

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DE  
EXTRATOS E FRAÇÕES DE *Baccharis articulata* (Lam.) Pers.**

**EDUARDO DE SOUZA SANTOS**

PORTO ALEGRE, 2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

Eduardo de Souza Santos

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DE  
EXTRATOS E FRAÇÕES DE *Baccharis articulata* (Lam.) Pers.**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Farmácia  
da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul como requisito à  
obtenção do título de grau de  
Farmacêutico.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Luis Konrath

PORTO ALEGRE, 2023

Dedico este trabalho à memória de meu querido pai Flávio Santana dos Santos, que mesmo nas adversidades, compartilhou histórias e sabedorias de vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha mãe, Renilda, que é tudo pra mim, por todo o seu amor, determinação e força de vontade;

Aos meus irmãos, que sempre me deram apoio e estímulo para seguir em frente;

Agradeço a minha namorada, Ingrid, que, com muito amor, sempre esteve ao meu lado me incentivando e dando luz à razão;

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Luis Konrath, pela paciência, orientações e aprendizados durante a graduação;

A mestranda, Daiana Boeff, por toda a disponibilidade e contribuições;

Aos membros da banca examinadora, Profa. Dra. Gabriela Göethel e a Profa. Dra. Simone Cristina Baggio Gnoatto, por terem aceito fazer parte deste momento tão importante da minha formação;

À todos os meus professores, pelos ensinamentos;

Por fim, aos colegas e amigos que trilharam essa jornada ao meu lado.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	5
LISTA DE QUADROS.....	6
LISTA DE ABREVIATURAS.....	7
RESUMO.....	8
ABSTRACT .....	9
<b>1. Introdução</b> .....	10
<b>2. Objetivos</b> .....	13
2.1. Geral.....	13
2.2. Específico.....	13
<b>3. Metodologia</b> .....	14
3.1 Obtenção do material vegetal.....	14
3.2 Preparação dos extratos vegetais.....	14
3.3 Realização de Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	14
3.4 Análise dos Extratos e Frações de <i>B. articulata</i> por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	15
3.5 Análise dos principais componentes presentes na fração Hexano por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS).....	16
3.6 Screening de atividade antimicrobiana e antifúngica.....	16
<b>4. Resultados e Discussão</b> .....	18
4.1 Atividade contra espécies de bactérias Gram-negativas.....	19
4.1.1 <i>Acinetobacter</i> sp.....	19
4.1.2 <i>Escherichia coli</i> .....	20
4.1.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	21
4.2. Atividade contra espécies de bactérias Gram-positivas.....	22
4.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
4.2.2 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	23
4.2.3 <i>Enterococcus faecalis</i> .....	23
4.3. Atividade dos extratos e frações contra Leveduras.....	24
4.3.1 <i>Cryptococcus neoformans</i> .....	24
4.3.2 <i>Cryptococcus gattii</i> .....	25
4.4 Perfil cromatográfico dos extratos e frações de <i>B. articulata</i> .....	25
<b>5. Conclusão</b> .....	30
<b>6. Referências</b> .....	31
<b>7. Apêndice A</b> .....	35

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 – A.....	26
Figura 1 – B.....	26

**LISTA DE QUADROS**

QUADRO 1 – Atividade antimicrobiana de extratos de <i>B. articulata</i> .....	18
QUADRO 2 – Caracterização e quantificação dos constituintes dos extratos e frações de <i>B. articulata</i> por CLAE com exceção da fração Hexano.....	27
QUADRO 3 – Caracterização e quantificação da fração hexano de <i>B. articulata</i> por CG-MS.....	29

**LISTA DE ABREVIATURAS**

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CGA	Ácido Clorogênico
CLSI	Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais
MIC50	Concentração Inibitória de 50%
DNDi	Drugs for Neglected Diseases
EAQ	Extrato Aquoso
ET	Extrato Etanólico
FAE	Fração Acetato de Etila
FD	Fração Diclorometano
FH	Fração Hexano
FM	Fração Metanol
GARDP	Global Antibiotic R&D Partnership
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
MIC	Concentração Inibitória Mínima
NI	Não Identificado
OMS	Organização Mundial da Saúde
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SMGOV	Centro Agrícola Demonstrativo de Porto Alegre



## RESUMO

*Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (*B. articulata*) é uma planta nativa da Região Sul do Brasil e popularmente conhecida como “carqueja”, amplamente utilizada como diurético e tônico para problemas digestivos e sua preparação é feita através da infusão de suas partes aéreas (folhas, flores e caule). O objetivo deste estudo foi obter os extratos e frações de *B. articulata*, assim como explorar a capacidade antimicrobiana e antifúngica. O material vegetal foi obtido do Centro Agrícola Demonstrativo de Porto Alegre sob o número de registro ICN 20426. Posteriormente, foram preparados os extratos vegetais Aquoso (EAQ) e Etanólico (ET), além do preparo das frações Hexano (EH), Diclorometano (ED), Acetato de Etila (EAE) e Metanol (EM). O perfil cromatográfico e a caracterização dos extratos e frações foram realizados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Cromatografia Gasosa (CG). O screening de atividade antibacteriana e antifúngica foi realizado contra 6 espécies bacterianas: *Acinetobacter* sp. ACH13, *Escherichia coli* ACH7, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Klebsiella pneumoniae* ACH10, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 e duas leveduras: *Cryptococcus neoformans* H99 e *Cryptococcus gattii* R265. Quanto aos compostos fenólicos, a classe de produtos naturais mais amplamente distribuída na espécie, apresentam diversas propriedades biológicas, incluindo atividade antifúngica e antimicrobiana. Estes compostos estão presentes em maior proporção nestes extratos e frações, com exceção da fração hexânica, que demonstrou maior quantidade de sesquiterpenos como biciclogermacreno, germacreno-D,  $\beta$ -cariofileno, espatulenol,  $\alpha$ -humuleno e delta-cadineno. Os resultados demonstraram que estes compostos apresentam promissora atividade antimicrobiana e antifúngica alcançando inibição total tanto para a espécie de levedura *Cryptococcus neoformans* como para as espécies de bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

