **Studies in Natural Products Chemistry**. Elsevier, 2018. p. 227-250.

JÁCOMO, A. C. J.; DE ANDRADE VELOZO, K.; LOTTI, R. G.; NEVES, L. M. G.; DE GASPI, F. O. D. G., ESQUISATTO, M. A. M.; DOS SANTOS, G. M. T.. Activity of *Porophyllum ruderale* leaf extract and 670-nm InGaP laser during burns repair in rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, p. 1-9, 2015.

JASIM, H.; HUSSEIN, A. O.; HAMEED, I. H.; KAREEM, M. A. Characterization of alkaloid constitution and evaluation of antimicrobial activity of *Solanum nigrum* using gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 7, n. 4, p. 56-72, 2015.

JIANG, J.; XU, Q. Immunomodulatory activity of the aqueous extract from rhizome of *Smilax glabra* in the later phase of adjuvant-induced arthritis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, n. 1, p. 53-59, 2003.

JONES, H. W. Report of a series of cases of syphilis treated by Ehrlich's arsenobenzol at the Walter Reed General Hospital, District of Columbia. **The Boston Medical and Surgical Journal**, v. 164, n. 11, p. 381-383, 1911.

JUCÁ, M. M.; CYSNE FILHO, F. M. S.; DE ALMEIDA, J. C.; MESQUITA, D. D. S.; BARRIGA, J. R. D. M.; DIAS, K. C. F.; VASCONCELOS, S. M. M. Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. **Natural product research**, v. 34, n. 5, p. 692-705, 2020.

JURASEKOVA, Z.; GARCIA-RAMOS, J. V.; DOMINGO, C.; SANCHEZ-CORTES, S. Surface-enhanced Raman scattering of flavonoids. **Journal of Raman Spectroscopy: An International Journal for Original Work in all Aspects of Raman Spectroscopy, Including Higher Order Processes, and also Brillouin and Rayleigh Scattering**, v. 37, n. 11, p. 1239-1241, 2006.

KAINZ, K.; BAUER, M. A.; MADEO, F.; CARMONA-GUTIERREZ, D. Fungal infections in humans: the silent crisis. **Microbial Cell**, v. 7, n. 6, p. 143, 2020.

KASAL, A.; BUDESINSKY, M.; GRIFFITHS, W. J. Spectroscopic methods of steroid analysis. In: **Steroid Analysis**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 27-161.

KHAN, M. S.; AGRAWAL, R.; UBAlDULLAH, M.; HASSAN, M. I.; TARANNUM, N. Design, synthesis, and validation of anti-microbial coumarin derivatives: An efficient green approach. **Heliyon**, v. 5, n. 10, p. e02615, 2019.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. São Bernardo do Campo: BASF, 2000.

KOURTIS, A. P.; HATFIELD, K.; BAGGS, J.; MU, Y.; SEE, I.; EPSON, E., NADLE, J.; KAINER, M. A.; DUMYATI, G.; PETIT, S.; RAY, S. M. Vital signs: epidemiology and recent trends in methicillin-resistant and in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bloodstream infections—United States. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 68, n. 9, p. 214, 2019.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.

LAKHANPAL, P.; RAI, D. K. Quercetin: a versatile flavonoid. **Internet Journal of Medical Update**, vol. 2, n. 2, p. 22-37, 2007.

LARGE, M. F.; BLANCHON, D. J.; ANGUS, M. L. Devitalisation of imported horsetail (*Equisetum hyemale*). **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 34, n. 2, p. 151-153, 2006.

LAUPLAND, K.B.; LYYTIKAINEN, O.; SOGAARD, M.; KENNEDY, K.J.; KNUDSEN, J.D.; OSTERGAARD, C.; GALBRAITH, J.C.; VALIQUETTE, L.; JACOBSSON, G.; COLLIGNON, P.; SCHONHEYDER, H.C. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection: a multinational population-based surveillance study. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 19, n. 5, p. 465-471, 2013.

