

Avaliação do Perfil Cromatográfico, Atividade Antimicrobiana e Antioxidante das Partes Aéreas de *Marsypianthes chamaedrys* (Lamiaceae)

Evaluation of the Chromatographic Profile, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Marsypianthes chamaedrys* (Lamiaceae) Aerial Parts

Rayka M. de S. Barreto,^a Camila A. Romano,^a Luiza T. Chaul,^a Fernando Y. Abrão,^a Julianna C. Miranda,^a Virgínia F. Alves,^b José R. Paula,^{a,*} Tatiana S. Fiuza^a

^a Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais, CEP 74605-170, Goiânia- GO, Brasil

^b Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, Laboratório de Microbiologia de Medicamentos e Alimentos, CEP 74605-170, Goiânia-GO, Brasil

*E-mail: jose_realino@ufg.br

Submissão: 27 de Março de 2025

Aceite: 22 de Agosto de 2025

Publicado online: 4 de Setembro de 2025

Marsypianthes chamaedrys (Vahl.) is an herb popularly used for vaginal discharge, uterine inflammation, and mycosis. This study aimed to obtain the crude ethanol extract and fractions of the aerial parts of *M. chamaedrys*, collected in Hidrolândia, Goiás; to carry out thin layer chromatography (TLC); and to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities. Antioxidant activity was measured using the DPPH (2, 2-difenil-1-picrilhidrazil) method. Antimicrobial activity was measured using the broth microdilution method. TLC analysis indicated the presence of flavonoids, terpenes, and anthraquinones in the ethyl acetate fraction; terpenes and flavonoids in the dichloromethane fraction; and saponins in the aqueous fraction. Very strong to moderate antioxidant activity was found in the ethyl acetate, dichloromethane, and aqueous fractions (EC₅₀ from 7.57 µg mL⁻¹ to 47.51 µg mL⁻¹). The crude extract and dichloromethane fraction showed activity against *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus typhimurium*. The hexane, dichloromethane, and ethyl acetate fractions showed antifungal activity against *Cryptococcus gattii*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and *Candida krusei* (MIC = 16 to 256 µg mL⁻¹). The antimicrobial activity justifies the popular use of this species and encourages new studies to explore its pharmaceutical potential. This work represents the first description of the antimicrobial activity of *M. chamaedrys*.

Keywords: Cerrado; *Hyptis chamaedrys*; medicinal plants; Lamiaceae; antifungal activity.

1. Introdução

Marsypianthes chamaedrys (Vahl.) Kuntze (Lamiaceae)¹ (sinonímia: *Hyptis chamaedrys* (Vahl) Willd.; *Clinopodium chamaedrys* Vahl; *Hyptis inflata* Spreng.; *Hyptis lurida* Spreng.; *Hyptis pseudochamaedrys* Poit. e *M. arenosa* Brandege)² é uma planta conhecida popularmente como paracari, erva de cobra, bóia-caá, alecrim (BA), alfavaca-de-cheiro (SP), betônica-brava (GO, SP, PR), malva ou mata-pasto (GO).³ É uma erva ou subarbusto ruderal, com 0,1–1,5 m de altura, anual, sem sistema subterrâneo. Suas folhas são membranáceas, ligeiramente hirsutas em ambas as faces. A inflorescência é constituída por 11 a 22 flores.⁴

Popularmente, o extrato das folhas de *M. chamaedrys* é usado contra “picada de cobra” pelos índios Tikunas na região Amazônica.⁵ A infusão é utilizada para tratamento de gripe, hipertensão, tosse,⁶ micose, escabiose,⁷ náusea, como vermífugo e no tratamento de cólica intestinal⁸ e diarreia.^{8,9} A decocção e a infusão das folhas são utilizadas no tratamento de asma, dor de estômago, gastrite, úlcera, corrimento vaginal, inflamação uterina e ovariana e cicatrização de feridas¹⁰ e para sinusite.¹¹

Estudos científicos identificaram 26 compostos no óleo essencial das partes aéreas de *M. chamaedrys*, sendo majoritários o germacreno D (34,10%), biciclogermacreno (17,90%), β-cariofileno (12,20%), δ-elemeno (3,80%) e β-elemeno (3,0%).¹² Matos *et al.*¹³ encontraram no óleo essencial das partes aéreas de *M. chamaedrys*, coletadas em Fortaleza- Ceará, os compostos germacreno D (35,60%), β-cariofileno (15,10%), biciclogermacreno (7,20%) e α-copaeno (5,30%). Já Hashimoto *et al.*¹⁴ identificaram, no óleo essencial, os compostos majoritários Germacreno D (valor médio total de 18,68 ± 13,77%), espatulenol (18,54 ± 16,00%), e biciclogermacreno (13,46 ± 13,75%) nas partes aéreas de 4 espécies de *Marsypianthes* (*M. burchellii*, *M. chamaedrys*, *M. foliolosa*, *M. montana*) coletadas em diferentes locais do estado de Goiás. Meneses *et al.*¹⁵ isolaram de *M. chamaedrys* uma mistura contendo chamaedrydiol (urs-12-ene-2α,3β-diol),

três triterpenos (lup-20(29)-ene-2 α ,3 β -diol, castanopsol e epigermanidiol) e quatro triterpenos menos polares (α -amirina, β -amirina, lupeol e germanicol).

Diversas atividades biológicas também foram descritas na literatura para essa espécie. Menezes *et al.*¹⁶ verificaram alta atividade moluscicida contra *Biomphalaria glabrata* da mistura contendo chamaedridiol, 2 α -hidroxilupeol, epigermanidiol e castanopsol, obtida da fração eluída com hexano-EtOAc de caules de *M. chamaedrys*. Magalhães *et al.*¹⁷ observaram efeito inibitório considerável sobre os processos inflamatórios (atividade antifosfolipase A2) e atividade anticoagulante *in vitro* do extrato das partes aéreas de *M. chamaedrys* (Lamiaceae). Mensor *et al.*¹⁸ verificaram atividade antioxidante do extrato etanólico dos ramos de *M. chamaedrys*, coletada em Fortaleza, Ceará.

Não foram encontrados na literatura estudos sobre a atividade antioxidante do extrato bruto e frações das partes aéreas de *M. chamaedrys* coletados em Goiás, o que estimula novas pesquisas, pois substâncias com atividade antioxidante retardam ou impedem que os radicais livres oxidem outras moléculas.¹⁹ Os radicais livres são moléculas instáveis produzidas durante processos metabólicos e estão associados a danos a plantas, alimentos e células. Nas plantas, estão associados a danos a organelas celulares, alterações no DNA e senescência foliar. Nos alimentos, são responsáveis por alterações no sabor e odor, diminuindo o tempo de prateleira, causando rejeição dos consumidores e prejuízos para a qualidade nutricional. Com relação à saúde humana, estão relacionados com a fisiopatologia de doenças degenerativas, disfunções cognitivas, envelhecimento precoce, doenças cardiovasculares e câncer.²⁰

Adicionalmente, *M. chamaedrys* possui potencial antimicrobiano ainda não estudado cientificamente. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS)²¹ estima-se que até 2050, a resistência a antimicrobianos (RAM), poderá ser responsável por aproximadamente 10 milhões de óbitos anuais, além de um impacto econômico de 100 trilhões de dólares. A RAM pode ser intrínseca ou adquirida e ocorre quando, por diferentes mecanismos, medicamentos se tornam ineficientes contra bactérias, fungos, vírus e parasitas.²² Devido a essa grave ameaça à saúde mundial, responsável por mortes e prejuízos econômicos significativos no setor de saúde, a busca por novas opções terapêuticas se intensificou,²³ e os extratos vegetais de muitas plantas, entre elas a *M. chamaedrys*, podem ser fontes de moléculas bioativas por conterem metabolitos secundários como flavonoides, terpenos, alcaloides e compostos fenólicos que os conferem atividades biológicas antibacterianas, antifúngicas e antioxidantes.²⁴

Considerando o uso popular da *M. chamaedrys* no tratamento de corrimento vaginal¹⁰, micoses⁷ e diarreia,^{8,9} aliado a escassez de estudos sobre sua atividade antimicrobiana, e tendo em vista a busca por compostos com atividade antioxidante, o presente estudo visou investigar as atividades antibacteriana e antifúngica, e atividade antioxidante do extrato etanólico bruto e frações (hexano,

diclorometano, acetato de etila e aquosa) das partes aéreas dessa espécie coletada em Hidrolândia, Goiás. Além disso, busca realizar a triagem fitoquímica e o perfil cromatográfico por meio da cromatografia em camada delgada (CCD). Esta pesquisa busca elucidar cientificamente os usos populares da planta e também contribuir para a descoberta de novos compostos bioativos de origem vegetal com aplicações terapêuticas e tecnológicas relevantes.