**Palavras chave:** Plantas Medicinais; Carqueja; atividade antimicrobiana; Baccharis; compostos fenólicos.

## ABSTRACT

*Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (*B. articulata*) is a plant native to the South Region of Brazil and popularly known as “carqueja”, widely used as a diuretic and tonic for digestive problems, whose preparations are made through the infusion of its aerial parts (leaves, flowers and stem). The objective of this study was to obtain extracts and fractions of *B. articulata*, as well as to explore its antimicrobial and antifungal capacity. The plant material was obtained from the Centro Agrícola Demonstrativo de Porto Alegre under registration number ICN 20426. Subsequently, plant extracts were prepared (EAQ) and Ethanolic (ET), in addition to the preparation of the fractions Hexane (FH), Dichloromethane (FD), Ethyl Acetate (FAE) and Methanol (FM). The chromatographic profile and characterization of extracts and fractions were performed by Thin Layer Chromatography (CCD), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Gas Chromatography (GC). Screening for antibacterial and antifungal activity was performed against 6 bacterial species: *Acinetobacter* sp. ACH13, *Escherichia coli* ACH7, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Klebsiella pneumoniae* ACH10, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 and two varieties of fungi: *Cryptococcus neoformans* H99 and *Cryptococcus gattii* R265. As for phenolic compounds, a class of natural products more widely distributed in the species, they have several biological properties, including antifungal and antimicrobial activity. These compounds are presented in greater proportion in these extracts and fractions, with the exception of the hexane fraction, which showed a greater amount of sesquiterpenes such as bicyclogermacrene, germacrene-D,  $\beta$ -caryophyllene, spathulenol,  $\alpha$ -humulene and delta-cadinene. The results show that these compounds have promising antimicrobial and antifungal activity, achieving total prevention for both the fungus species *Cryptococcus neoformans* and the bacteria species *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

**Keywords:** Medicinal plants; Carqueja; Antimicrobial activity; phenolic compound.

## 1. Introdução

Aproximadamente 25% das mortes ocorridas no mundo são causadas por infecções, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2021). Devido à dificuldade em se relacionar um microrganismo a determinada doença, o diagnóstico tardio e até mesmo a incerteza diagnóstica levam à utilização de terapias errôneas, o que ocasiona uma terapêutica ineficaz e uma utilização desnecessária de medicamentos (Basso *et al.*, 2016).

Para a OMS, a resistência antimicrobiana é considerada uma das 10 principais ameaças à humanidade dentro do setor de saúde pública global (OMS, 2019). O processo ocorre quando espécies de bactérias, fungos, parasitas ou vírus se modificam e não respondem mais aos tratamentos convencionais, dificultando o tratamento da doença e, desta forma, aumentando o contágio e severidade da infecção (Dadgostar, 2019). Apesar de ser considerado um processo natural resultante do contato dos microrganismos com o ambiente, o desenvolvimento acelerado de resistência está relacionado principalmente ao uso irresponsável no tratamento clínico, assim como em áreas de agricultura e cuidado animal. Exemplos de mau uso de antibióticos incluem a comercialização e uso de antimicrobianos sem um receituário médico, métodos de prescrição e diagnóstico inadequados, que desencadeiam na elevação das taxas de resistência antimicrobiana (Morgan *et al.*, 2011).

Os mecanismos de defesa incluem a alteração/ mudança no local alvo do antibiótico, inativação/ modificação do antibiótico, diminuição da permeabilidade/ efluxo do antibiótico, assim como a disseminação de genes de resistência por meio de transformação, transdução e conjugação (Abushaheen *et al.*, 2020). Embora todos os agentes microbianos possam desenvolver mecanismos de resistência, a preocupação é maior com as bactérias, porque as subpopulações resistentes se replicam rapidamente na presença de antibióticos (Mancuso *et al.*, 2021). Desde a disponibilização de penicilina para o tratamento de infecções bacterianas, causadas principalmente por espécies de *Staphylococcus* e *Streptococcus*, 95% das cepas de *Staphylococcus aureus* são penicilina-resistentes (Gajdács, 2019). Além disso, 70%

das espécies bacterianas patogênicas são resistentes a pelo menos um tipo de antibiótico disponível comercialmente (Uddin *et al.*, 2021).

Apesar da clara necessidade de desenvolvimento de novos antibióticos, há um desinteresse pelas indústrias farmacêuticas no desenvolvimento destes medicamentos, especialmente pelas grandes empresas (Projan, 2003). Entre os motivos, há a baixa compensação financeira. Enquanto o gasto para desenvolver um antibiótico é de cerca de 1,6 bilhões de dólares, as vendas anuais somam 46 milhões de dólares, fazendo com que as indústrias foquem no desenvolvimento de tratamento de doenças mais rentáveis, como o câncer (Plackett, 2020). Como resposta, a OMS, em parceria com a organização “*Drugs for Neglected Diseases* (DNDi)”, do inglês “Iniciativa Medicamentos para Doenças Negligenciadas” estabeleceram a iniciativa “Global Antibiotic R&D Partnership (GARDP)”, “Parceria Global para Pesquisa e Desenvolvimento de Antibióticos” em 2016, entre outros parceiros financiadores sem fins lucrativos, como o CARB-X, para impulsionar a descoberta de novos antibióticos (Silva *et al.*, 2020; OPAS, 2021).

As propriedades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais que as plantas apresentam como produtos de seu metabolismo secundário são conhecidas empiricamente ao longo dos séculos, mas no entanto só foram comprovadas a nível científico há pouco mais de duas décadas (Nascimento *et al.*, 2007). Tais propriedades têm impulsionado vários grupos de pesquisadores a estudarem a atividade biológica de plantas medicinais originárias de diversas partes do mundo, tendo em vista o uso popular das mesmas (Duarte, 2006).

Plantas aromáticas e seus produtos derivados como extratos e óleos essenciais têm demonstrado resultados satisfatórios quanto a inibição de microrganismos patogênicos primários ou oportunistas, assim como na inibição da produção de toxinas microbianas (Ahmad e Beg, 2001).

O gênero *Baccharis* pertence à família Asteraceae e contém mais de 500 espécies distribuídas exclusivamente no continente americano (Verdi *et al.*, 2005). Dentre os diversos gêneros de plantas utilizados pela população, destaca-se o gênero *Baccharis*. As espécies que pertencem a este gênero são conhecidas como carqueja e têm sido estudadas sob o ponto de vista químico e biológico. Os estudos

envolvendo este grupo de plantas está relacionado ao fato da sua grande utilização popular (Taschetto, 2010).

