

**ANÁLISE GC-MS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VITRO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Ocotea catharinesis* MEZ (LAURACEAE)**

 <https://doi.org/10.56238/sevened2025.018-046>

Danyelle Gomes de Sousa

Biomédica, Centro Universitário Leão Sampaio (UNILEÃO)

Yasmin Macedo de Sousa

Graduanda em Medicina, Centro Universitário Leão Sampaio (UNILEÃO)

Kelry de Souza Fechine Andrade

Graduanda em Medicina, Centro Universitário Leão Sampaio (UNILEÃO)

Josefa Carolaine Pereira da Silva

Bióloga, Universidade Regional do Cariri (URCA)

Priscilla Augusta de S. Fernandes

Mestre em Diversidade Biológica e Recursos Naturais, Universidade Regional do Cariri (URCA)

Maria Flaviana B. Morais-Braga

Doutora em Etnobiologia e Conservação da Natureza, Universidade Regional do Cariri (URCA)

Wanderlei do Amaral

Doutor em Agronomia, Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Cícero Deschamps

Doutor em Fisiologia Vegetal/Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Camila Confortin

Doutora em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Luiz Everson da Silva

Doutor em Química, Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Henrique Douglas Melo Coutinho

Doutor em Produtos Naturais e Sintético Bioativos, Universidade Regional do Cariri (URCA)

Aracelio Viana Colares

Doutor em Biotecnologia, Centro Universitário Leão Sampaio (UNILEÃO)

RESUMO

O uso de plantas para tratar e prevenir doenças é uma prática ancestral da humanidade. Nos últimos anos, a resistência dos microrganismos a antibióticos tem gerado um interesse crescente na pesquisa de alternativas terapêuticas, incluindo os compostos químicos presentes em óleos essenciais. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito antibacteriano e antifúngico do óleo essencial de *Ocotea catharinesis* (EOOc) e identificar seus principais compostos. A extração do óleo essencial foi feita por hidrodestilação por 4,5 horas, utilizando 50g de folhas secas. Para identificar os componentes químicos, usou-se cromatografia em fase gasosa com espectrometria de massas. Para os testes microbiológicos as cepas

testadas incluíram *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição. O óleo essencial foi testado como modulador da resistência a antibióticos, usando a gentamicina, penicilina e norfloxacina como referências para antibacterianos e fluconazol para fungos, com ou sem a presença do óleo. A análise do óleo revelou dois compostos principais: alfa pineno (13,9%) e limoneno (13,4%). O alfa pineno, um terpenóide, pode ajudar a reduzir o estresse oxidativo, atuando como um antioxidante. O EEOc mostrou resistência contra as bactérias *E. coli* e *P. aeruginosa*, com valores iguais ou superiores a 1024 µg/mL, evidenciando que bactérias gram-negativas são mais resistentes. Com o antibiótico penicilina, o EEOc apresentou resultados semelhantes, também por causa de proteínas receptoras. Testes com Norfloxacin e Gentamicina mostraram valores de 512 µg/mL, sem potencial sinérgico com os antibióticos. Foi observado que contra as cepas de *Candida tropicalis*, o EEOc apresentou efeito modulador com concentração menor do que a droga testada. Os resultados indicam que o óleo essencial da *Ocotea catharinesis* Mez pode ter um efeito antifúngico contra as cepas de *Candida tropicalis*.

Palavras-chave: Óleo essencial. Análise Química. Antimicrobiano.

1 INTRODUÇÃO

O uso de espécies vegetais com o objetivo de prevenção, tratamento ou cura de diversas enfermidades é uma prática que remonta ao início da civilização humana (Elharas; Ouhssine, 2025; Carmignan et al., 2020).

A resistência que os microrganismos vêm demonstrando nas últimas décadas aos produtos farmacêuticos e os estudos de investigação do potencial biológico e químico a partir da presença de compostos químicos em óleo essenciais fazem com que a busca por novas alternativas terapêuticas seja uma importante ferramenta no desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos (Brixner et al., 2022; Hou et al. 2022; Rodrigues et al., 2018).