LAXMINARAYAN, R.; MATSOSO, P.; PANT, S.; BROWER, C.; ROTTINGEN, J. A.; KLUGMAN, K.; DAVIES, S. Access to effective antimicrobials: a worldwide challenge. **The Lancet**, v. 387, n. 10014, p. 168-175, 2016.

LIAW, C. C.; CHEN, Y. C.; HUANG, G. J.; TSAI, Y. C.; CHIEN, S. C.; WU, J. H.; KUO, Y. H. Anti-inflammatory lanostanoids and lactone derivatives from *Antrodia camphorata*. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 4, 2013.

LIMA, T. C.; SOUZA, R. J.; SANTOS, A. D.; MORAES, M. H.; BIONDO, N. E.; BARISON, A.; BIAVATTI, M. W. Evaluation of leishmanicidal and trypanocidal activities of phenolic compounds from *Calea uniflora* Less. **Natural Product Research**, v. 30, n. 5, p. 551-557, 2016.

LIMA-NETO, Domingos Alves de. **Estudo fotoquímico e efeitos analgésicos da *Porophyllum ruderale***. 1996. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 1996.

LIU, X.L.; HAO, Y.Q.; JIN, L.; XU, Z.J.; MCALLISTER, T.A.; WANG, Y. Anti-*Escherichia coli* O157:H7 properties of purple prairie clover and sainfoin condensed tannins. **Molecules**. 2013, 18, 2183–2199.

LUO, X.; WANG, Q.; TANG, X.; XU, J.; WANG, M.; LI, P.; LI, G. Cytotoxic Monoaldehyde-Type Sesterterpenes from the Sponge *Luffariella variabilis* Collected in the South China Sea. **Journal of Natural Products**, v. 84, n. 1, p. 61-70, 2020.

MACMORRAN, E.; HARCH, S.; ATHAN, E.; LANE, S.; TONG, S.; CRAWFORD, L.; HEWAGAMA, S. The rise of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: Now the dominant cause of skin and soft tissue infection in Central Australia. **Epidemiology & Infection**, v. 145, n. 13, p. 2817-2826, 2017.

MAGALHÃES, Y. C.; BOMFIM, M. R. Q.; MELÔNIO, L. C.; RIBEIRO, P.; COSME, L. M.; RHODEN, C. R.; MARQUES, S. G. Clinical significance of the isolation of *Candida* species from hospitalized patients. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, p. 117-123, 2015.

MAISETTA, G.; BATONI, G.; CABONI, P.; ESIN, S.; RINALDI, A. C.; ZUCCA, P. Tannin profile, antioxidant properties, and antimicrobial activity of extracts from two Mediterranean species of parasitic plant *Cytinus*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 1-11, 2019.

MAKANJUOLA, O.; BONGOMIN, F.; FAYEMIWO, S. A. An update on the roles of non-albicans *Candida* species in vulvovaginitis. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 4, p. 121, 2018.

MARANAN, M. C.; MOREIRA, B.; BOYLE-VAVRA, S.; DAUM, R. S. Antimicrobial resistance in staphylococci: epidemiology, molecular mechanisms, and clinical relevance. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 11, n. 4, p. 813-849, 1997.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. (Orgs.). **Livro vermelho da flora do Brasil**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Editora Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, cap. 2, p. 140-141, 2013.

MARTINS, A. R.; SOARES, M. K.; REDHER, V. L.; BAJAY, M. M.; VILLELA, P. M.; ZUCCHI, M. I.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Use of anatomical, chemical, and molecular genetic characteristics in the quality control of medicinal species: a case study of sarsaparilla (*Smilax* spp.). **Economic botany**, v. 68, n. 4, p. 410-425, 2014.

MATIAS, R.; PAULIQUEVIS, C. F.; OJEDA, P. T. A.; PINA, J. C.; DE OLIVEIRA, A. K. M. Allelopathic potential of ethanolic extracts and powdered of leaves of *Tapirira obtusa* on germination and formation of seedlings of different target species. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e25210413841-e25210413841, 2021.