2. Experimental

2.1. Reagentes químicos e solventes

Para o desenvolvimento do trabalho experimental foram utilizados os seguintes reagentes: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (95,0%), ácido difenil bórico (99,9%), ampicilina, fluconazol, meio *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI), trifeniltetrazólio (TTC) (98,5%) adquiridos na Sigma Aldrich®, Saint Louis, Missouri, USA. Acetato de etila (99,5%) e acetona foram adquiridos na Sciavicco®, Sabará, Minas Gerais, Brasil. Acetato de chumbo (99,0%), ácido acético glacial (99,7%), ácido bórico (99,5%) ácido oxálico (99,5%), ácido sulfúrico (36,0%), dimetil sulfóxido (99,9%), fita de magnésio e polietilenoglicol 4000 foram obtidos na Êxodo científica®, Sumaré, São Paulo, Brasil. Ácido clorídrico (38,0%) foi adquirido no IMPEX, Contagem, Minas Gerais, Brasil e ácido fórmico (98,0%) no Acros Organics®, Geel, Antwerpen, Bélgica. Ágar *Mueller-Hinton*, ágar *Sabouraud* dextrose e caldo *brain heart infusion* (BHI) foram obtidos da Kasvi®, Itália. Ácido tânico (99,0%), cloreto de alumínio (99,7%), cloreto de ferro (97,0%), cloreto de sódio (99,5%), clorofórmio (99,8%), gelatina, hidróxido de sódio (98,0%), iodo (99,5%), polissorbato (Tween 80), sulfato de amônia (99,5%) e vanilina foram adquiridos do Labsynth®, Diadema, São Paulo, Brasil. Álcool etílico (99,5%), álcool metílico (99,8%), diclorometano (99,8%), éter etílico, hexano (99,5%), hidróxido de potássio (99,6%) e tolueno (99,9%) foram adquiridos da Neon®, Suzano, São Paulo, Brasil. Amido solúvel foi obtido da Isofar, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil, anidrido acético (97,0%) da Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil e sulfato de quinina (99,0%) da ACS Científica, Sumaré, São Paulo, Brasil.

2.2. Coleta do material botânico

O material botânico constituído pelas partes aéreas de *M. chamaedrys* foi coletado no período de dezembro/2021 a março/2022 em Hidrolândia, Goiás, altitude de 815 m, “16° 53’ 59,7” S, 49° 15’ 33,3” W” (Figuras 1a e 1b). O material foi identificado pelo professor Dr. José Realino de Paula. Uma exsicata foi preparada, depositada e registrada no herbário da Universidade Federal de Goiás (UFG) com o número 32696. O acesso ao patrimônio genético foi registrado no SISGEN número A529442.

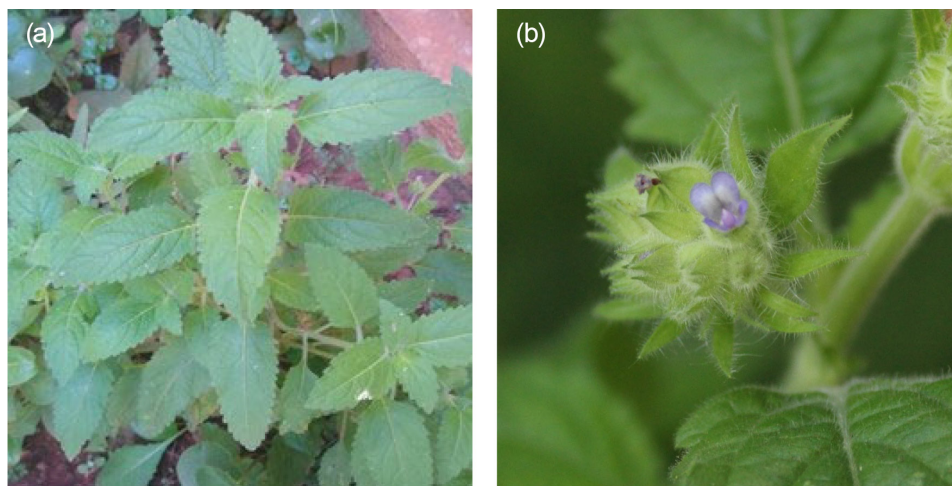


Figura 1. (a) aspecto geral de *M. chamaedrys* (b) detalhes dos botões florais e flor

2.3. Obtenção do extrato etanólico bruto e frações

As partes aéreas de *M. chamaedrys* foram secas em estufa com circulação de ar (Fabbe-Primar) e moídas em liquidificador industrial (Poli®) até a forma de pó. Para a preparação do extrato etanólico bruto, 100 g de pó foram macerados com álcool etílico 95,0% na proporção de 1:5 (1 parte de pó para 5 partes de álcool a 95,0%) em temperatura ambiente por 24 horas, por três vezes e concentrado em evaporador rotativo (Buchi) à 40 °C. Para a obtenção das frações, o extrato etanólico bruto foi solubilizado em álcool metílico/água 7:3 (v/v). A mistura resultante foi extraída por partições líquido/líquido sucessivas com hexano, diclorometano e acetato de etila.²⁵ As frações foram concentradas em evaporador rotativo (Buchi) a 40 °C e a fração aquosa foi liofilizada (Thermo).

2.4. Triagem fitoquímica

Na triagem fitoquímica do pó das partes aéreas foram pesquisados: heterosídeos antraquinônicos (formação de fenatos de amônio), cumarinas (hidrólise alcalina e observação em luz ultravioleta), esteroides e triterpenos (reações de Liebermann-Burchard); amido (lugol); heterosídeos flavonoides (reação de Shinoda; oxalo-bórica; com H₂SO₄ concentrado; com hidróxidos alcalinos; cloreto de alumínio e cloreto férrico); heterosídeos saponínicos (índice de espuma); reação com gelatina e sulfato de quinina (pesquisa de taninos).^{26,27}

2.5. Cromatografia em camada delgada

Para realizar a CCD, o extrato etanólico bruto, as frações hexano, diclorometano, acetato de etila e aquosa foram redissolvidas em seus respectivos solventes de extração e aplicadas em cromatofolha contendo silicagel 60 F254 (Merck) de acordo com Wagner e Bladt.²⁸ As análises cromatográficas foram realizadas tendo como fase móvel os eluentes: acetato de etila/metanol/água

(100:13,5:10) e revelador NP 1% (ácido difenilbórico 1% em metanol)/PEG (polietilenoglicol) 4000 a 5% em etanol) (NP/PEG), para análise de flavonoides (fluorescência amarela em luz UV 365 nm);²⁹ clorofórmio/ácido acético glacial/metanol/água (64:32:12:8), revelador vanilina/H₂SO₄ para análise de saponinas (cor azul, azul violeta ou amarelo amarronzado); acetato de etila/metanol/água (100:13,5:10), revelador KOH a 10% para análise de antraquinonas (fluorescência vermelha em luz UV 365 nm); acetato de etila/metanol/água (100:13,5:10), revelador vanilina/H₂SO₄ para terpenos (coloração roxa), taninos condensados (coloração vermelha), taninos hidrolisáveis (incolor), flavonoides glicosilados (amarelo), saponinas (azul violeta).