Grande parte da população mundial utiliza estas plantas como uma fonte alternativa para o tratamento e para cura de diversas enfermidades, visto que elas são mais acessíveis, tanto no requisito financeiro, quanto na praticidade, em relação aos medicamentos obtidos de forma industrial (Domingo-Fernández et al., 2023). Desta forma, a busca por plantas para uso terapêutico vem sendo acentuada e repassada de gerações em gerações (Lima Mota et al., 2023).

Dentre os compostos fornecidos pelas espécies vegetais estão os óleos essenciais, constituídos de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides fomentam propriedade químicas e estruturais a partir da sua volatilidade, dessa forma demonstrando grande potencial para atividades antifúngicas e antibacteriana, (Angane et al., 2022).

Ocotea catharinesis Mez, também conhecida como Canela-preta é uma espécie de árvore lenhosa achada no sul da Mata Atlântica no Brasil, que dispõe uma madeira de excelente qualidade (Dos Santos Alves et al., 2024). Segundo Medeiros (2022), a partir de suas características a mesma se enquadra na família Lauraceae, sendo um grupo que proporciona grandes avanços fitogenético.

A espécie *Ocotea catharinesis* Mez, possui diversos compostos com características antimicrobianas, além de poderem ser utilizados como aromáticos no setor alimentício (Dias et al., 2022). Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito antibacteriano e antifúngico do óleo essencial de *Ocotea catharinesis* (EOOc) bem como identificar seus principais compostos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 COLETA MATERIAL BOTÂNICO

A espécie *Ocotea catharinensis* foi coletada, para extração do óleo essencial, nos Campos Gerais, no Estado do Paraná de acordo com as seguintes coordenadas: S 25° 20.948' e W 049° 47.148'. A exsicata foi transportada e depositada no Herbário das Faculdades Integradas Espírita (HFIE) a qual recebeu o seguinte número: 8,559 (Lawrence, 1951; IBGE, 1992).

2.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação durante 4,5 horas em aparelho graduado tipo Clevenger utilizando-se 50g de folhas secas em 1L de água destilada, com 3 repetições (Wasicky, 1963). Para secar as folhas utilizou-se secador elétrico modelo FANEM - Mod. 320 SE com circulação de ar a 40° C por 24 horas. Após a extração, a amostra foi coletada com pipeta de precisão e acondicionadas em freezer onde permaneceram até o momento da análise.

2.3 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A identificação dos constituintes químicos foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). O óleo essencial foi diluído em diclorometano na proporção de 1 % e 1,0 µL da solução foi injetada, com divisão de fluxo de 1:20 em um cromatógrafo Agilent 6890 (Palo Alto, CA) acoplado a detector seletivo de massas Agilent 5973N. O injetor foi mantido a 250 °C. A separação dos constituintes foi obtida em coluna capilar HP-5MS (5%-fenil-95%-dimetilpolissiloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e utilizando hélio como gás carreador (1,0 mL min⁻¹). A temperatura do forno foi programada de 60 a 240°C a uma taxa de 3°C min⁻¹. O detector de massas foi operado no modo ionização eletrônica (70 eV), a uma taxa de 3,15 varreduras s⁻¹ e faixa de massas de 40 a 450 u. A linha de transferência foi mantida a 260° C, a fonte de íons a 230° C e o analisador (quadrupolo) a 150° C.

Para a quantificação, a amostra diluída foi injetada em cromatógrafo Agilent 7890A equipado com detector de ionização por chama (DIC), operado a 280°C. A composição percentual foi obtida pela integração eletrônica do sinal do DIC pela divisão da área de cada componente pela área total (área %).

A identificação dos constituintes químicos foi obtida por comparação de seus espectros de massas com aqueles das espectrotecas (Wiley, 1994; Nist, 2016) e por seus índices de retenção linear, calculados a partir da injeção de uma série homóloga de hidrocarbonetos (C7-C26) e comparados com dados da literatura (Adams, 2007).

2.4 TESTES MICROBIANOS

2.4.1 Meios de cultura e estirpes

As seguintes linhagens foram utilizadas: cepas padrão *Escherichia coli* ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* INCQS 40006 e *Candida Tropicalis* INCQS 40042. Estas estirpes foram inoculadas em Sabouraud Dextrose Agar (SDA - KASVI), para as estirpes fúngicas, e no Brain Heart Infusão (BHI), para cepas bacterianas, sendo incubada a 37 C por 24 h. A concentração de inóculo foi padronizada de acordo com a McFarland, comparando a turbidez do inóculo com o padrão 0,5 na escala. Os inóculos

preparados foram utilizados nos Testes de Concentração Inibitória (MIC) e no teste realizado para verificar o potencial dos extratos na modulação de antibióticos por contato.