MATIAS, Rosemary. **Contribuição para o estudo químico e atividade antibacteriana e cicatrizante das plantas *Equisetum pyramidale*, *Piper amalago* e *Piper aduncum***. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

MATOS, J.F.A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 3ed. Fortaleza: UFCE, 2009.

MATTOS, K.; RODRIGUES, L. C.; OLIVEIRA, K. M. P. D.; DINIZ, P. F.; MARQUES, L. I.; ARAUJO, A. A.; CHANG, M. R. Variability in the clinical distributions of *Candida* species and the emergence of azole-resistant non-*Candida albicans* species in public hospitals in the Midwest region of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, p. 843-847, 2017.

MCMURRAY, R. L., BALL, M. E. E., TUNNEY, M. M., CORCIONIVOSCHI, N., & SITU, C. Antibacterial Activity of Four Plant Extracts Extracted from Traditional Chinese Medicinal Plants against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, p. 962, 2020.

MEDEIROS, M. F. T.; DE SENNA-VALLE, L.; ANDREATA, R. H. P. Histórico e o uso da “salsaparrilha” (*Smilax* spp.) pelos boticários no Mosteiro de São Bento. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S1, p. 27-29, 2007.

MENDONÇA, L. A. B. M.; MATIAS, R.; ZANELLA, D. F. P.; PORTO, K. R. A.; GUILHERMINO, J. F.; MOREIRA, D. L.; CARVALHO, C. M. E. Toxicity and phytochemistry of eight species used in the traditional medicine of sul-mato-grossense, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 3, p. 574-581, 2020.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v.15, p.127-130, 2001.

MERCADANTE, M. *Pouteria ramiflora*. 2013. Disponível em: <https://www.flickr.com/photos/mercadanteweb/11615318125/>. Acesso em: 21 jun. 2021.

MERCADANTE, M. *Pouteria ramiflora*. 2015. Disponível em: <https://www.flickr.com/photos/mercadanteweb/24399306446/>. Acesso em: 21 jun. 2021.

MICOZZI, A.; GENTILE, G.; MINOTTI, C.; CARTONI, C.; CAPRIA, S.; BALLARÒ, D.; FOÀ, R. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in high-risk haematological patients: factors favouring spread, risk factors and outcome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremias. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 1-12, 2017.

MIRANDA-CADENA, K.; MARCOS-ARIAS, C.; MATEO, E.; AGUIRRE, J. M.; QUINDÓS, G.; ERASO, E. Prevalence and antifungal susceptibility profiles of *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and their close-related species in oral candidiasis. **Archives of Oral Biology**, v. 95, p. 100-107, 2018.

MISHRA, A.; SHARMA, A. K.; KUMAR, S.; SAXENA, A. K.; PANDEY, A. K. *Bauhinia variegata* leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant, and anticancer activities. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

MOGANA, R.; ADHIKARI, A.; TZAR, M. N.; RAMLIZA, R.; WIART, C. Antibacterial activities of the extracts, fractions, and isolated compounds from *Canarium patentinervium* Miq. against bacterial clinical isolates. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 20, n. 1, p. 1-11, 2020.