*Baccharis articulata* (Lam.) Pers. é uma planta nativa da região Sul e Sudeste do Brasil mas se distribui também pela Argentina, Uruguai e Paraguai. A *B. articulata* é conhecida como carqueja-miúda ou carqueja-doce e é tradicionalmente utilizada na medicina popular nestes locais como digestivo, diurético, tônico e antipirético (Campos *et al.*, 2016).

Segundo Oliveira (2003), a fração bunatol de *B. articulata* possui o ácido fenólico 4'-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-3',5'-dimetoxibenzil-cafeico, que apresenta capacidade antioxidante semelhante ao Trolox, que é um análogo de tocoferol (vitamina E). Tomazoni e colaboradores (2019) relataram que o óleo essencial desta espécie foi eficaz no controle do crescimento de um fungo (*Alternaria alternata*) fitopatógeno causador de cancro no caule de tomateiros.

A descoberta de novos antibióticos é muito cara e demorada, levando cerca de dez anos para colocar um novo antibiótico no mercado. Portanto, a busca por substâncias antimicrobianas derivadas de produtos naturais, como os fitoquímicos, têm ganhado cada vez mais importância junto com a descoberta de novos compostos químicos sintéticos com propriedades antibióticas (Mandal *et al.*, 2014). Tendo em vista o potencial dos fitoquímicos em fornecer fármacos antimicrobianos eficazes, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos e frações de *B. articulata*.

## 2. Objetivos

### 2.1 Geral

Avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos e frações de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers.

### 2.2 Específico

Obter os extratos Aquoso (EAQ), Etanólico (ET), assim como as frações de polaridade crescente: Hexano (FH), Diclorometano (FD), Acetato de Etila (FAE) e Metanol (FM).

Determinar o perfil cromatográfico para as diferentes frações e extratos por meio de Cromatografia em Camada Delgada (CCD).

Avaliar a capacidade de inibição de crescimento das bactérias *Acinetobacter* sp. ACH13 Gram (-), *Escherichia coli* ACH7 Gram (-), *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 Gram (+), *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 Gram (+), *Klebsiella pneumoniae* ACH10 Gram (-) e *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 Gram (+).

Avaliar a capacidade de inibição de crescimento das leveduras *Cryptococcus neoformans* H99 e *Cryptococcus gattii* R265.

### 3. Metodologia

#### 3.1 Obtenção do material vegetal

A solicitação de autorização de coleta das espécies vegetais foi realizada pelo coordenador do projeto junto ao SisGen (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado) via preenchimento de formulário online. As partes aéreas de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. foram coletadas na SMGOV - Centro Agrícola Demonstrativo de Porto Alegre - RS. A identificação botânica da espécie vegetal foi realizada por um botânico e o exemplar da exsicata está depositado no herbário do Jardim Botânico sob o registro ICN 204261. Após a coleta, a planta foi seca naturalmente sob o abrigo da luz solar e posteriormente triturada e acondicionada para a preparação dos extratos.

#### 3.2. Preparação dos extratos vegetais

A partir das partes aéreas secas de *B. articulata*, foram preparados o extrato etanólico (ET), na proporção 1:10 (p/v) pelo método de maceração estática, e o extrato aquoso (EAQ), na proporção de 0,5 g droga vegetal para 150 mL com 5 minutos de decocção em água destilada. A proporção de droga para solvente empregado foi baseada na metodologia encontrada no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira 2ª Ed (ANVISA, 2021) utilizada para *Baccharis crispa* (syn. *B. trimera*).

A preparação das frações foi realizada em série através de maceração estática também com o material vegetal seco e triturado, na proporção de 1:10 (p/v) com os solventes hexano (EH), seguido de diclorometano (ED), acetato de etila (EAE) e metanol (EM). Cada solvente foi colocado em contato com o material vegetal durante o período de 72h e removido por rotaevaporação a 40°C. Este processo repetiu-se três vezes, totalizando 9 dias de extração por solvente. Os extratos secos obtidos por rota-evaporação (ET, EH, ED, EAE e EM) ou por liofilização (EAQ) foram armazenados em freezer até o momento dos ensaios.

#### 3.3. Realização de Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A análise do perfil cromatográfico dos extratos e frações de *B. articulata* foi realizada através de CCD, utilizando como fase estacionária uma placa de sílica-gel GF<sub>254</sub> (0,250 mm) e como fase móvel tolueno e acetato de etila (7:3, v/v), conforme método obtido da Farmacopeia Brasileira 6ª Ed (ANVISA, 2019) e aplicado para a espécie *B. crispa*. Após a eluição, a placa foi visualizada em UV-VIS nas faixas 254 nm e 365 nm. Por fim, as placas foram reveladas com o reagente anisaldeído-sulfúrico seguido de aquecimento a 110 °C.

Em outra placa de sílica gel, foram utilizados como eluentes acetato de etila, metanol e água (100:13,5:10, v/v/v). A placa foi posteriormente visualizada em luz UV-VIS nas faixas 254 nm e 365 nm e, por fim, reveladas com NP-PEG (difenilboriloxietilamina 1,0% em metanol, seguida de solução de polietilenoglicol 4000 5,0% em etanol), reagente para detecção de flavonóides seguido de leitura em UV-VIS 254 nm (Wagner; Blatt, 2001).

#### 3.4. Análise dos Extratos e Frações de *B. Articulata* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

O método cromatográfico de CLAE acoplada a um detector de arranjo de diodos e espectrômetro de massa (CLAE-DAD-MS/MS) foi utilizado para verificar a presença dos principais compostos presentes nos extratos e frações de *B. articulata*. Dois microlitros (de uma solução a 1 mg/mL preparados com etanol e água 7:3 (v/v) das amostras foram injetadas em um UFLC LC-20AD (Shimadzu) acoplado a um detector de matriz de diodos (DAD) e um espectrômetro de massa microTOF-Q III (BrukerDaltonics®) que forneceu uma fonte de ionização por eletrospray (ESI) e analisados por quadrupolo — tempo de voo (qTOF). A coluna C-18 (Kinetex®, 2,6 µm, 150 × 2,2 mm) foi protegida por uma pré-coluna empacotada com o mesmo material. A fase móvel era uma mistura de água (solvente A) e acetonitrila (solvente B), ambos contendo 1% de ácido acético (v/v) com um perfil de eluição gradiente de 0–2 min, 3% de B; 2–25 min, 3–25% de B; e 25–40 min, 25–80% de B. A eluição foi seguida por lavagem da coluna e condicionamento (8 min). A taxa de fluxo foi de 0,3 mL/min, e a coluna foi mantida a 50 °C. A análise foi monitorada em comprimentos de onda de 240-800 nm, e o espectrofotômetro de massa operado no modo de ionização negativa e positiva (m/z 120–1200).