2.4.2 Drogas, reagentes e preparação de soluções

Dimetilsulfóxido (DMSO - Merck, Darmstadt, Alemanha) foi usado para diluir o óleo. Norfloxacin, Gentamicina, Penicilina e Fluconazol (Cápsula - FLUCOMED) foi diluída em água e utilizada como medicamento de referência nos testes. As soluções de matriz de produtos, óleo essencial de *Ocotea catharinesis* mez, foi preparado pesando 0,3 g de cada produto e depois diluí-los em 1 mL de DMSO. Para obter a concentração desejada para os testes, o produto sofreu uma nova diluição em água destilada estéril, de modo que a concentração de DMSO no produto afetou as células testadas.

2.4.3 Determinação da concentração inibitória mínima (MIC)

Este teste foi realizado em placas de 96 poços utilizando a microdiluição do caldo, método de acordo com o documento M7-A10. Resumidamente, diluições seriadas foram realizadas produzindo concentrações de produtos naturais variando de 4 a 512 $\mu\text{g} / \text{mL}$, para as cepas bacterianas, e de 4 $\mu\text{g} / \text{mL}$ para 4096 $\mu\text{g} / \text{mL}$, para as linhagens fúngicas. O último poço foi usado como microrganismo controle de crescimento. Diluições do produto (usando solução salina em vez de inóculo) e controles médios de esterilidade também foram alcançados. Todos os testes bacterianos foram realizados em triplicado e os fungicos em quadruplicado. As placas foram incubadas a 37 ° C, por 24 h. A atividade antibacteriana foi detectada usando um método colorimétrico adição de 25 μL de solução aquosa de resazurina (0,01%) em cada no final do período de incubação. Para a atividade antifúngica, a leitura foi realizada pelo aparelho espectrofotômetro ELISA (Termoplate ®) a 630 nm. A CIM foi definida como a menor concentração dos produtos naturais capazes de inibir o crescimento de microrganismos.

2.4.4 Atividade modulatória por contato direto

O óleo essencial foi testado como modulador para a resistência de antibióticos a partir da obtenção das CIMs, utilizando como referência o aminoglicosídeo gentamicina e o beta-lactâmicos penicilina e norfloxacin contra as cepas bacterianas, e o fluconazol, contra as cepas fúngicas, na presença ou ausência do produto natural usando o teste de microdiluição. Concentrações subinibitórias (MIC / 8, para bactérias, e MIC / 16, para fungos) em 10% de meio de cultura específico foram usadas. De acordo com a metodologia utilizada por Coutinho et al, 2008, os inóculos microbianos foram distribuídos em placas de microdiluição seguidas pela adição de diferentes concentrações antimicrobianas, variando de 4 a 4096 $\mu\text{g} / \text{mL}$ para o fluconazol e 0,5 a 5000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ para os demais. Os testes bacterianos foram realizados em triplicado e os fungicos em quadruplicado, e as placas foram

incubadas em 37°C durante 24 h. As leituras foram realizadas conforme descrito anteriormente, onde com os resultados antifúngicos a curva de viabilidade celular foi obtida.

2.4.5 Análise Estatística

Os ensaios foram expressos como a média geométrica. Os valores de CIM foram obtidos por regressão não linear para a finalidade da interpolação de valores a partir de curvas padrão (usando o software Graphpad Prism, v. 7.0).

3 RESULTADOS E DISCURSÕES

A análise química do óleo demonstrou a presença de dois compostos majoritários, sendo o alfa pineno com 13,9% da composição e o limoneno com 13.4% (Tabela 1). Estudos realizados com o alfa pineno, o apontam como um identificado terpenóide, mostraram a sua capacidade de reduzir fatores responsáveis por causar o estresse oxidativo, resultado da formação de radicais livres, sendo visto como um antioxidante em potencial (Zamyad et al., 2019).

Tabela 1. Identificação dos compostos do óleo essencial de *Ocotea catharinensis* usando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS).