2.6. Atividade antioxidante

Para avaliação da atividade antioxidante *in vitro* foi utilizada a metodologia do radical livre DPPH.^{30,31} Inicialmente foi preparada uma solução metanólica de DPPH (60 µM) e soluções na concentração de 1 mg mL⁻¹ do extrato etanólico bruto e das frações hexano, diclorometano, acetato de etila, e aquosa das partes aéreas. A solução do extrato etanólico bruto, a fração hexano, e a fração aquosa foram diluídas nas concentrações de 0,005; 0,010; 0,015; 0,020; 0,025 mg mL⁻¹; a fração diclorometano nas concentrações de 0,010; 0,015; 0,020; 0,025 e 0,030 mg mL⁻¹; e a fração acetato de etila nas concentrações de 0,0025; 0,00375; 0,005; 0,00625; 0,0075 mg mL⁻¹. Posteriormente, adicionou-se 3,9 mL da solução metanólica de DPPH (60 µM). As amostras foram agitadas, incubadas no escuro por 10 minutos e lidas as absorbâncias a 515 nM. O extrato, as frações e o padrão foram analisados em triplicata e foi calculado o desvio padrão das análises.

Para o cálculo do EC₅₀ (concentração efetiva que captura 50 % do radical livre DPPH) foi utilizada a equação obtida por regressão linear dos dados experimentais, sendo no eixo x colocadas as concentrações da amostra e no eixo Y as absorbâncias.

$$Y = -ax + b \text{ (equação da reta obtida)}$$

onde: y = Absorbância inicial do DPPH/2; x = Amostra necessária para reduzir em 50 % a concentração inicial do radical DPPH EC₅₀ (mg mL⁻¹).

O EC₅₀ corresponde à concentração da amostra necessária para reduzir em 50 % a concentração inicial do radical DPPH.³⁰

De acordo com Scherer e Godoy³² atividade antioxidante fraca é quando a atividade antioxidante (IAA) for menor que 0,5; atividade antioxidante moderada quando IAA estiver entre 0,5 e 1,0; atividade antioxidante forte quando IAA estiver entre 1,0 e 2,0; e atividade antioxidante muito forte quando IAA for maior que 2,0.

$$IAA = \text{Concentração final do DPPH } (\mu\text{g mL}^{-1}) * EC_{50} (\mu\text{g mL}^{-1})$$

2.7. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto e das frações

As atividades antimicrobianas do extrato etanólico bruto e das frações acetato de etila, diclorometano, hexano e aquosa das folhas foram avaliadas pela técnica de microdiluição em caldo, através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Os testes foram feitos de acordo com os protocolos M07-A8³³ para bactérias e M27-A3³⁴ para fungos do *Clinical & Laboratory Standards Institute*. Todos os materiais utilizados nessa etapa foram previamente esterilizados.

Foram utilizadas cepas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) e isolados clínicos, cedidos pelo Laboratório de Bacteriologia e Micologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (UFG). Foram utilizadas as bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 10240, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus cereus* ATCC 14879; Gram-negativas: *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 8739, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Serratia marcescens* ATCC 14756, *Salmonella Choleraesuis* ATCC 14708, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella Typhi* ATCC 19430, e os fungos: *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *C. parapsilosis* ATC 96143, *C. parapsilosis* ATCC 96141, *Candida albicans* ATCC 10231, *C. albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC 90050, *C. glabrata* ATCC 90030, *Candida krusei* ATCC 34135, *C. krusei* ATCC 6285, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Cryptococcus var. neoformans* ATCC 28957, *Cryptococcus var. gatti* ATCC 24065, *C. neoformans* L2, *C. neoformans* ATCC 90112.

Os extratos e frações vegetais foram solubilizados em 1% (mv) de dimetilsulfóxido (DMSO) e depois diluídos em caldo. O caldo Mueller Hinton foi utilizado para testes com bactérias e o caldo de *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640 (com *L*-glutamina, sem bicarbonato, pH 7,0) para fungos.

Inicialmente os microrganismos foram cultivados em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*). Depois, as bactérias foram semeadas em ágar *Mueller Hinton* e realizada incubação a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18-24 h. Em seguida, alíquotas de 200 μL dos extratos e frações foram adicionadas em microplacas estéreis com 96 poços com fundo em U e realizadas diluições seriadas de 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 1,950 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em caldo *Mueller Hinton*.

Os fungos foram semeados em ágar *Sabouraud Dextrose* por 48 h para *Candida* spp. e 72 h para *C. neoformans*. Em seguida, alíquotas de 200 μL dos extratos e frações foram adicionadas em microplacas estéreis com 96 poços com fundo em U e realizadas diluições seriadas variando de 2048 a 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em caldo *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI).

Os inóculos foram preparados diluindo as colônias em solução de cloreto de sódio 0,85 % (p/v), com ajuste da concentração correspondente a escala 0,500 de McFarland em espectrofotômetro (espectrofotômetro UV/VIS Hinotek, Modelo SP-2000UV) no intervalo de transmitância de 79,40% a 83,20% com leitura a 625 nm para bactérias e 530 nm para fungos.

Foram preparados controles de crescimento microbiano, controle de esterilidade do meio de cultura e contaminação dos extratos e frações, controle de inibição microbiana dos diluentes (DMSO e Tween 80) e, por fim, o controle de qualidade da técnica, sendo utilizado ampicilina (Sigma-Aldrich) e *E. coli* ATCC 25922 para bactérias e fluconazol (Sigma-Aldrich) e *C. parapsilosis* ATCC 22019, para fungos.

Após as inoculações, as placas foram incubadas em estufa (Fanem) a $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ sob as condições previamente descritas. A leitura foi realizada após adição de 20 μL de cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) a 0,50% (mv), seguido de nova incubação por 30 minutos para bactérias, na qual aparecimento de coloração avermelhada foi indicativo de crescimento bacteriano. Para os fungos, foi feita inspeção visual quando comparada com microrganismos cultivados na ausência de extrato e frações testados (controle negativo) para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) definida como a menor concentração da amostra (em $\mu\text{g mL}^{-1}$) capaz de inibir de forma visível totalmente o crescimento fúngico. Os experimentos foram realizados em triplicata.

3. Resultados e Discussão

O rendimento do extrato etanólico bruto foi de 6,66%, enquanto as frações apresentaram os seguintes rendimentos: hexano 33,76%, diclorometano 13,67%, acetato de etila 11,86% e fração aquosa 25,92%.

3.1. Triagem fitoquímica e cromatografia em camada delgada

Na triagem fitoquímica do pó das partes aéreas, verificou-se a presença de flavonoides por apresentar reações oxalo-bórica, cloreto de alumínio, cloreto férrico

e com hidróxidos alcalinos, positivas; de fenóis (reação com cloreto férrico positiva); saponinas (reação positiva com índice de espuma igual a 100), triterpenos (reação de Lierbermann-Burchard positiva) e antraquinonas (reação de Borntraeger positiva). Não foi observada a presença de amido (Reação de lugol negativa). Foram verificados traços de cumarina (fluorescência após tratar com hidróxido de sódio). As reações de H_2SO_4 , de Shinoda, com gelatina e sulfato de quinina foram negativas.