- MOKOKA, T. A.; MCGAW, L. J.; MDEE, L. K.; BAGLA, V. P.; IWALEWA, E. O.; ELOFF, J. N. Antimicrobial activity and cytotoxicity of triterpenes isolated from leaves of *Maytenus undata* (Celastraceae). **BMC Complementary And Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, 2013.
- MONTEIRO, M. H. D. A.; ANDREATA, R. H. P. Pharmacological and botanical study of *Smilax quinquenervia* Vellozo (Smilacaceae) from Brazil. **Rios, M. & Pedersen, HB (eds)**, p. 384-395, 1997.
- MOREIRA, H. J da C.; BRAGANÇA, H. B. N. **Manual de identificação de plantas infestantes**. FMC Agricultural Products, Campinas, 1017 p., 2011.
- NAVON-VENEZIA, S.; KONDRATYEVA, K.; CARATTOLI, A. *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 3, p. 252-275, 2017.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 3, p. 311-335, 2012.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.
- NIKAIDO, H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. **Science**, v. 264, n. 5157, p. 382-388, 1994.
- NOGUEIRA, Leonardo Gorla. **Avaliação do potencial antimicrobiano de *Pouteria* spp. e de triterpenos quinonametídeos com enfoque no *Helicobacter pylori***. 2012. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, 2012.
- NORDMANN, P.; DORTET, L.; POIREL, L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm. **Trends in Molecular Medicine**, v. 18, n. 5, p. 263-272, 2012.
- NORDMANN, P.; NAAS, T.; POIREL, L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 10, p. 1791, 2011.
- ODDS, F. C. *Candida* infections: an overview. **CRC Critical Reviews in Microbiology**, v. 15, n. 1, p. 1-5, 1987.
- OLISKOVICZ, K.; FACCO, G.; FÁVERO, S.; JARDIM, M. I. A.; DOURADO, D.M.; SARRAGIOTTO, M. H.; MATIAS, R. Morfologia da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos wistar tratados durante 7 e 14 dias com extrato de *Equisetum pyramidale* cultivado. **Ensaio e Ciência**, v. 10, n. 1, p. 153-166, 2006.
- OLIVEIRA, A. K.; PEREIRA, K. C.; MULLER, J. A.; MATIAS, R. Análise fitoquímica e potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 41-47, 2014.

OLIVEIRA, A. K. M.; RIZZI, E. S.; PEREIRA, K. C. L.; BONO, J. A. M.; PINA, J. C.; MATIAS, R. Phytochemical analysis and fungicide potential of *Pouteria ramiflora* against *Lasiodiplodia theobromae*. **Horticultura Brasileira**, v. 35, n. 4, p. 564-570, 2017.

PALAVECINO, Elizabeth L. Clinical, epidemiologic, and laboratory aspects of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Protocols**, p. 1-28, 2020.

PANDA, S. K.; MOHANTA, Y. K.; PADHI, L.; PARK, Y. H.; MOHANTA, T. K.; BAE, H. Large scale screening of ethnomedicinal plants for identification of potential antibacterial compounds. **Molecules**, v. 21, n. 3, p. 293, 2016.

PANNO, M. L.; GIORDANO, F. Effects of psoralens as anti-tumoral agents in breast cancer cells. **World Journal of Clinical Oncology**, v. 5, n. 3, p. 348, 2014.

PAPPAS, P. G.; LIONAKIS, M. S.; ARENDRUP, M. C.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; KULLBERG, B. J. Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 1-20, 2018.

PEIXOTO SOBRINHO, T. J. D. S., SILVA, C. H. T. P. D., NASCIMENTO, J. E. D.; MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P. D.; AMORIM, E. L. C. D. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 683-689, 2008.

PENNINGTON, T. D. **Flora Neotropica. Monograph 52. Sapotaceae**. New York Botanical Garden for the Organization for Flora Neotropica, 1990.

PÉREZ-MONTARELO, D.; VIEDMA, E.; LARROSA, N.; GÓMEZ-GONZÁLEZ, C.; RUIZ DE GOPEGUI, E.; MUÑOZ-GALLEGO, I.; CHAVES, F. Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* bacteremia: association of molecular factors with the source of infection. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2210, 2018.

PETRICIA, E. E.; SINHORIN, A. P.; SINHORIN, V. D.; JÚNIOR, G. M. First phytochemical studies of japeçanga (*Smilax fluminensis*) leaves: flavonoids analysis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 4, p. 443-445, 2014.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.

PIIRONEN, V.; LINDSAY, D. G.; MIETTINEN, T. A.; TOIVO, J.; LAMPI, A. M. Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 939-966, 2000.

PITOUT, J. D. D.; NORDMANN, P.; POIREL, L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 10, p. 5873-5884, 2015.