A identificação dos compostos foi realizada com espectros ultravioleta (UV), precisos padrões de fragmentação de massa e ESI em comparação com os publicados anteriormente na literatura. Os compostos foram comparados com o padrão descrito para o gênero *B. articulata*. ou foram identificados por comparação com o padrão autêntico (ácido quínico (77-95-2), cafeína, quercetina (1241-87-8), rutina (153-18-4), 3,4-dicafeoilquínico ácido (57378-72-0), ácido 3,5-dicafeoilquínico (89919-62-0) e ácido 4,5-dicafeoilquínico (89886-31-7). Todos os reagentes foram obtidos da Sigma Aldrich®.

### 3.5. Análise dos principais componentes presentes na fração Hexano por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS)

As análises de GC-MS foram realizadas usando um modelo Shimadzu GC-MS-QP 2010 aparelho Plus. O cromatógrafo foi equipado com uma coluna ZB-5MS Phenomenex Zebron (30 m × 0,25 mm, 0,25 mm). As amostras foram injetadas em uma proporção de divisão de 1:30, e as condições de análise foram as seguintes: a amostra em concentração a 1:100 (µL) em éter etílico, volume de injeção de 1,0 µL, temperatura do injetor 240 °C. A temperatura do forno foi programada para 40 °C/ 4 min, seguido de aumentar com uma taxa de 4 °C/min até 240 °C, depois 10 °C/min até 280 °C e temperatura de 280 °C/ 2 min; corrida cromatográfica de 80 min.

Os índices de retenção para todos os compostos foram determinados pela injeção de um solução padrão contendo a série homóloga de n-alcanos (C8-C18). O cálculo da porcentagem da área do pico foi realizado usando as soluções de laboratório GC-MS software (Shimadzu). Constituintes individuais foram identificados pela comparação de seus espectros de massa (MS) e Tempos de Retenção (RT) com aqueles relatados na literatura e também no banco de dados espectrais de massa do equipamento.

### 3.6. *Screening* de atividade antimicrobiana e antifúngica

Os extratos de *B. articulata* foram avaliados quanto à atividade antibacteriana contra seis espécies bacterianas: *Acinetobacter* sp. ACH13, *Escherichia coli* ACH7, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Klebsiella pneumoniae* ACH10 e *Enterococcus*

*faecalis* ATCC 19433, seguindo norma previamente descrita (CLSI, M07-A9). Os extratos foram também avaliados quanto à atividade antifúngica contra *Cryptococcus neoformans* H99 e *Cryptococcus gattii* R265, seguindo norma previamente estabelecida (CLSI, M27-A2). Para o *screening*, os extratos secos foram ressuspensos em 100% DMSO e testados a uma concentração final de 2,5 mg/mL em placas de 96 poços. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24h para bactérias e 48h para leveduras. Após este período, a leitura da absorbância a 600nm foi realizada em espectrofotômetro (Spectramax M4, Molecular Devices). A porcentagem de inibição foi calculada em relação ao controle positivo (sem extratos). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

#### 4. Resultados e Discussão

A atividade antibacteriana e antifúngica de *B. articulata* foram avaliadas por métodos padronizados desenvolvidos pelo Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI). Os testes se basearam na viabilidade proliferativa dos microrganismos na presença dos extratos e frações da planta, comparado com o controle negativo. Como pode ser observado no Quadro 1, as preparações de *B. articulata* foram ativas contra as diferentes espécies patogênicas de bactérias e as espécies de *Cryptococcus* utilizadas neste estudo.

Serão discutidos os resultados cujos extratos inibiram pelo menos 80% do crescimento do microrganismo.

Quadro 1. Atividade antimicrobiana de extratos de *B. articulata*. Os resultados expressam a porcentagem (%) de inibição de crescimento em relação ao controle (100% crescimento). Os solventes estão expostos por ordem decrescente de polaridade em concentração de 2,5 mg/mL.

	Extratos e Frações					
	EAQ	FM	ET	FAE	FD	FH
<b>Bactérias</b>						
<i>Acinetobacter sp.</i> <i>ACH13</i>	56,61	36,67	14,53	61,13	41,4	39,55
<i>Escherichia coli</i> <i>ACH7</i>	<b>100,07</b>	92,94	7,42	14,25	61,57	<b>112,63</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	61,47	87,24	30,33	-2,56	40,96	<b>100,62</b>
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	88,18	54,35	21,86	42,77	69,50	49,42
<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>ACH10</i>	22,75	35,1	-1,68	-4,75	20,83	59,72

<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	88,34	63,85	-63,51	-6,25	28,38	29,05
<b>Leveduras</b>						
<i>Cryptococcus neoformans</i> H99	11,96	24,25	-118,27	28,07	<b>105,48</b>	75,41
<i>Cryptococcus gattii</i> R265	72,83	53,21	7,54	69,16	17,38	75

#### 4.1. Atividade contra espécies de bactérias gram-negativas

Bactérias gram-negativas representam um importante problema de saúde pública pela resistência a antibióticos (Oliveira e Reygaert, 2022). As bactérias gram-negativas, possuem uma fina camada de peptidoglicano no espaço periplasmático e uma membrana externa denominada de bicamada lipídica que contém lipopolissacarídeos (LPS), lipoproteínas e porinas. A presença desta camada externa faz com que este grupo de bactérias possua resistência a antibióticos que atuam na parede celular, como as penicilinas e cefalosporinas (Silhavy; Kahne; Walker, 2010).

As espécies *Acinetobacter* sp., *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* são as bactérias gram-negativas que fizeram parte deste estudo. As preparações de diferentes polaridades de *B. articulata* obtiveram resultados promissores como antibacterianos.