Compostos fenólicos, podem ter atividade antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória.^{35,36} Estudos utilizando o método de microdiluição em caldo demonstraram atividade antimicrobiana de flavonoides, como quercetina, frente *C. neoformans* (CIM de $64 \mu\text{g mL}^{-1}$), *C. albicans* (CIM de $128 \mu\text{g mL}^{-1}$), *C. parapsilosis* (CIM de $64 \mu\text{g mL}^{-1}$).³⁷ O flavonoide puro Dalpanitin, isolado de *Dalbergia scandens* Roxb., Corom., foi eficaz contra *C. albicans* (CIM de $188 \mu\text{g mL}^{-1}$), *E. coli* (CIM de $94 \mu\text{g mL}^{-1}$), *S. aureus* (CIM de $23 \mu\text{g mL}^{-1}$) por meio do ensaio de microdiluição.³⁸ O flavonoide β -vincetoxicósido em combinação com o fluconazol teve atividade antifúngica frente a *C. albicans* (CIM de $4 \mu\text{g mL}^{-1}$) pelo método microdiluição em caldo.³⁹

A atividade antioxidante dos flavonoides é altamente correlacionada com o potencial de oxidação eletroquímica, já que a fração fenólica redox-ativa comum a todos os flavonoides é o que confere suas propriedades antioxidantes.⁴⁰

3.2. Cromatografia em camada delgada

A análise em CCD utilizando como fase móvel uma mistura de acetato de etila/metanol/água (100:13,5:10 v/v) e revelador NP/PEG na luz UV indicou a presença de flavonoides glicosilados no extrato etanólico bruto e frações

acetato de etila e aquosa (bandas amarelas) visualizadas sobre luz UV (Figura 2a).

Utilizando como fase móvel uma mistura de acetato de etila/metanol/água (100:13,5:10 v/v) e revelador vanilina/ H_2SO_4 , verificou-se a presença de terpenos no extrato bruto e nas frações hexano e diclorometano (bandas azul/roxa); flavonoides glicosilados foram observados nas frações acetato de etila e aquosa (bandas amarelas). Com fase móvel acetato de etila/metanol/água (100:13,5:10 v/v) e revelador KOH 5%, verificou-se a presença de antraquinonas nas frações diclorometano, acetato de etila e aquosa. Com fase móvel clorofórmio/ácido acético glacial/metanol/água (64:32:12:8 v/v) e revelador vanilina/ H_2SO_4 , observou-se saponinas nas frações acetato de etila e aquosa (bandas amarelas) (Figura 2b).

Fernandes⁴¹ analisou a composição química de *M. chamaedrys*, e verificou que as frações diclorometano e acetato de etila apresentaram altos teores de fenóis e flavonoides e a fração diclorometano apresentou 18 compostos, nos quais 14 ácidos fenólicos, 2 flavonoides e 2 ácidos graxos. Mignoni⁴² identificou na fração diclorometano de *M. chamaedrys* por CLAE-DAD, o ácido rosmarínico e o ácido cafeico, além de outros 15 compostos indicativos de compostos fenólicos. Vasconcelos *et al.*⁴³ encontraram no extrato etanólico das folhas de *Hyptis pectinata* terpenos, taninos e alcaloides. O perfil cromatográfico em camada delgada da fração acetato de etila de *H. spicigera* evidenciou a presença de flavonoides, além de terpenos, saponinas, taninos e alcalóides.⁴⁴

3.3. Atividade antioxidante

O método DPPH utilizado no presente estudo é

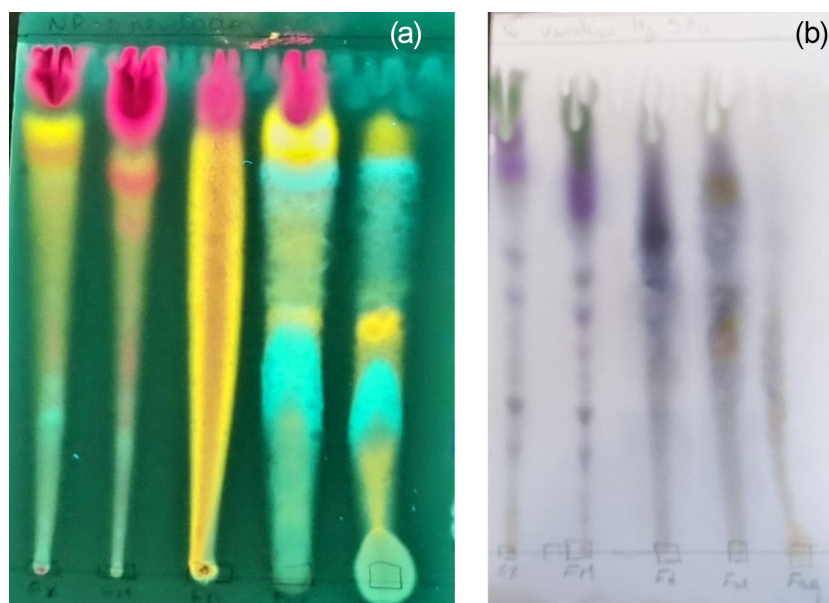


Figura 2. (a) CCD utilizando fase móvel acetato de etila/metanol/água (100:13,5:10 v/v) e revelador NP/PEG, em luz UV (b) CCD utilizando como fase móvel acetato de etila/metanol/água (100:13,5:10 v/v) e revelador vanilina/ H_2SO_4 . Da esquerda para direita: Extrato etanólico bruto, fração hexano, fração diclorometano, fração acetato de etila e fração aquosa

comumente aplicado à investigação de moléculas com atividade antioxidante por ser simples e prático e se baseia na capacidade do DPPH capturar um átomo de hidrogênio, processo que causa a mudança de coloração da solução de violeta para incolor.^{30,31}

Os dados obtidos no presente estudo (Figuras 3a e 3b) demonstram que a fração acetato de etila (EC_{50} de 7,569 $\mu\text{g mL}^{-1}$, IAA = 3,130) apresentou atividade antioxidante muito forte com IAA > 2, a fração aquosa (EC_{50} de 47,513 $\mu\text{g mL}^{-1}$, IAA = 0,500) atividade moderada, e o extrato etanólico bruto (130,800 $\mu\text{g mL}^{-1}$, IAA = 0,181) apresentou atividade fraca. Mensor *et al.*¹⁸ reportaram um EC_{50} de 63,830 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o extrato etanólico dos ramos de *M. chamaedrys*, coletada em Fortaleza, Ceará, utilizando o método DPPH. Essa atividade antioxidante pode ser devido à presença de flavonoides. A presença de grupos OH diretamente ligados aos átomos de carbono do anel benzênico determina o papel antioxidante dos flavonoides, ácidos fenólicos e seus ésteres. A atividade expressa é demonstrada por compostos com dois grupos hidroxila, dispostos como no catecol, e três grupos hidroxila, dispostos como no pirogalol,⁴⁵ que doam hidrogênio aos radicais hidroxil, peroxil e peroxinitrito, estabilizando-os e dando origem a um radical flavonoide relativamente estável.^{46,47} Esses compostos exercem atividade antioxidante por diferentes mecanismos como a inibição da formação ou eliminação direta de espécies reativas de oxigênio (ERO), quelação de oligoelementos, inibição de enzimas que participam na geração de radicais livres ou ativação de defesas antioxidantes endógenas. Os flavonóis são conhecidos por coordenar íons metálicos no grupo 3-hidroxi-4-ceto e/ou no grupo 5-hidroxi-4-ceto (quando o anel A é hidroxilado na posição 5). A *o*-di-hidroxilação do anel B contribui para a atividade antioxidante. O grupo funcional 4-oxo conjugado com a dupla ligação dos carbonos 2-3 do anel C causa a deslocalização de elétrons no anel B. O potencial máximo de sequestro de radicais dos compostos flavonoides é determinado pelos grupos hidroxila nas posições 3 e 5 do anel A e pela função 4-oxo no anel C.^{48,49}

A fração diclorometano (EC_{50} de 35,358 $\mu\text{g mL}^{-1}$, IAA = 0,669) apresentou atividade antioxidante moderada. Essa ação pode ser devida à presença de antraquinonas por

sequestrarem os radicais livres $\cdot\text{OH}$, 1,1-difenil-2-picril-hidrazila (DPPH) e $\text{O}_2^{\cdot-}$ e inibir o peróxido lipídico de exercer seus efeitos antioxidantes.⁵⁰

A fração hexano (487,917 $\mu\text{g mL}^{-1}$, IAA = 0,048) apresentou atividade antioxidante fraca (Figuras 3a e 3b).