POTT, V. J.; POTT, A. **Plantas do Pantanal**. Brasília: EMBRAPA-CPAP. 404p. 2000

RAJESH, V.; PERUMAL, P.; SUNDARRAJAN, T. Antidiabetic activity of methanolic extract of *Smilax zeylanica* Linn in streptozotocin induced diabetic rats. **International Journal of Pharmacology**, v. 6, n. 1, 2010.

RAMOS-CASTAÑEDA, J. A.; RUANO-RAVINA, A.; BARBOSA-LORENZO, R., PAILLIER-GONZALEZ, J. E., SALDAÑA-CAMPOS, J. C., SALINAS, D. F.; LEMOS-LUENGAS, E. V. Mortality due to KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: systematic review and meta-analysis: mortality due to KPC *Klebsiella pneumoniae* infections. **Journal of Infection**, v. 76, n. 5, p. 438-448, 2018.

RIVERO-MENENDEZ, O.; NAVARRO-RODRIGUEZ, P.; BERNAL-MARTINEZ, L.; MARTIN-CANO, G.; LOPEZ-PEREZ, L.; SANCHEZ-ROMERO, I.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A. Clinical and laboratory development of echinocandin resistance in *Candida glabrata*: molecular characterization. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 1585, 2019.

RODRIGUES, A. C. S.; CHANG, M. R.; SANTOS, I. C. D. O.; CARVALHO-ASSEF, A. P. D. A. Molecular Epidemiology of bla KPC-Encoding *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Public Hospitals in Midwest of Brazil. **Microbial Drug Resistance**, 2021.

RODRIGUES, A. M.; GUIMARÃES, D. O.; KONNO, T. U.; TINOCO, L. W.; BARTH, T., AGUIAR, F. A.; MUZITANO, M. F. Phytochemical study of *Tapirira guianensis* leaves guided by vasodilatory and antioxidant activities. **Molecules**, v. 22, n. 2, p. 304, 2017.

ROQUE, N.; TELES, A.M.; NAKAJIMA, J.N. **A família Asteraceae no Brasil: classificação e diversidade** [online]. Salvador: EDUFBA, 2017, 260 p.

ROUMY, V.; FABRE, N.; PORTET, B.; BOURDY, G.; ACEBEY, L.; VIGOR, C. MOULIS, C. Four anti-protozoal and anti-bacterial compounds from *Tapirira guianensis*. **Phytochemistry**, v. 70, n. 2, p. 305-311, 2009.

RUELLAN, G. F. **Strobili**. 2014. Disponível em: <https://eol.org/media/6830244>. Acesso em: 11 mar. 2021.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M. de; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ - JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Comunicado Técnico 127, Embrapa-Fortaleza-CE, 2007.

SALEHI, B.; GÜLTEKIN-ÖZGÜVEN, M.; KIRKIN, C.; ÖZÇELİK, B.; MORAIS-BRAGA, M. F. B., CARNEIRO, J. N. P.; MARTINS, N. Antioxidant, antimicrobial, and anticancer effects of *Anacardium* plants: an ethnopharmacological perspective. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, p. 295, 2020.

SAQUIB, S.A.; ALQAHTANI, N.A.; AHMAD, I.; KADER, M.A.; AL SHAHRANI, S.S.; ASIRI, E.A. Evaluation and Comparison of Antibacterial Efficacy of Herbal Extracts in Combination with Antibiotics on Periodontal pathobionts: An in vitro Microbiological Study. **Antibiotics**. v. 8, n. 3, p. 89, 2019.

SAUTOUR, M.; MIYAMOTO, T.; LACAÏLLE-DUBOIS, M. A. Steroidal saponins from *Smilax medica* and their antifungal activity. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 10, p. 1489-1493, 2005.

SCIRE, J.; HOZÉ, N.; UECKER, H. Aggressive or moderate drug therapy for infectious diseases? Trade-offs between different treatment goals at the individual and population levels. **PLoS Computational Biology**, v. 15, n. 8, p. e1007223, 2019.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. *In*: SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento** .3 ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, 2017. cap.27, p.597-619.