Compounds	Retention time (min)	%
alpha-pinene	937	13.9
sabinene	976	4.2
beta-pinene	980	10.0
mircene	992	3.0
alpha-felandrene	1006	1.1
alpha-terpinene	1019	0.8
p-cimene	1027	1.3
limonene + beta-felandrene	1032	13.4
(Z)-beta-ocimene	1040	2.5
(E)-beta-ocimene	1051	1.5
gamma-terpinene	1062	1.7
terpinen-4-ol	1179	2.7
(E)-caryophyllene	1417	2.9
alpha-humulene	1452	1.2
germacrene D	1479	6.1
viridiflorene + bicyclogermacrene	1493	7.9
cadinene-delta	1522	2.1
spatulenol	1575	1.4
caryophyllene oxide + globulol	1580	2.5
viridiflorol	1588	2.0
khusimona	1598	2.3
alpha-cadinol	1652	2.8
kaurenoic acid	2025	7.8
Total	—	95.1

O limoneno é um composto encontrado em diversos óleos essenciais de frutas cítricas, apresentando baixa toxicidade e potencial farmacológico, porém possui baixa solubilidade em água e alta volatilidade, o que pode comprometer o seu uso terapêutico (Kazyoba & Viljoen, 2008).

O alfa pineno, isoladamente, já apresentou atividade bacteriana frente às cepas gram-positivas, porém não se mostrou eficaz a gram-negativas. É importante ressaltar que há uma busca das indústrias alimentícias por novos antimicrobianos, pois algumas bactérias possuem o poder de produzir enterotoxinas, fator de virulência capaz de causar intoxicação alimentar (Cervantes-García; García-González; Salazar-Schettino, 2014).

Em outro estudo o alfa pineno teve poder inibitório frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, se mostrando um potente antibacteriano (Villeda, 2014), resultado este não observado nos testes com o óleo da essencial *Ocotea catharinesis* Mez, que apresentou concentração igual ou superior a 1024 µg/mL, possivelmente pelo fato do limoneno e o alfa pineno, principais compostos do óleo, se apresentarem antagônicos.

Frente às bactérias *Escherichia coli* e *Pseudomonas*, o EEOc obteve valor igual ou superior a 1024 µg/mL (Tabela 2), indicando que microrganismos gram-negativos são mais resistentes que bactérias gram-positivas, devido aos seus diferentes mecanismos de resistência, podendo-se citar suas enzimas modificadoras e suas proteínas de ligação (Tafur; Torres; Villegas, 2011).

Tabela 2. Efeito modulador do óleo essencial de *Ocotea catharinesis* em combinação com antibióticos aminoglicosídeos, beta-lactâmicos e fluoroquilonas.

Antibióticos	<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	
	Control	+ EEOc	Control	+ EEOc	Control	+EEOC
Gentamicina	256	512	128	512	512	512
Penicilina	512	≥1024	≥1024	≥1024	512	≥1024
Norfloxacin	512	512	512	512	512	512

A modulação com antibióticos frente a bactérias utilizando cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *Pseudomonas*, quando realizado com o antibiótico penicilina, demonstrou que a mesma apresentou valor igual ou superior a 1024 µg/mL, provavelmente devido a algumas bactérias possuírem proteínas receptoras de penicilina. Da mesma forma, quando testadas com os antibióticos Norfloxacin e Gentamicina, o EEOc apresentou valores iguais a 512 µg/mL, onde, foi visto que o óleo não teve potencial sinérgico com os antibióticos (Tabela 2).

A união de produtos naturais com medicamentos alopáticos, geralmente apresenta atividade modulatória (Abreu et al., 2016), entretanto nas últimas décadas as bactérias vêm desenvolvendo diversos mecanismos de defesa como, por exemplo, método de resistência transferível, produção de enzimas inativadoras de drogas, redução ou ausência de canais proteicos responsáveis pelo transporte de possíveis medicamentos, alteração em receptores, entre outros (Del Fio et al., 2000).