Estudos com outras espécies de Lamiaceae verificaram atividade antioxidante com EC_{50} de 30,060 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 28,760 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para os extratos etanólico e aquoso, respectivamente, das folhas de *H. suaveolens*,⁵¹ e EC_{50} de 35,000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o extrato etanólico das folhas de *H. fasciculata*, coletadas no Rio Grande do Sul,⁵² e EC_{50} de 16,740 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o extrato metanólico de *H. crenata Pohl ex Benth* coletada no município de “Deus-me-ajude”, Pará.⁵³

3.4. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto e das frações

Os resultados foram avaliados segundo critérios descritos por Alves *et al.*⁵⁴ onde foi considerada bioatividade muito forte (CIM < 3,515 $\mu\text{g mL}^{-1}$), bioatividade forte (CIM de 3,516 a 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$), bioatividade moderada (CIM de 26 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$), bioatividade fraca (CIM de 101 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$), bioatividade muito fraca (CIM de 500 a 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e nenhuma bioatividade (CIM > 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

A fração diclorometano apresentou atividade fraca (CIM = 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$) frente *B. cereus* ATCC 14879 e muito fraca (CIM = 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) contra *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 8739, *S. thypi* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* ATCC 14028. O extrato etanólico bruto apresentou atividade muito fraca (CIM = 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) contra *B. cereus* ATCC 14879, *E. coli* ATCC 8739 e *S. typhimurium* ATCC 14028. A fração hexano apresentou atividade muito fraca (CIM = 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) frente *B. cereus* ATCC 14879 e *E. coli* ATCC 8739. Não foi observada atividade antibacteriana para as frações acetato de etila e aquosa (Tabela 1). *E. coli* (29%), *Salmonella sp.* (17%), *S. aureus* (16%) e *B. cereus* (8%) foram os agentes etiológicos responsáveis pelo maior número de surtos de infecções alimentares no Brasil, durante o período de 2009 a 2019.⁵⁵ O consumo de água e alimentos contaminados por microrganismos causa impactos adversos à saúde levando a prejuízos econômicos, custos elevados com hospitalização e, em casos extremos, óbitos.^{56,57, 58}

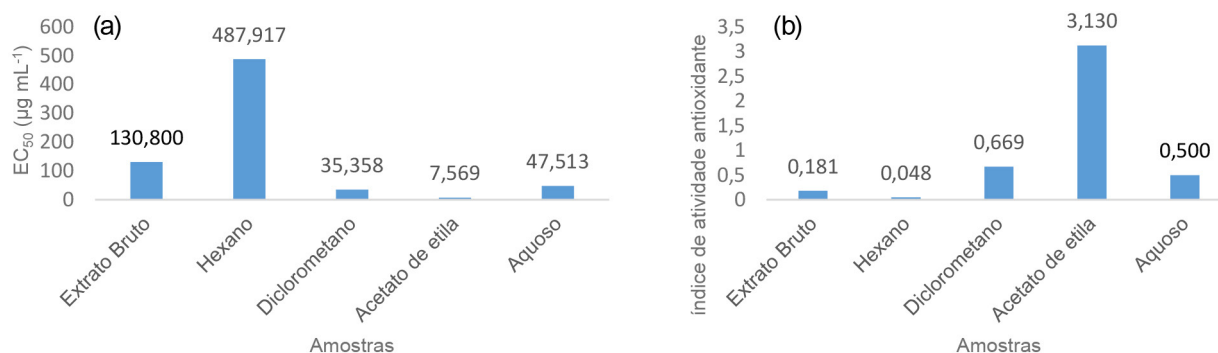


Figura 3. (a) valores de EC_{50} para as amostras analisadas (b) valores de índice de atividade antioxidante para as amostras analisadas

Não foram encontrados estudos na literatura explorando a atividade antimicrobiana de espécies de *Marsypianthes*. No entanto, para outras espécies pertencentes à mesma família, como *Hyptis*, a literatura relata atividade antibacteriana. Oliveira *et al.*⁵⁹ observaram atividade dos óleos das folhas de *H. martiusii*, coletadas em Chapada do Araripe no Ceará, Brasil, frente a *B. cereus* (256 µg mL⁻¹), *E. coli* (64 µg mL⁻¹) e *S. aureus* (512 µg mL⁻¹). Santos *et al.*⁶⁰ verificaram atividade antibacteriana do óleo das folhas de *H. leucocephala* Mart. ex Benth, coletadas em Feira de Santana (Bahia), contra *Staphylococcus schleiferi* (110 µg mL⁻¹) *S. aureus* (50 µg mL⁻¹), *E. coli* (50 µg mL⁻¹), *S. typhi* (110 µg mL⁻¹). Kusuma *et al.*⁶¹ demonstraram atividade antibacteriana do extrato metanólico das folhas de *H. capitata* frente a *S. aureus* (51,40 µg mL⁻¹) e *E. coli* (45,10 µg mL⁻¹).

A fração acetato de etila apresentou atividade antifúngica forte (CIM = 16 µg mL⁻¹) contra *C. neoformans* ATCC 28957, moderada contra *C. neoformans* L2 (CIM = 32 µg mL⁻¹) e *C. gattii* ATCC 24065 (CIM = 64 µg mL⁻¹), fraca (CIM = 256 µg mL⁻¹) contra *C. glabrata* ATCC 90050 e *C. neoformans* ATCC 90112 (Tabela 1).

A fração diclorometano apresentou atividade moderada (CIM = 32 µg mL⁻¹) contra *C. gattii* ATCC 24065 e *C. neoformans* L2, fraca contra *C. albicans* ATCC 10231 (CIM = 256 µg mL⁻¹), *C. parapsilosis* ATCC 22019 (CIM = 256 µg mL⁻¹), *C. parapsilosis* ATCC 96143 (CIM = 128 µg mL⁻¹), *C. parapsilosis* ATCC 96141 (CIM = 256 µg mL⁻¹), *C. glabrata* ATCC 90050 (CIM = 128 µg mL⁻¹), *C. glabrata* ATCC 90030 (CIM = 256 µg mL⁻¹), *C. krusei*

Tabela 1. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato etanólico bruto e frações das partes aéreas de *M. chamaedrys*

Microrganismos	Extrato Etanólico Bruto CIM (µg mL ⁻¹)	Fração Hexano CIM (µg mL ⁻¹)	Fração Diclorometano CIM (µg mL ⁻¹)	Fração Acetato de Etila CIM (µg mL ⁻¹)	Fração Aquosa CIM (µg mL ⁻¹)
Bactérias Gram-positivas					
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14879	2000	2000	250	>2000	>2000
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 10240	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	>2000	>2000	2000	>2000	>2000
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
Bactérias Gram-negativas					
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	2000	2000	2000	>2000	>2000
<i>E. coli</i> ATCC 25922	>2000	>2000	2000	>2000	>2000
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>Salmonella Choleraesuis</i> ATCC 14708	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>Salmonella Typhi</i> ATCC 19430	>2000	>2000	2000	>2000	>2000
<i>Salmonella enterica</i> Soroovar Typhimurium ATCC 14028	2000	>2000	2000	>2000	>2000
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 14756	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
Fungos					
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>2048	2048	256	1024	>2048
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	>2048	>2048	1024	>2048	>2048
<i>Candida glabrata</i> ATCC 90050	2048	2048	128	256	>2048
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	2048	2048	256	1024	>2048
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	1024	1024	128	512	>2048
<i>C. krusei</i> ATCC 6285	2048	512	128	512	>2048
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	2048	1024	256	2024	>2048
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 96143	2048	512	128	512	2048
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 96141	2048	1024	256	1024	>2048
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	>2048	>2048	1024	2048	>2048
<i>Cryptococcus gattii</i> ATCC 24065	256	64	32	64	256
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> ATCC 28957	1024	512	128	16	512
<i>Cryptococcus neoformans</i> L2	256	128	32	32	64
<i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 90112	2048	1024	128	256	2048

*CIM = Concentração Inibitória Mínima

ATCC 62859 (CIM = 128 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *C. krusei* ATCC 34135 (CIM = 128 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *C. neoformans* ATCC 90112 (CIM = 128 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. neoformans* ATCC 28957 (CIM = 128 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Tabela 1).