##### 4.1.1. *Acinetobacter* sp.

O gênero *Acinetobacter* sp. compreende até 31 espécies, dentre elas *A. baumannii*, que possui capacidade de se manter viável por longos períodos em superfícies secas e representa 80% das doenças infecciosas deste gênero, sendo a espécie de maior importância clínica. Este gênero possui elevada versatilidade nutricional e metabólica, podendo adaptar-se facilmente a diferentes ambientes (Dijkshoorn; Nemec; Seifert, 2007).

A fração de acetato de etila foi a preparação que obteve a maior atividade inibitória na concentração de 2,5 mg/mL (61,13%). Estudos prévios demonstraram

que flavonas, taninos e compostos fenólicos estão associados com atividade contra o gênero *Acinetobacter* (Miyasaki et al., 2013). Conforme a caracterização química realizada (Quadro 2), a fração é composta de quase 20% de derivados de flavona e 57% de ácido clorogênico (ácido cafeoilquínico) e seus derivados (ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico), que são classificados como compostos fenólicos (Konczak et al., 2004). Embora o ácido clorogênico não tenha sido avaliado quanto à atividade contra *Acinetobacter spp.*, há evidências de que o composto tenha atividade antibacteriana contra *Escherichia coli* (Kabir et al., 2014), *Yersinia enterocolitica* (Chen et al., 2022), *Salmonella enteritidis* (Sun et al., 2020), *Shigella dysenteria*, *S. pneumoniae* (Lou et al., 2011) e *Streptococcus pyogenes* (Le et al., 2022). Dentre os mecanismos de ação, o ácido clorogênico afeta o metabolismo de lipídeos e diminui a quantidade intracelular de espécies reativas de oxigênio em *S. pyogenes* (Le et al., 2022), provocando alterações de membrana em *Shigella dysenteria*, *S. pneumoniae* e *Salmonella enteritidis* (Lou et al., 2011; Sun et al., 2020).

#### 4.1.2 *Escherichia coli*

A *E. coli*, um membro da família bacteriana das Enterobacteriaceae, é intrinsecamente resistente a níveis terapêuticos de penicilina G, o primeiro  $\beta$ -lactâmico introduzido na prática clínica, devido à sua barreira de membrana externa comum nas bactérias gram-negativas (Johnson et al., 2012). Esta espécie faz parte da flora normal no intestino de humanos e outros animais. Na verdade, a maioria das *E. coli* são consideradas inofensivas para os seres humanos, no entanto, certas cepas patogênicas podem infectar a área do intestino e causar doenças graves (Croxen & Finlay, 2010).

A proliferação de *E. coli* foi totalmente inibida pelo extrato aquoso e pela fração hexânica *B. articulata*. Este resultado ilustra que compostos extraídos por solventes de diferentes polaridades possuem efeito sobre *E. coli* e destaca a carqueja-doce como uma potencial fonte de antibióticos. De fato, diversos compostos polares e apolares tiveram sua atividade antibiótica avaliada. O ácido clorogênico, por exemplo, que compõe 10,5% do extrato aquoso, apresentou concentração inibitória de 50% (MIC50) 80  $\mu\text{g/mL}$  para *E. coli* (Lou et al., 2011). Outros compostos como o canferol, quercetina e a crisina, pertencentes à classe de

flavonoides, obtiveram o MIC<sub>50</sub> determinado (25.00 µg/mL; 35.76 µg/mL e 36.72 µg/mL, respectivamente) (Wu *et al.*, 2013). A fração metanólica teve resultados similares ao extrato aquoso, com 92,94% de inibição (Quadro 1). Considerando a semelhança da composição química entre as duas preparações (Quadro 2), pode-se dizer que o ácido clorogênico e os derivados de flavona são responsáveis, pelo menos parcialmente, pelo efeito antibiótico contra *E. coli*.

Por outro lado, a inibição de *E. coli* causada pela fração hexânica pode estar relacionada ao beta-cariofileno. Um estudo *in vivo* desenvolvido por Dickson e colaboradores (2023), em modelo de infecção de trato urinário em camundongos fêmeas da linhagem BALB/c demonstrou que, não somente o beta-cariofileno (100 mg/kg) diminuiu a carga bacteriana na urina e na bexiga dos animais, quando administrado intraperitonealmente, como também apresentou atividade nociceptiva nas primeiras 24 horas após inoculação do microrganismo. A atividade antibacteriana foi similar ao antibiótico de primeira linha para infecções do trato urinário, fosfomicina. No entanto, outro estudo, comparando o efeito de óleo essencial de *Murraya paniculata*, rico em beta-cariofileno, e do composto isolado, definiu o MIC de 0,5 mg/mL e 1,0 mg/mL, respectivamente, demonstrando a importância do efeito sinérgico entre o composto majoritário e os outros componentes do óleo essencial (Selestino Neta *et al.*, 2017).

Os sesquiterpenos germacreno-D e biciclogermanocreno, apesar de não terem sido avaliados isoladamente contra *E. coli*, estão presentes em diversos óleos essenciais que apresentam atividade antibiótica, podendo também serem responsáveis pela inibição causada pela fração hexânica. Óleos essenciais de *Lippia brasiliensis* (MIC = 0,5 % v/v), *Aloysia virgata* (MIC = 0,125 % v/v) (Montanari *et al.*, 2011) e *Lantana camara* (MIC = 512 µg/ml) (Sousa *et al.*, 2010), por exemplo, apresentaram estes compostos como majoritários em sua composição.

#### 4.1.3 *Klebsiella pneumoniae*

Bactérias pertencentes ao gênero *Klebsiella* frequentemente causam infecções nosocomiais humanas. Em particular, a espécie clinicamente mais importante, *Klebsiella pneumoniae*, é responsável por uma proporção significativa de infecções do trato urinário adquiridas em hospitais, pneumonia, septicemias e

infecções de tecidos moles. Os principais reservatórios patogênicos para a transmissão da *Klebsiella* são o trato gastrointestinal e as mãos das equipes hospitalares (Podschun; Ullmann, 1998).

No caso da bactéria *K. pneumoniae*, somente a fração hexano ocasionou a inibição de seu crescimento em 59,72% dentre todos os extratos e as outras frações (Quadro 1), provavelmente devido à intensa característica apolar de seus constituintes, conforme pode ser observado na análise por CCD (Figuras 1 e 2) e (Quadro 3).