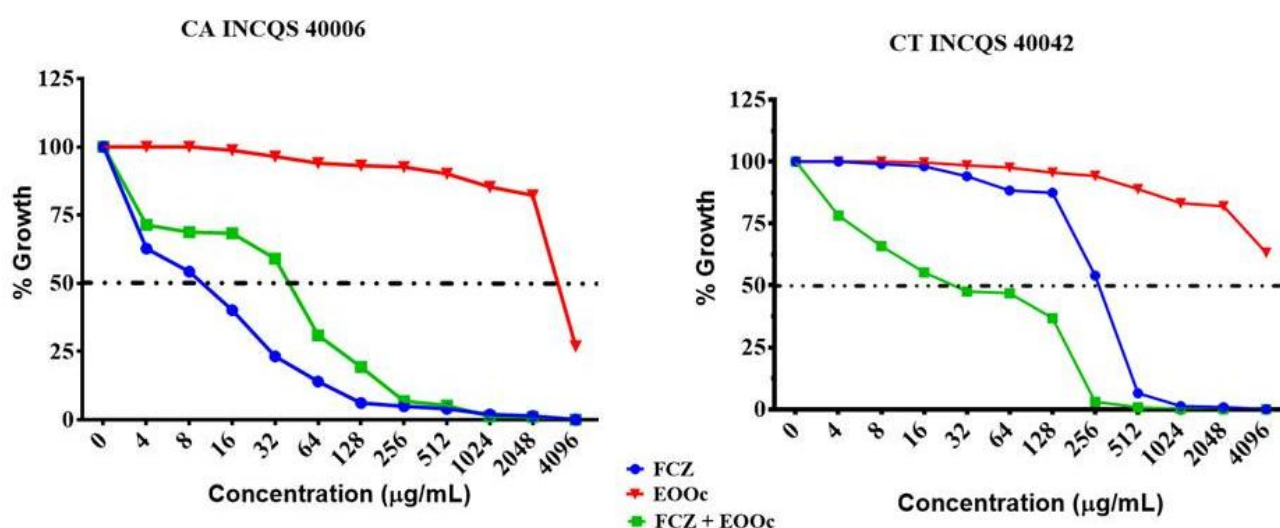
Infecções fúngicas, causadas pelo gênero *Candida* sp, estão cada vez mais presentes, principalmente em pacientes hospitalizados, embora a *Candida albicans* seja a maior responsável pela

maioria das patologias, espécies como *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*, tornaram-se comuns (Fernandes, 2020).

Diversos estudos que mostram resistência das espécies de cândida ao fluconazol, principal antifúngico usado contra infecções causadas por essas cepas. Dessa forma, substâncias de origem natural, principalmente óleos essenciais, estão sendo bastante estudados nos últimos anos em relação a sua atividade antifúngica (Vieira; Santos, 2017).

Quando testado contra cepas fúngicas de *Candida albicans* e *Candida tropicalis* o óleo essencial de *O. catharinensis*, isoladamente, não se mostrou efetivo (Figura 1).

Figura 1. Efeito antifúngico do óleo essencial de *Ocotea Catharinensis* isolado ou em combinação com fluconazol. CA: *Candida albicans*; CT: *Candida tropicalis*; INCQS: National Institute for Quality Control in Health; FCZ: Fluconazole; EEOc: Essential Oil of *O. catharinensis*



O potencial modulador do produto quando associado ao medicamento de uso antimicótico, fluconazol, contra as cepas de *Candida* mostrou-se possuir efeito antagônico. Entretanto, contra as cepas de *Candida tropicalis* foi possível notar atividade moduladora com concentrações menores que a droga testada. Este efeito sinérgico pode ser analisado de acordo com a curva de viabilidade das cepas fúngicas (IC₅₀) (Tabela 3).

Tabela 3: Valores da concentração inibitória de 50% (IC₅₀) do óleo essencial de *Ocotea catharinensis* contra cepas de *Candida albicans* e *Candida tropicalis*.

Produto	IC ₅₀ µg/mL	
	CA INCQS 40006	CT INCQS 40042
Fluconazole (FCZ)	10.65 ± 0.029	284.38 ± 0.022
EEOc	≥ 4096 ± 0.038	≥ 4096 ± 0.011
EEOc + FCZ	44.71 ± 0.018	29.42 ± 0.042*

* IC₅₀ valores com diferença estatisticamente significativa (p < 0,01) quando comparado ao antifúngico comercial fluconazol (FCZ).