A fração hexano apresentou atividade moderada contra *C. gattii* ATCC 24065 (CIM = 64 $\mu\text{g mL}^{-1}$), fraca contra *C. parapsilosis* ATCC 96143 (CIM = 512 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *C. krusei* ATCC 6285 (CIM = 512 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. neoformans* L2 (CIM = 128 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Tabela 1).

A fração aquosa apresentou atividade moderada (CIM = 64 $\mu\text{g mL}^{-1}$) contra *C. neoformans* L2, fraca (CIM = 256 $\mu\text{g mL}^{-1}$) contra *C. gattii* ATCC 24065, e muito fraca (CIM = 512 $\mu\text{g mL}^{-1}$) frente *C. neoformans* ATCC 28957 (Tabela 1).

O extrato etanólico bruto apresentou atividade fraca (CIM = 256 $\mu\text{g mL}^{-1}$) contra *C. gattii* ATCC 24065 e *C. neoformans* L2 (Tabela 1).

C. neoformans e *C. gattii* são os principais agentes responsáveis pela criptococose, uma doença infecciosa, de ocorrência em todo o mundo, que causa pneumonia grave e meningoencefalite.⁶² Embora seja mais comum em imunossuprimidos, principalmente pacientes vivendo com HIV, também pode afetar indivíduos imunocompetentes^{63,64} e pode levar a complicações graves, sequelas e deficiências.⁶⁵ A resistência aos antifúngicos disponíveis dificultam o tratamento dessa doença, uma vez que *Cryptococcus spp.* já desenvolveu mecanismos de resistência a equinocandinas e azóis.⁶⁶ As frações acetato de etila, diclorometano, hexano e aquosa apresentaram atividade antifúngica variando de forte a moderada contra esses microrganismos, o que estimula estudos de isolamentos e identificação dos compostos responsáveis por essa atividade e ensaios *in vivo*.

C. albicans, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* são os principais microrganismos responsáveis pela candidíase vulvovaginal. Essa patologia é um problema de saúde pública mundial, especialmente entre mulheres em idade reprodutiva.⁶⁷ Causa sintomas incômodos como prurido intenso, sinais de inflamação e presença de fluxo grumoso de moderado a forte.^{68,69} A atividade antifúngica da fração diclorometano de *M. chamaedrys* contra *C. albicans* pode justificar o uso popular para infecções vaginais e uterinas.

As atividades antifúngicas do extrato etanólico bruto, e das frações acetato de etila e aquosa podem ser devido à presença de flavonoides. De acordo com Al Aboody e Mickymary⁷⁰ os flavonoides têm sido amplamente utilizados há muitos séculos no tratamento de uma série de doenças. Inibem o crescimento fúngico por meio de vários mecanismos subjacentes, incluindo a ruptura da membrana plasmática, a indução de disfunção mitocondrial e a inibição dos seguintes fatores: formação da parede celular, divisão celular, síntese de RNA e proteínas e sistema de bombeamento mediado por efluentes.

Saponinas, encontradas nas frações acetato de etila e aquosa de *M. chamaedrys*, são metabólitos secundários armazenados nas células vegetais como precursores

inativos, mas são prontamente convertidas em antibióticos biologicamente ativos por enzimas em resposta ao ataque de patógenos. As saponinas parecem atuar rompendo a integridade da membrana das células fúngicas.⁷¹

Não foi encontrado na literatura estudo da atividade antifúngica de *M. chamaedrys*. Mas verificou-se atividade antifúngica de espécies da mesma família. O óleo essencial das folhas de *H. ovalifolia* Benth. apresentou atividade antimicrobiana contra *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* (31,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$) pelo método de diluição em ágar⁷². Moreira et al.⁷³ verificaram atividade antifúngica do óleo essencial das folhas de *H. suaveolens* (L.) frente *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus parasiticus* (CIM = 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$) pelo método de microdiluição em poço. Mbatchou et al.⁷⁴ relataram atividade da fração aquosa e clorofórmica da planta inteira de *H. suaveolens* contra *Aspergillus niger*, *C. albicans*, *Fusarium* sp pelo método de difusão em ágar. Santos et al.⁶⁰ demonstraram atividade antibacteriana (CIM = 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) do óleo essencial de *H. leucocephala* Mart ex Benth, Lamiaceae, pelo método de microdiluição contra *E. coli*, *B. acillus pumillus* e *S. schleiferi*.

4. Conclusão

Concluiu-se que as frações hexano, diclorometano e acetato de etila das partes aéreas de *M. chamaedrys* apresentaram atividade antioxidante forte, atividade antibacteriana contra bactérias de interesse médico e alimentício, e atividade antifúngica contra *C. neoformans*, *C. gattii*, *C. parapsilosis* e *C. albicans*. A atividade antimicrobiana observada para essa espécie justifica seu uso popular no tratamento de corrimento vaginal, infecções uterina e ovariana, cicatrização de feridas, micose e diarreias. Esse estudo apresenta a primeira descrição da atividade antibacteriana, antifúngica do extrato bruto e suas frações, além da atividade antioxidante das frações das partes aéreas de *M. chamaedrys* coletadas em Hidrolândia, Goiás.

Sugere-se a realização de novos estudos para explorar seu potencial farmacêutico como isolamento e purificação dos compostos com atividades antibacterianas e antifúngicas, ensaios *in vivo* e possível desenvolvimento de medicamentos. Como *M. chamaedrys* é anual e morre no período de seca, uma das limitações é a obtenção de material para estudo, que fica restrito ao período de chuvas. Sugere-se estudos de cultivo em larga escala da espécie.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento

Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG). Este estudo foi financiado em parte pela CAPES, Código de Financiamento 001.

Contribuições dos Autores

R.M.S.B - design e implementação do experimento, redação e preparo do rascunho original, C.A.R. - implementação do experimento; L.T.C. - implementação do experimento, F.Y.A. - implementação do experimento; V.F.A. - implementação do experimento; J.R.P. - redação - revisão e edição; T.S.F. - orientação, supervisão, planejamento geral e design experimental.

Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Referências Bibliográficas

- Harley, R. M.; Atkins, S.; Budantsev, A. L.; Cantino, P. D.; Conn, B. J.; Grayer, R.; Harley, M. M.; Kok, R.; Krestovskaja, T.; Morales, R.; Paton, A. J.; Ryding, O.; Upson, T.; The families and genera of vascular plants. *Labiatae* **2004**, 7, 167. [Crossref]
- MOBOT Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Disponível em: <<https://tropicos.org/name/17601496>>. Acesso em: 22 agosto 2024.
- Ruppelt, B. M.; Pereira, E. F. R.; Gonçalves, L. C.; Pereira, N. A.; Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as anti-snake venom-I. Analgesic and anti-inflammatory activities. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **1991**, 86, 203. [Crossref]
- Hashimoto, M. Y.; Ferreira, H. D.; Taxonomic study of *Marsypianthes* Mart. ex Benth. (Hyptidinae, Lamiaceae) in Brazil. *Acta Botanica Brasilica* **2019**, 34, 277. [Crossref]
- Castro, K. N. C.; Carvalho, A. L. O.; Almeida, A. P.; Oliveira, D. B.; Borba, H. R.; Costa, S. S.; Zingali, R. B.; Preliminary *in vitro* studies on the *Marsypianthes chamaedrys* (boia-caá) extracts at fibrinoclotting induced by snake venoms. *Toxicon* **2003**, 41, 929. [Crossref]
- Bieski, I. G. C.; Santos, F. R.; Oliveira, R. M.; Espinosa, M. M.; Macedo, M.; Albuquerque, U. P.; Martins, D. T. O.; Ethnopharmacology of medicinal plants of the Pantanal region (Mato Grosso, Brazil). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2012**, 2012, 272749. [Crossref]
- Oliveira, T. D.; *Trabalho de conclusão de curso*, Universidade Federal de Ouro Preto, 2017. [Link]
- Fernandes, J. M.; *Morfologia de plantas medicinais utilizadas em Alta Floresta. Subsídios ao ensino, pesquisa e extensão em Botânica*, Pantanal Editora: Pantanal, 2022. [Link]
- Heinrich, M.; *Em Advances in Labiatae science*; Harley, R. M.; Reynolds, T., eds.; Royal Botanic Gardens Kew: Kew, 1992, 475-488. [Link]
- Ribeiro, R. V.; Bieskia, I. G. C.; Balogun, S. O.; Martins, D. T. O.; Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion, Mato Grosso, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* **2017**, 205, 69. [Crossref]
- Souza, R. K. D.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Regional do Cariri, 2012. [Link]
- Callejon, D. R.; Feitosa, L. G. P.; Silva, D. B.; Bizaro, A. C.; Guaratini, T.; Lopes, J. N. C.; Pannuti, L. E. R.; Baldin, E. L. L.; Junior, M. G.; Cunha, F. Q.; Ferreira, S. H.; Lopes, N. P.; Chemical composition and acaricidal activity against *Tetranychus urticae* of essential oil from *Marsypianthes chamaedrys* (Vahl.). *Revista Virtual Química* **2016**, 8, 35. [Crossref]
- Matos, F. J. A.; Machado, M. L. L.; Craveiro, A. A.; Alencar, J.; Essential Oil Composition of *Marsypianthes chamaedrys* (Vahl) Kuntze Grown in Northeast Brazil. *Journal of Essential Oil Research* **2001**, 13, 4545. [Crossref]
- Hashimoto, M. Y.; Costa, D. P.; Faria, M. T.; Ferreira, H. D.; Santos, S. C.; Paula, J. R.; Seraphind, J. C.; Ferri, P. H.; Chemotaxonomy of *Marsypianthes* Mart. ex Benth. based on essential oil variability. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2014**, 25, 1504. [Crossref]
- Menezes, F. S.; Borsatto, A. S.; Pereira, N. A.; Matos, F. J. A.; Kaplan, M. A. C.; Chamaedrydiol, an ursane triterpene from *Marsypianthes chamaedrys*. *Phytochemistry* **1998**, 48, 323. [Crossref]
- Menezes, F. S.; Silva, C. S.; Pereira, N. A.; Matos, F. J. A.; Borsatto, A. S.; Kaplan, M. A. C.; Molluscicidal constituents of *Marsypianthes chamaedrys*. *Phytotherapy Research* **1999**, 13, 433. [Crossref]
- Magalhães, A.; Santos, G. B.; Verdam, M. C. S.; Fraport, L.; Malheiro, A.; Lima, E. S.; Santos, M. C.; Inhibition of the inflammatory and coagulant action of *Bothrops atrox* venom by the plant species *Marsypianthes chamaedrys*. *Journal of Ethnopharmacology* **2011**, 134, 82. [Crossref]
- 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* **2001**, 15, 127. [Crossref]
- San-Miguel, A.; Martin-Gil, F. J.; Importancia de las especies reactivas al oxígeno (radicales libres) y los antioxidantes en clínica. *Gaceta Médica de Bilbao* **2009**, 106, 106. [Link]
- Alves, C. Q.; David, J. M.; David, J. P.; Bahia, M. V.; Aguiar, R. M.; Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. *Química Nova* **2010**, 33, 2202. [Crossref]
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). *Resistência antimicrobiana é ameaça global, diz OMS*. Brasília, 2024. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/resistencia-antimicrobiana-e-ameaca-global-diz-oms>>. Acesso em: 02 de outubro 2024.
- Morrison, L.; Zembower, T. R.; Antimicrobial resistance. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics* **2020**, 30, 619. [Crossref]
- Pan American Health Organization (PAHO). Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>>. Acesso em: 26 fevereiro 2025.
- Chrysargyris, A.; Petrovic, J. D.; Tomou, E.; Kyriakou, K.; Xylia, P.; Kotsoni, A.; Gkretsi, V.; Miltiadous, P.; Skaltsa, H.; Sokovi, M. D.; Tzortzakakis, N.; Phytochemical Profiles and Biological

- Activities of Plant Extracts from Aromatic Plants Cultivated in Cyprus. *Biology* **2024**, *13*, 45. [Crossref]
25. Ferri, P. H.; Em *Plantas Medicinais: arte e ciência, um guia de estudos interdisciplinares*; Di Stasi, L. C., eds.; Editora da UEP: São Paulo, 1996.
 26. Costa, A. F.; *Farmacognosia*, Calouste Gulbenkian: Lisboa, 2001.
 27. Cunha, A. P.; *Farmacognosia e fitoquímica*, Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, 2005.
 28. Wagner, H.; Bladt, S.; *Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas*, 2nd ed, Berlin: Springer, 2001.
 29. Brasil. *Farmacopéia Brasileira*, 4ª ed., Parte II. Fasc. 5, Editora Atheneu: São Paulo, 2003.
 30. Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Morais, S. M.; Sampaio, C. G.; Jiménez, J. P.; Calixto, F. D. S.; Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS+. *Comunicado técnico* **2007**, *128*, 1. [Link]
 31. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C.; Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* **1995**, *28*, 25. [Crossref]
 32. Scherer, R.; Godoy, H. T.; Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* **2009**, *112*, 654 [Crossref]
 33. CLSI/ NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. Approved standard, document M07-A8, **2012**. [Link]
 34. CLSI. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved standard-third edition*. CLSI Document M27-A3. *Clinical and Laboratory Standards Institute* **2008**. [Link]
 35. Mozhiyarasi, P.; Anuradha, R.; A study on phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Hyptis suaveolens* (L.) poit. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **2016**, *8*, 438. [Link]
 36. Aboody, M. S. A.; Mickymaray, S.; Anti-fungal efficacy and mechanisms of flavonoids. *Antibiotics* **2020**, *9*, 45. [Crossref]
 37. Djouossi, M. G.; Tamokou, J.; Ngnokam, D.; Kuiate, J.; Tapondjou, L. A.; Harakat, D.; Voutquenne-Nazabadioko, L.; Antimicrobial and antioxidant flavonoids from the leaves of *Oncoba spinosa* Forssk. (Salicaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine* **2015**, *15*. [Crossref]
 38. Mohottia, S.; Rajendrana, S.; Muhammada, T.; Strömstedta, A. A.; Adhikaric, A.; Burmana, R.; Silva, E. D.; Göranssona, U.; Hettiarachchi, C.M.; Gunasekera, S.; Screening for bioactive secondary metabolites in Sri Lankan medicinal plants by microfractionation and targeted isolation of antimicrobial flavonoids from *Derris scandens*. *Journal of Ethnopharmacology* **2020**, *246*, 112158. [Crossref]
 39. Yang, Y.; A, M.; Jina, Y.; Chen, H.; Chemical constituents from the rhizome of *Polygonum paleaceum* and their antifungal activity. *Journal of Asian Natural Products Research* **2016**, *19*, 47. [Crossref]
 40. Chiorcea-Paquim, A; Electrochemistry of Flavonoids: A Comprehensive Review. *International Journal of Molecular Sciences* **2023**, *24*, 15667. [Crossref]
 41. Fernandes, T. F.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Maranhão, 2023. [Link]
 42. Mignoni, M. S. P.M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Maranhão, 2021. [Link]
 43. Vasconcelos, T. L. C.; Santos, W. B.; Santos, R. F. E. P.; Bastos, M. L. A.; Prospecção fitoquímica e avaliação das atividades antibacteriana e antirradicalar do extrato etanólico de *Sambacaitá* (*Hyptis pectinata* L. Poit). *Brazilian Journal of Health Review* **2020**, *3*, 17134. [Crossref]
 44. Ladan, Z.; Amupitan, J. O.; Oyewale, O. A.; Ayo, R. G.; Temple, E.; Ladan, E. O.; Phytochemical screening of the leaf extracts of *Hyptis spicigera* plant. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* **2014**, *8*, 83. [Crossref]
 45. Kaurinovic, B.; Vastag, D; Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants. *Antioxidants* **2019**, *06*, 1. [Crossref]
 46. Heim, K. E.; Tagliaferro, A. R.; Bobilya, D. J.; Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry* **2002**, *13*, 572. [Crossref]
 47. Dias, M. C.; Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules* **2021**, *26*, 5377. [Crossref]
 48. Bors, W.; Michel, C.; Chemistry of the antioxidant effect of polyphenols. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2002**, *957*, 57. [Crossref]
 49. Shahidi, F.; Janitha, P. K.; Wanasundara, P. D.; Phenolic antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr* **1992**, *32*, 67. [Crossref]
 50. Zhao, L.; Zheng, L.; Review on Bioactive Anthraquinone and Derivatives as the Regulators for ROS. *Molecules* **2023**, *28*, 8139. [Crossref]
 51. Nayak, P. S.; Kar, D. M.; Nayak, S. P.; Evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of aerial parts of *Hyptis suaveolens* Poit. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2013**, *7*, 1. [Crossref]
 52. Silva, E. M.; Silva, A. F.; Santos, M. G. M.; Costa, C. S.; Santos, O. C.; Alves, B. O.; Antioxidantes Naturais: uma abordagem sobre a inserção no mercado cosmético. *Natureza Online* **2022**, *20*, 37. [Link]
 53. Rebelo, M. M.; Silva, J. K. R.; Andrade, E. H. A.; Maia, J. G. S.; Antioxidant capacity and biological activity of essential oil and methanol extract of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2009**, *19*, 230. [Crossref]
 54. Alves, D. N.; Ferreira, A. R.; Duarte, A. B. S.; Melo, A. K. V.; Sousa, D. P.; Castro, R. D.; Breakpoints for the classification of anti-*Candida* compounds in antifungal screening. *BioMed Research International* **2021**, *4*, 1. [Crossref]
 55. Amaral, S. M. B.; Almeida, A. P. F.; Silva, F. S.; Silva, Y. Y. V.; Damaceno, M. N.; Panorama dos surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil no período de 2009 a 2019. *RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar* **2021**, *2*, 211935. [Crossref]
 56. Balbani, A. P. S.; Butugan, O.; Contaminação biológica de alimentos. *Pediatria* **2001**, *23*, 320-8. [link]
 57. Nonato, L. M. P.; Sampaio, A. P. A. M.; Contaminação alimentar por *Salmonella* spp: uma revisão de literatura. *Revista CPAQV* **2023**, *15*, 1. [Crossref]