#### 4.2. Atividade contra espécies de bactérias gram-positivas

As bactérias gram-positivas não possuem membrana externa como as gram-negativas, mas essas bactérias produzem um peptidoglicano espesso, que é considerado invariável (Bentley *et al.*, 2006). Em função disto, bactérias gram-positivas se tornam mais suscetíveis aos antibióticos que atuam na parede celular como as penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos.

##### 4.2.1. *Staphylococcus aureus*

A bactéria *S. aureus* é um patógeno clinicamente importante que causa uma ampla gama de infecções humanas, desde pequenas infecções cutâneas até infecções graves de tecidos e sepse. Esta bactéria possui um alto nível de resistência a antibióticos e é uma causa comum de infecções em hospitais e na comunidade. Esta bactéria é encontrada na microbiota normal da pele de animais e humanos (Ahmad *et al.*, 2021).

A capacidade da *S. aureus* de produzir enzimas neutralizadoras de antibióticos exacerbou os problemas associados à terapia antimicrobiana, resultando em inúmeras resistências às drogas normalmente utilizadas neste tratamento (Egorov; Ulyashova; Rubtsova, 2018).

A fração metanólica e a hexânica apresentaram atividade inibitória de 87,24% e 100,62%, respectivamente para esta bactéria (Quadro 1). Em relação às demais preparações, a principal diferença da fração metanólica é a baixa proporção de derivados de ácido cumárico, que pode estar relacionada com maior

resistência da *S. aureus* em relação aos outros compostos (Quadro 2). Já a fração hexânica apresenta sesquiterpenos, cuja atividade inibitória pode estar associada a estes compostos (Quadro 3).

#### 4.2.2. *Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* é um patógeno oportunista de origem alimentar responsável pela listeriose, uma infecção que pode se manifestar em humanos como bacteremia ou até mesmo como meningoencefalite em pacientes imunocomprometidos e idosos (Disson; Moura; Lecuit, 2021).

Patógenos gram-positivos, como *Listeria monocytogenes*, apresentam notável flexibilidade que permite a exploração de diversos ambientes, desde o solo até o espaço intra-citosólico celular. Embora o hospedeiro humano represente uma fonte potencialmente rica para aquisição de nutrientes, a competição por nutrientes com o hospedeiro e as suas defesas imunológicas pode restringir o metabolismo bacteriano (Sauer; Herskovits; O'riodan, 2019).

Tanto o extrato aquoso quanto a fração metanólica demonstraram atividade inibitória para esta bactéria, nos valores de 88,18% e 54,35%, respectivamente (Quadro 1). A principal semelhança química encontrada nestas preparações é a de serem as únicas com a presença do flavonoide isoschaftoside, além de maiores proporções do ácido cafeoilquínico, o que pode sugerir uma sensibilidade da *L. monocytogenes* a estes compostos fenólicos (Quadro 2).

A fração Diclorometano demonstrou inibição de 69,50% e, possivelmente, esta atividade esteja relacionada com a presença dos derivados de ácido cumárico e dos compostos não identificados (NI) apresentando 40,3% e 51,2%, respectivamente (Quadro 2).

#### 4.2.3. *Enterococcus faecalis*

Os *Enterococos* são comumente encontrados no ambiente e causam infecções graves, apesar da falta de fatores de virulência estarem bem definidos. *E. faecalis* é uma bactéria anaeróbia facultativa gram-positiva envolvida em muitas infecções fatais ou refratárias nos humanos (Cui *et al.*, 2020).



A fração aquosa demonstrou 88,34% de inibição contra esta bactéria (Quadro 1), efeito possivelmente relacionado com a presença dos isômeros do ácido clorogênico (ácidos di- e cafeoilquínico) (Quadro 2). Estudos *in vitro* e *in vivo* descobriram que os principais efeitos farmacológicos do ácido clorogênico são antioxidantes, antiinflamatórios, antibacterianos, antivirais, hipoglicêmicos (Miao; Xiang, 2020).

No caso do extrato etanólico, foi observado um aumento da proliferação bacteriana. Este extrato é rico em derivados do ácido quínico que, ao invés de inibir o crescimento bacteriano, pode ter servido como fonte de carbono para o seu crescimento (Quadro 2).

#### 4.3. Atividade dos extratos e frações contra leveduras

O gênero *Cryptococcus* compreende 37 espécies de fungos, das quais apenas duas são relevantes para a maioria das infecções clínicas em humanos. *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* são os dois agentes etiológicos da criptococose. Eles pertencem ao filo Basidiomycota e podem ser facilmente distinguidos de outras leveduras patogênicas, como *Candida*, pela presença de uma cápsula polissacarídica, formação de melanina e atividade de urease. O risco mais comum para criptococose causada por *C. neoformans* é a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), enquanto infecções causadas por *C. gattii* são mais frequentemente relatadas em pacientes imunocompetentes com risco indefinido do que em imunocomprometidos (Kwon-Chung *et al.*, 2014).

##### 4.3.1. *Cryptococcus neoformans*

*C. neoformans* é um fungo letal disfarçado em uma capa polissacarídica capaz de se adaptar de forma rápida e eficaz a condições variadas, favorecendo sua sobrevivência no ambiente e no hospedeiro infectado. Ele costuma permanecer dormente no hospedeiro antes da reativação, causando criptococose sistêmica em humanos e outros mamíferos imunocomprometidos (Bahn *et al.*, 2020).

A proliferação de *C. neoformans* foi totalmente inibida pela fração diclorometano (Quadro 1). Dentre os extratos e frações analisadas por CLAE, esta fração foi a única que não apresentou isômeros do ácido clorogênico de forma

significativa, em sua composição, assim como foi a que mais demonstrou quantidade de derivados do ácido cumárico (40,3%) (Quadro 2), sugerindo uma maior sensibilidade do *C. neoformans* com esta classe de compostos em relação aos outros constituintes observados nos demais extratos. Em contrapartida, o extrato etanólico mais uma vez induziu a proliferação do microrganismo que, possivelmente pela alta proporção dos derivados do ácido quínico, serviu como substrato ou apresentaram atividade antioxidante favorável ao fungo.