Os óleos essenciais são compostos aromáticos obtidos de plantas, dando as eles potenciais complexos, dificultando a associação da atividade antifúngica com o seu possível composto bioativo (Naeem et al., 2018). Estudos mostram que esse tipo de atividade pode estar relacionado à presença do limoneno, composto de baixa toxicidade, com presente potencial antifúngico (Yu et al., 2022). Nesse sentido, a participação de alguns desses metabólitos secundários pode interferir em várias rotas metabólicas ou em diferentes reações enzimáticas, o que explicaria a sua fácil interação com o antibiótico (Júnior & Pastore, 2007). Além disso, podem, também, agir diretamente na membrana plasmática do patógeno, provocando alterações morfológicas e estruturais (Ahmad et al, 2010), atuar em enzimas eletrolíticas causando o extravasamento celular (Darvishi et al, 2013) dentre outros métodos essenciais para a sobrevivência do fungo.

Dessa forma, a antibioticoterapia combinada com agentes naturais pode trazer benefícios, como a redução da toxicidade, efeitos colaterais, dose mínima eficaz e redução dos custos do tratamento, através do seu bloqueio de mecanismos de comunicação celular, formação de biofilmes ou ainda na produção de micotoxinas (Nazzaro et al., 2017).

4 CONCLUSÃO

Os resultados mostram o potencial do óleo essencial da *Ocotea catharinesis* Mez como efeito modulador antifúngico frente as cepas de *Candida tropicalis*, cujo a atividade pode estar relacionada com um de seus compostos majoritários, o limoneno, que mostra ser um potencial antifúngico quando isolado. Tais dados segurem que o óleo essencial possui metabolitos bioativos antimicrobiano.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. C.; PAULET, D.; MALHEIRO, J.; BORGES, A.; SAAVEDRA, M.J.; CHOI, Y.H.; SIMÕES, M. Antibiotic adjuvants from *Buxus sempervirens* to promote effective treatment of drug-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. *RSC Advances*, v. 6, n. 97, p. 95000-95009, 2016. doi: <https://doi.org/10.1039/C6RA21137B>
- ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, 2007.
- AHMAD, A.; KHAN, A.; YOUSUF, S.; KHAN, L.A.; MANZOOR, N. Proton translocating ATPase mediated fungicidal activity of eugenol and thymol. *Fitoterapia*, v. 81, n. 8, 2010. doi: [10.1016/j.fitote.2010.07.020](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.07.020)
- ALVES, G.S.; SIMINSKI, A.; MARCON, A.K.; MARCHIORO, C.A. Present and future distribution of endangered and economically important *Ocotea* species in the Brazilian Atlantic Forest: Implications for conservation and restoration. *Forest Ecology and Management*, v. 563, p. 121987, 2024. doi: [10.1016/j.foreco.2024.121987](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2024.121987).
- MENEZES, T.O.A.; ALVES, A.C.B.A.; VIEIRA, J.M.S.; MENEZES, S.A.F.; ALVES, B.P.; MENDONÇA, L.C.V. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. *Revista de Odontologia da UNESP*, v. 38, n. 3, 2009.
- ANGANE, M.; SWIFT, S.; HUANG, K.; BUTTS, C.A.; QUEK, S.Y. Essential oils and their major components: an updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry. *Foods*, Basel, v. 11, n. 3, p. 464, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods11030464>.
- BOUBAKER, H.; KARIM, H.; HAMDAROU, A.; MSANDA, F.; LEACH, D.; BOMBARDA, I.; VANLLOT, P.; ABBAD, A.; BOUDYACH, E.H.; AOUMAR, A. Chemical characterization and antifungal activities of four *Thymus* species essential oils against postharvest fungal pathogens of citrus. *Industrial Crops and Products*, v. 86, p. 95-101, 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.036>
- BRIXNER, B.; SILVA, C. M.; POLLO, L. D.; RENNER, J. D. P. Atividade antimicrobiana da quitosana associada a óleos essenciais na aplicação biomédica: uma revisão integrativa. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 14, e447111436563, 2022. doi: [10.33448/rsd-v11i14.36563](https://doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36563). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36563>.
- CARMIGNAN, F.; MATIAS, R.; CAROLLO, C.A.; DOURADO, D.M.; FERMIANO, M.H.; SILVA, B.A.K.; BASTOS, P.R.H. Efficacy of application of *Equisetum pyramidale* Goldm. hydrogel for tissue restoration of induced skin lesions in Wistar rats. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 80, n. 1, p. 12–22, 2020. doi: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.184409>
- CARVALHO, Ana Cecília B. et al. Regulação brasileira em plantas medicinais e fitoterápicos. *Revista Fitos*, v. 7, n. 01, 2013.
- CERVANTES-GARCÍA, E.; GARCÍA-GONZÁLEZ, R.; SALAZAR-SCHETTINO, P. M. General characteristics of *Staphylococcus aureus*. *Revista latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio*, v. 61, n. 1, p. 28-40, 2014.