SEALE, A. C.; GORDON, N. C., ISLAM, J., PEACOCK, S. J.; SCOTT, J. A. G. AMR Surveillance in low and middle-income settings-A roadmap for participation in the Global Antimicrobial Surveillance System (GLASS). **Wellcome Open Research**, v. 2, 2017.

SEAS, C.; GARCIA, C.; SALLES, M. J.; LABARCA, J.; LUNA, C.; ALVAREZ-MORENO, C.; MEJÍA-VILLATORO, C.; ZURITA, J.; GUZMÁN-BLANCO, M.; RODRÍGUEZ-NORIEGA, E.; REYES, J.; ARIAS, C. A.; CARCAMO, C.; GOTUZZO, E. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in Latin America: results of a multinational prospective cohort study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 1, p. 212-222, 2018.

SEO, H. K.; LEE, J. H., KIM, H. S., LEE, C. K.; LEE, S. C. Antioxidant and antimicrobial activities of *Smilax china* L. leaf extracts. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 6, p. 1723-1727, 2012.

SHAN, B., CAI, Y. Z., BROOKS, J. D., & CORKE, H. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. **International Journal of food microbiology**, v. 117, n. 1, p. 112-119, 2007.

SILVA, C. A. M.; SIMEONI, L. A.; SILVEIRA, D. Genus *Pouteria*: Chemistry and biological activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2A, p. 501-509, 2009.

SILVA, Sandra Márcia Mazutti da. **Avaliação da atividade antimicrobiana de espécies vegetais do bioma Cerrado**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

SILVA-LUZ, C.L.; PIRANI, J.R.; PELL, S.K.; MITCHELL, J.D. 2020. *Anacardiaceae* in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB4409>>. Acesso em: 21 jun. 2021.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D.; BRYCE, D. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 8th. New Jersey: John Wiley e Sons, 2014.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 502p.

SINSINWAR, S.; VADIVEL, V. Catechin isolated from cashew nut shell exhibits antibacterial activity against clinical isolates of MRSA through ROS-mediated oxidative stress. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 19, p. 8279-8297, 2020.

SOARES, Anielca Nascimento. **Morfoanatomia, perfil químico e propagação de *Smilax fluminensis* Steud. (Smilacaceae)**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SOUZA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-Jr, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. D.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

STANDLEY, P.C. & STEYERMARK, J.A. **Anacardiaceae**. (Eds), Flora of Guatemala - Part VI. Fieldiana, Bot. 24(6): p. 177-195, 1949.

STROLLO, S.; LIONAKIS, M.; STEINER, C.; PREVOTS, R. Epidemiology of Invasive Candidiasis in the United States, 2002–2012. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 1, p. 7, 2017.

SWENSON, U.; ANDERBERG, A. Phylogeny, character evolution, and classification of Sapotaceae (Ericales). **Cladistics**, v. 21, n. 2, p. 101-130, 2005.

SZYMAŃSKA, E.; ORŁOWSKI, P.; WINNICKA, K.; TOMASZEWSKA, E.; BAŞKA, P., CELICHOWSKI, G.; KRZYŻOWSKA, M. Multifunctional tannic acid/silver nanoparticle-based mucoadhesive hydrogel for improved local treatment of HSV infection: *in vitro* and *in vivo* studies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 2, p. 387, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Universitat Jaume I, 2006.

TAKAHASHI, H. T.; NOVELLO, C. R.; UEDA-NAKAMURA, T.; PALAZZO DE MELLO, J. C.; NAKAMURA, C. V. Thiophene derivatives with antileishmanial activity isolated from aerial parts of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. **Molecules**, v. 16, n. 5, p. 3469-3478, 2011.

TAN, N., BILGIN, M., TAN, E., & MISKI, M. Antibacterial activities of pyrenylated coumarins from the roots of *Prangos hulusii*. **Molecules**, v. 22, n. 7, p. 1098, 2017.