#### 4.3.2. *Cryptococcus gattii*

*C. gattii* é um patógeno fúngico de humanos e outros animais que pode ser encontrado tanto como uma infecção oportunista quanto como um patógeno primário (Hagen *et al.* 2012 ).

Acredita-se que a criptococose comece com a inalação de propágulos infecciosos transportados pelo ar, como esporos ou células de levedura secas, permitindo que o patógeno se instale nos pulmões, onde pode sobreviver e proliferar dentro dos macrófagos alveolares (Phillips *et al.* 2015 ).

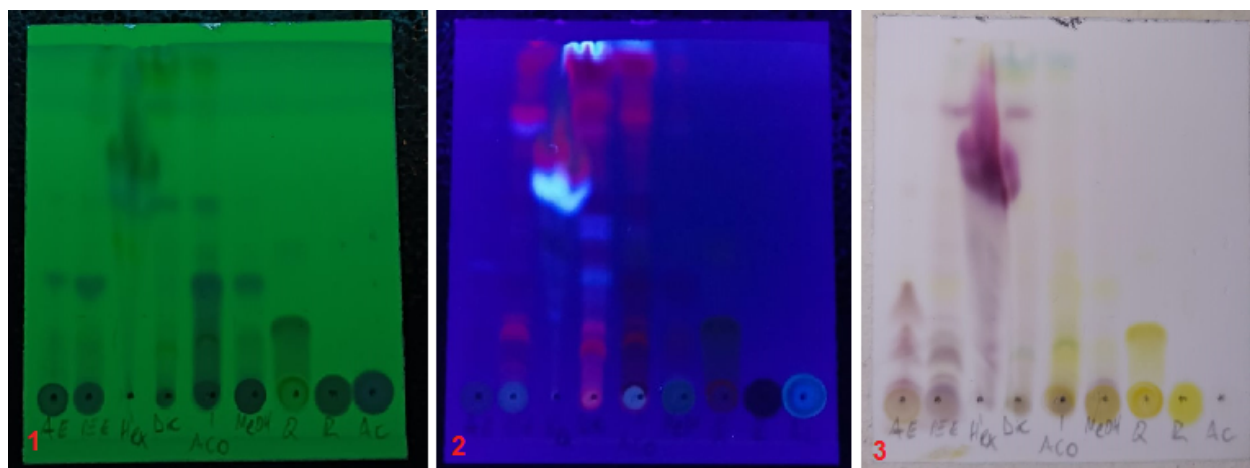
O extrato aquoso e as frações de acetato de etila e hexano apresentaram atividade inibitória muito similares quanto à proliferação desta levedura: 72,83%, 69,16% e 75%, respectivamente (Quadro 1), mesmo apesar da diferença na proporção dos constituintes em cada preparação (Quadro 2), sendo necessária a avaliação da atividade sinérgica de inibição que estas preparações alcançaram para elucidar este comportamento.

Um estudo avaliando o sinergismo entre frações de *Baccharis glutinosa* e *Jacquinia macrocarpa* sobre o desenvolvimento dos fungos filamentosos *Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides* indicou que as misturas sinérgicas afetaram fortemente o crescimento fúngico, mesmo em concentrações mais baixas, quando comparadas com as frações individuais dessas plantas (Medina-López *et al.*, 2016).

#### 4.4. Perfil cromatográfico dos extratos e frações de *B. articulata*

Em ambos os sistemas, a ordem de aplicação iniciou pelos extratos EAQ e ET, e depois pelas frações por ordem crescente de polaridade FH, FD, FAE e FM, seguido dos padrões quercetina (Q), rutina (R) e ácido clorogênico (Ac.).

A



B

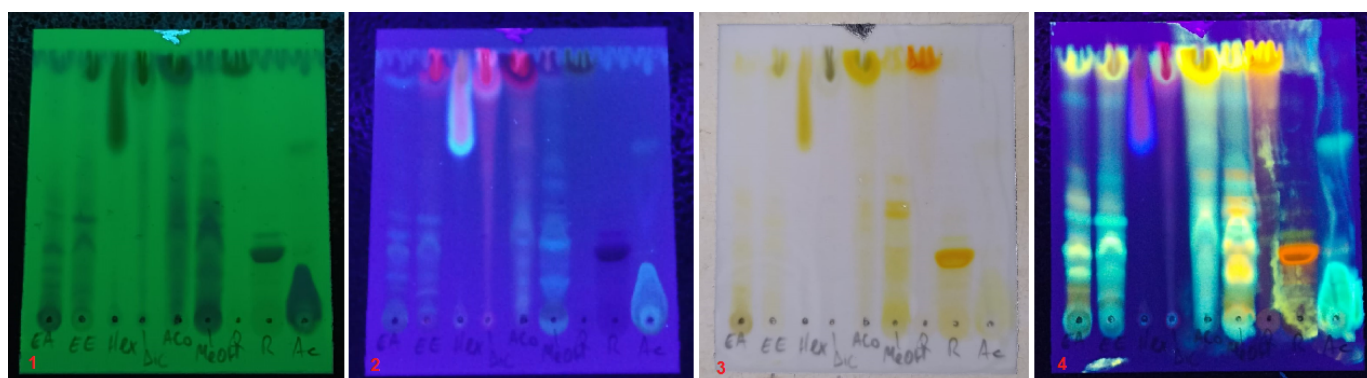


Figura 1. Fotodocumentação do desenvolvimento de método em CCD para a identificação da composição química de extratos e frações de *Baccharis articulata*. A: sistema tolueno: acetato de etila (7:3, v/v) e B: acetato de etila: metanol: água (100:13,5:10, v/v/v). Legendas: 1: UV 254 nm, 2: UV 365 nm, 3: revelação com anisalaldeído sulfúrico seguido de aquecimento, 4: revelação com NP-PEG400.

Quadro 2. Caracterização e quantificação dos constituintes dos extratos e frações de *B. articulata* por CLAE (exceção da fração Hexano).