CLSI, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Approved Standard—Tenth Edition, Wayne, PA, 2015.

COUTINHO, H.D.M.; COSTA, J.G.M.; LIMA, E.O.; FALCÃO-SILVA, V.S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine, *Chemotherapy*, v.54, p.328–330, 2008. <https://doi.org/10.1159/000151267>.

DARVISHI, E.; OMIDI, M.; BUSHEHRI, A.A.S.; GOLSHANI, A. The antifungal eugenol perturbs dual aromatic and branched-chain amino acid permeases in the cytoplasmic membrane of yeast. *PLoS One*, v. 8, n. 10, 2013. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076028>

DEL FIO, F.S; FILHO, T R.M.; GROppo, F. C. Resistência bacteriana. *Revista Brasileira de Medicina*, v. 57, n. 10, p. 1129-1140, 2000.

DIAS, A.L.B.; FERNANDES, C.C.; SOUZA, J.H.; MARTINS, C.H.G.; MOREIRA, F.F.; CROTTI, A.E.M.; MIRANDA, M.L.D. Antibacterial activity of essential oils from Brazilian plants and their major constituents against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Journal of Essential Oil Research*, v. 34, n. 3, p. 203–210, 2022. doi: 10.1080/10412905.2022.2032424.

DOMINGO-FERNÁNDEZ, D.; GADIYA, Y.; MUBBEN, S.; BOLLERMAN, T.J.; HEALY, M.D.; CHANANA, S.; SADOVSKY, R.G.; HEALEY, D.; COLLURUN, V. Modern drug discovery using ethnobotany: A large-scale cross-cultural analysis of traditional medicine reveals common therapeutic uses. *iScience*, [S.l.], v. 26, 2023. doi: 10.1016/j.isci.2023.107729

ELHARAS, K.; OUHSSINE, M. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Boujdour Province, Morocco. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, v. 24, p. 16–32, 2025. doi: <https://doi.org/10.37360/blacpma.25.24.1.2>

ESSID, R.; HAMMAMI, M.; GHARBI, D.; KARKOUCH, I.; HAMOUDA, T.B.; ELKAHOUI, S.; LIMAM, F.; TABBENE, O. Antifungal mechanism of the combination of *Cinnamomum verum* and *Pelargonium graveolens* essential oils with fluconazole against pathogenic *Candida* strains. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 101, n. 18, p. 6993-7006, 2017. doi: 10.1007/s00253-017-8442-y

FERNANDES, L.; OLIVEIRA, A.; HENRIQUES, M.; RODRIGUES, M.E.; Honey as a Strategy to Fight *Candida tropicalis* in Mixed-Biofilms with *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics*, v.9, p.1-12, 2020. doi: 10.3390/antibiotics9020043.

HOU, T.; SANA, S.S.; LI, H.; XING, Y.; NANDA, A.; NETALA, V.R.; ZHANG, Z. Essential oils as antibacterial, antifungal and antioxidant agents: A review. *Food Bioscience*, [S. l.], v. 47, p. 101665, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101716>

IBGE, Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Manual técnico da vegetação brasileira. Manuais técnicos em Geociências, número 1, Rio de Janeiro, 1992. 92p.

JÚNIOR, M.R.M & PASTORE, G.M.. Biotransformação de limoneno: uma revisão das principais rotas metabólicas. *Química Nova*, 2007.

KAZYOBA, P. & VILJOEN, A. Limonene - a Review: Biosynthetic, Ecological and Pharmacological Relevance. *Natural Product Communications*, v.3, p.1193-1202, 2008. doi: <https://doi.org/10.1177/1934578X08003007>

LAWRENCE, G.H.M. *Taxonomia das Plantas Vasculares*, volume I, Fundação Galouste Gulbenkian, Lisboa 1951, 296p.