58. World Health Organization (WHO). Disponível em: <<https://www.afro.who.int/pt/news/fao-e-oms-alertam-para-importancia-de-evitar-contaminacao-dos-alimentos>>. Acesso em: 26 fevereiro 2025.
59. Oliveira, A. D. L.; Rodrigue, F. F. G.; Coutinho, H. D. M.; Costa, J. G. M.; Menezes, I. R. A.; Chemical composition, modulatory bacterial resistance and antimicrobial activity of essential oil the *Hyptis martiusii* Benth by direct and gaseous contact. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* **2014**, 9, e13521. [Crossref]
60. Santos, S. N.; Castanha, R. F.; Silva, L. J.; Marques, M. O. M.; Scramin, S.; Melo, I. S.; Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Hyptis leucocephala*. *Atas de Saúde Ambiental-ASA* **2015**, 3, 3. [Link]
61. Kusuma, I. W.; Rahmini; Arung, E. T.; Pramono, A. Y.; Erwin; Supomo; Biological activities and phytochemicals of *Hyptis capitata* grown in East Kalimantan, Indonesia. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* **2020**, 8, 58. [Crossref]
62. Diniz-Lima, I.; Fonseca, L. M.; Silva-Junior, E. B.; Guimarães-de-Oliveira, J. C.; Freire-de-Lima, L.; Nascimento, D. O.; Morrot, A.; Previato, J. O.; Mendonça-Previato, L.; Decote-Ricardo, D.; Freire-de-Lima, C. G.; *Cryptococcus*: history, epidemiology and immune evasion. *Applied Sciences* **2022**, 12, 7086. [Crossref]
63. Bivanco, F. C.; Machado, C. A. S.; Martins, E. L.; Cutaneous cryptococcosis. *Arquivos Médicos do ABC* **2006**, 31, 102. [link]
64. Martins, L. M. S.; Wanke, B.; Lazéra, M. S.; Trilles, L.; Barbosa, G. G.; Macedo, R. C. L.; Cavalcanti, M. A. S.; Eulálio, K. D.; Castro, J. A. F.; Silva, A. S.; Nascimento, F. F.; Gouveia, V. A.; Monte, S. J. H.; Genotypes of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* as agents of endemic cryptococcosis in Teresina, Piauí (northeastern Brazil). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **2011**, 106, 725. [Crossref]
65. Dao, A.; Kim, H. Y.; Garnham, K.; Kidd, S.; Sati, H.; Perfect, J.; Sorrell, T. C.; Harrison, T.; Rickerts, V.; Gigante, V.; Alastruey-Izquierdo, A.; Alffenaar, J.; Morrissey, C. O.; Chen, S. C.; Beardsley, J.; Cryptococcosis—a systematic review to inform the World Health Organization Fungal Priority Pathogens List. *Medical Mycology* **2024**, 62, 1. [Crossref]
66. Iyer, K. R.; Revie, N. M.; Fu, C.; Robbins, N.; Cowen, L. E.; Treatment strategies for cryptococcal infection: challenges, advances and future outlook. *Nature* **2021**, 19, 454. [Crossref]
67. Kalaiarasan, K.; Singh, R.; Chaturvedula, L.; Fungal profile of vulvovaginal candidiasis in a tertiary care hospital. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* **2017**, 11, DC06. [Crossref]
68. Zimmermann, J. B.; Paiva, O. A.; Costa, A. C. S. S.; Sousa, A. M. G. V.; Chagas, A. R.; Lima, A. A. C.; *Validade do diagnóstico clínico de candidíase vulvovaginal*. *Revista Juiz de Fora* **2009**, 35, 11. [Link]
69. Alfouzan, W.; Dhar, R.; Ashkanani, H.; Gupta, M.; Rachel, C.; Khan, Z.U.; Species spectrum and antifungal susceptibility profile of vaginal isolates of *Candida* in Kuwait. *Journal de Mycologie Médicale* **2015**, 25, 23. [Crossref]
70. Al Aboody, M. S.; Mickymaray, S.; Anti-fungal efficacy and mechanisms of flavonoids. *Antibiotics* **2020**, 9, 45. [Crossref]
71. Francis, G.; Kerem, Z.; Makkar, H. P. S.; Becker, K.; The biological action of saponins in animal systems: a review. *British journal of Nutrition* **2002**, 88, 587. [Crossref]
72. Oliveira, C. M. A.; Silva, M. R. S.; Kato, L.; Silva, C. C.; Ferreira, H. D.; Souza, L. K. H. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Hyptis ovalifolia* Benth. (Lamiaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2004**, 9, 756. [Crossref]
73. Moreira, A. C. P.; Lima, E. D. O.; Wanderley, P. A.; Carmo, E. S.; Souza, E. L.; Chemical composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) poit leaves essential oil against *Aspergillus* species. *Brazilian Journal of Microbiology* **2010**, 41, 28. [Crossref]
74. Mbatchou, V. C.; Abdullatif, S.; Glover, R.; Phytochemical screening of solvent extracts from *Hyptis suaveolens* LAM for fungal growth inhibition. *Pakistan Journal of Nutrition* **2010**, 9, 358. [Crossref]