TAPAS, A. R.; SAKARKAR, D. M.; KAKDE, R. B. Flavonoids as nutraceuticals: a review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 1089-1099, 2008.

THOMFORD, N. E.; SENTHEBANE, D. A.; ROWE, A.; MUNRO, D.; SEELE, P., MAROYI, A.; DZOBO, K. Natural products for drug discovery in the 21st century: innovations for novel drug discovery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 6, p. 1578, 2018.

TATI, S.; DAVIDOW, P.; MCCALL, A.; HWANG-WONG, E.; ROJAS, I. G.; CORMACK, B.; EDGERTON, M. *Candida glabrata* binding to *Candida albicans* hyphae enables its development in oropharyngeal candidiasis. **PLoS Pathogens**, v. 12, n. 3, p. e1005522, 2016.

TONG, S. Y.; DAVIS, J. S.; EICHENBERGER, E.; HOLLAND, T. L.; FOWLER, V. G. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 3, p. 603-661, 2015.

TUTTIS, K., COSTA, D. L. M. G., NUNES, H. L., SPECIAN, A. F. L., SERPELONI, J. M., SANTOS, L. C. D., VARANDA, E. A.; VILEGAS, W.; MARTÍNEZ-LOPEZ, W., SYLLOS CÓLUS, I. M. de. *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. extract: Flavonoids quantification and chemopreventive effect on HepG2 cells. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 81, n. 16, p. 792-804, 2018.

VADING, M.; NAUCLÉR, P.; KALIN, M.; GISKE, C. G. Invasive infection caused by *Klebsiella pneumoniae* is a disease affecting patients with high comorbidity and associated with high long-term mortality. **PloS One**, v. 13, n. 4, p. e0195258, 2018.

VALLE JR, D. L.; ANDRADE, J. I.; PUZON, J. J. M.; CABRERA, E. C.; RIVERA, W. L. Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 7, p. 532-540, 2015.

VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, n. 4, p. 105-113, 2015.

VINCENTZ, F. *Equisetum*. 2007. Disponível em: <https://eol.org/pages/47170534/media> . Acesso em: 11 mar. 2021.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C. R.; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado-Documentos (INFOTECA-E)**, 2010.

WANG, Z.; QIN, R. R.; HUANG, L.; SUN, L. Y. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and mortality of *Klebsiella pneumoniae* infection. **Chinese Medical Journal**, v. 131, n. 1, p. 56, 2018.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO traditional medicine strategy: 2014-2023**. 2013. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/92455/9789241506090_eng.pdf. Acesso em: 30 dez. 2020.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance global report on surveillance**. 2014. Disponível em: <https://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>. Acesso em: 30 dez. 2020.

WHO. World Health Organization. **Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics**. 2017.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis.** 2019. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>. Acesso em: 20 nov. 2020.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The top 10 causes of death.** 2020a. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Acesso em 27 fev. 2021.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance.** 2020b. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em 03 dez. 2020.

WILLEMS, H. M.; AHMED, S. S.; LIU, J.; XU, Z.; PETERS, B. M. Vulvovaginal candidiasis: a current understanding and burning questions. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, p. 27, 2020.

XU, S.; SHANG, M. Y.; LIU, G. X.; XU, F.; WANG, X.; SHOU, C. C.; CAI, S. Q. Chemical constituents from the rhizomes of *Smilax glabra* and their antimicrobial activity. **Molecules**, v. 18, n. 5, p. 5265-5287, 2013.

ZAIDI, A. K.; HUSKINS, W. C.; THAYER, D.; BHUTTA, Z. A.; ABBAS, Z.; GOLDMANN, D. A. Hospital-acquired neonatal infections in developing countries. **The Lancet**, v. 365, n. 9465, p. 1175-1188, 2005.

ZAPPI, D.C. **Tapirira obtusa (Benth.) J.D.Mitch. – Anacardiaceae.** 1988. Disponível em: http://www.kew.org/science/tropamerica/imagedatabase/large1/cat_single1-4140.htm. Acesso em: 21 jun. 2021.