LIMA MOTA, M. R.; LAUER-LEITE, I. D.; NOVAIS, J. S. Intergenerational transmission of traditional ecological knowledge about medicinal plants in a riverine community of the Brazilian Amazon. *Polibotânica*, [S.l.], n. 56, p. 311–329, jul. 2023. doi: 10.18387/polibotanica.56.16.

MEDEIROS, C.I.S.; SOUSA, M.N.A.; FILHO, G.G.A.; FREITAS, F.O.R.; UCHOA, D.P.L.; NOBRE, M.S.C.; BEZERRA, A.L.D.; ROLIM, L.A.D.M.M.; MORAIS, A.M.B.; NOGUEIRA, T.B.S.S.; NOGUEIRA, R.B.S.S.; FILHO, A.A.O.; LIMA, E.O. Antifungal activity of linalool against fluconazole-resistant clinical strains of vulvovaginal *Candida albicans* and its predictive mechanism of action. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 55, e11831, 2022. doi: <https://doi.org/10.1590/1414-431X2022e11831>

MORAIS-BRAGA, M. F.B.; SOUZA, T.M.; SANTOS, K.K.A.; GUEDES, G.M.M.; ANDRADE, J.C.; TINTINO, S.R.; SOBRAL-SOUZA, C.E.; COSTA, J.G.M.; SARAIVA, A.A.F.; COUTINHO, H.D.M. Additive effect of *Lygodium venustum* SW. in association with gentamicin. *Natural product research*, v. 30, n. 16, p. 1851-1853, 2016. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1074227>

NAEEM, A.; ABBAS, T.; ALI, T.M.; HASNAIN, A. Essential oils: brief background and uses. *Annals of Short Reports*, v.1, p.1-6, 2018.

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, v. 10, n. 4, p. 86, 2017. doi: 10.3390/ph10040086

RODRIGUES, F. F. G.; COLARES, A.V.; NONATO, C. F.A.; GALVÃO-RODRIGUES, F. F.; MOTA, M.L.; BRAGA, M. F.B.; COSTA, J.G.M. In vitro antimicrobial activity of the essential oil from *Vanillosmopsis arborea* Barker (Asteraceae) and its major constituent, α -bisabolol. *Microbial Pathogenesis* 125 (2018) 144–149. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.09.024>

SEPAHVAND, A.; EZATPOUR, B.; TARKHAN, F.; BAHMANI, M.; KHONSARI, A.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. Phytotherapy in fungi and fungal disease: A review of effective medicinal plants on important fungal strains and diseases. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, v. 8, p. 4473-95, 2017. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8(11).4473-95

TAFUR, J. D.; TORRES, J. A.; VILLEGAS, M. V. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*, v. 12, n. 3, 2011.

VIEIRA, A. J. H.; SANTOS, J. I. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. *Brazilian Journal of Clinical Analyses*, v. 49, n. 3, p. 235-9, 2017.

VILLEDA, D.E.C. Evaluación de los aceites esenciales (Alfa Pineno y Limonene) contra el crecimiento de *Staphylococcus aureus* productores de enterotoxinas in vitro. 2014. Disponível em: <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/ddbf88d1-f5c9-43cd-a263-e4bcdabb0a555/content>

WASICKY, R. Uma modificação do aparelho de cleverger para extração de óleos essenciais. *Revista Faculdade de farmácia e Bioquímica*, São Paulo, v.1, n. 1, p. 77-81, 1963.

Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edn. Wiley Interscience, New York, 1994.

YU, H.; LIN, Z.X.; XIANG, W.L.; HUANG, M.; TANG, J.; LU, Y.; ZHAO, Q.H.; ZHANG, Q.; RAO, Y.; LIU, L. Antifungal activity and mechanism of d-limonene against foodborne opportunistic pathogen *Candida tropicalis*. *LWT Food Science and Technology*, v.159, p.1-6, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.11314>

ZAMYAD, M.; ABBASNEJAD, M.; ESMAEILI-MAHANI, S.; MOSTAFAVI, A.; SHEIBANI, V. The anticonvulsant effects of *Ducrosia anethifolia* (Boiss) essential oil are produced by its main component alpha-pinene in rats. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, v. 77, p. 106-114, 2019. doi: <https://doi.org/10.1590/0004-282X20180147>