RT [min]	EAQ	FM	ET	FAE	FD	IDENTIFICAÇÃO
20.0	8,1	10,1	2,4	0,3	---	3,4-Dicaffeoylquinic Acid
20.6	29	32,3	30,5	5,5	---	3,5-Dicaffeoylquinic Acid
22.2	4,8	6	---	0,1	---	4,5-Dicaffeoylquinic Acid
10.8	10,5	8,6	---	0,2	---	Caffeoylquinic Acid
35.0	4,1	---	6,8	12	40,3	Coumaric Acid Derivative
34.6	2,2	1	2,6	6,4	---	Coumaric Acid Derivative
34.3	---	---	---	0,2	2,6	Coumaric Acid Derivative
33.7	---	---	---	0,4	---	Coumaric Acid Derivative
13.5	---	---	---	0,7	---	Coumaric Acid Derivative
33.4	---	---	---	0,9	---	Coumaric Acid Derivative
33.1	---	---	---	0,7	---	Coumaric Acid Derivative
30.0	7,7	4	22,9	59,5	4,7	Flavone Derivative
29.2	13,5	15,5	3,8	---	---	Flavone Derivative
14.8	---	0,3	---	0,9	---	Flavone Derivative
29.2	---	---	---	1,6	---	Flavonol Derivative
27.5	---	---	---	3,3	---	Flavonol Derivative
16.6	9,7	11,8	---	---	---	Isoschaftoside
25.5	---	---	---	1,6	---	NI
35.3	---	---	0,8	0,9	---	NI
32.2	3,8	---	5,9	0,4	51,2	NI
28.3	---	0,3	---	---	---	Quinic Acid Derivative
26.6	---	1	---	---	---	Quinic Acid Derivative
25.5	4,9	6	22,2	2,9	---	Quinic Acid Derivative
17.1	---	---	---	1,2	---	Quinic Acid Derivative
15.2	---	2,7	1,9	---	---	Quinic Acid Derivative
<b>% TOTAL</b>	<b>98,2</b>	<b>99,5</b>	<b>99,7</b>	<b>99,8</b>	<b>98,8</b>	<b>---</b>

A partir desta análise, observou-se que o extrato aquoso demonstrou semelhança nos constituintes com a fração metanol, possivelmente pela similar polaridade, apresentando maiores quantidades de ácido 3,5-dicafeoilquínico (3, 5-DCQA) seguido de derivados de flavonas. O ácido clorogênico (CGA) é o isômero mais abundante entre os isômeros do ácido cafeoilquínico e o 3, 5-DCQA sendo biologicamente ativos e desempenhando importantes papéis terapêuticos como atividade antioxidante e antimicrobiana (Naveed *et al.*, 2018). Segundo Ramos e colaboradores (2016), substâncias isoladas de espécies de *Baccharis* spp., como os derivados do ácido *p*-cumárico, cumarinas e flavonas, demonstraram alguma atividade biológica contra bactérias, fungos, protozoários e vírus. O 3,5-DCQA e seus isômeros são polifenóis biologicamente ativos e, quando administrados de forma purificada *in vitro* (Raineri *et al.*, 2021).

O extrato etanólico possui majoritariamente ácido 3,5-dicafeoilquínico seguido de derivados de flavona e ácido quínico. Ensaio antibacteriano indicaram que o ácido quínico isolado potencializou a atividade de vários antibióticos contra *S. aureus* e *E. Coli* em uma concentração de 500 µg/disco representando um aumento de 26% com ampicilina e 36% com vancomicina na área de superfície da zona de inibição (Gohari *et al.*, 2010).

A fração diclorometano apresentou majoritariamente derivados do ácido cumárico e um composto ainda não identificado (NI). Os análogos do ácido cumárico foram identificados como inibidores do crescimento fúngico através da atividade inibitória da biossíntese de melanina em *C. neoformans*. A partir disto, o uso combinado de inibidores de melanina e Anfotericina B pode aumentar a eficácia e diminuir as doses terapêuticas desse fungicida tóxico amplamente utilizado na clínica (Oliveira *et al.*, 2020). Apresentou inibição para *C. neoformans*.

A fração acetato de etila demonstrou predominância de derivados de flavona com 59,5%. Segundo Naik e colaboradores (2017), verificou-se que alguns dos derivados de 3- hidroxil-flavonas e derivados de 3-metil-flavona provocam potente atividade antimicrobiana. O estudo revelou que os derivados de 3-hidroxil-flavona foram mais ativos contra bactérias gram negativas, enquanto os derivados de 3-metil-flavona foram ativos contra bactérias gram positivas.

Quadro 3. Caracterização e quantificação da fração hexano de *B. articulata* por CG-MS.

	RT	IDENTIFICAÇÃO	%TOTAL
1	25,3	$\beta$ - cariofileno	16,1
2	26,7	$\alpha$ -humuleno	8,4
3	27, 9	germacreno-D	28
4	28,7	biciclogermacreno	33,1
5	29,7	delta-cadineno	3,2
6	32	espatulenol	11,2

A análise GC-MS identificou seis compostos sesquiterpênicos (Quadro 3) quando comparado ao perfil cromatográfico observado com o banco de dados espectrais de massa do equipamento.

De modo geral, as análises fitoquímicas dos artigos avaliados corroboram com os resultados apresentados, confirmando que os extratos e frações de *B. articulata* demonstram maior proporção de compostos fenólicos do que outros constituintes químicos, com exceção da fração hexano que, de acordo com análise de cromatografia gasosa apresenta maior quantidade de sesquiterpenos.

## 5. Conclusão

Com base nos resultados deste trabalho, observou-se que os extratos e frações de *B. articulata* possuem capacidade antibacteriana e antifúngica promissora tanto para bactérias gram positiva como para gram negativas. Isto se deve à composição fitoquímica que é rica em compostos fenólicos e, no caso da fração hexânica, os compostos sesquiterpenos. Porém, mais estudos são necessários para aprofundar o que se sabe sobre a atividade antibacteriana e antifúngica, bem como o isolamento dos compostos biologicamente ativos e, a partir disto, elucidar o mecanismo de ação dessas inibições e verificar se há efeito sinérgico destas preparações e, em conjunto com compostos sintéticos, potencializar o desenvolvimento de novos compostos antimicrobianos com maior relevância na rotina clínica.

## REFERÊNCIAS

- Abushaheen, M. A., Muzahed, Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D. D., Jhugroo, C., Vellappally, S., Khan, A. A., Shaik, J., & Jhugroo, P. (2020). **Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance.** *Disease-a-Month*, 66(6).
- AHMAD MANSOUR, N. et al. Staphylococcus aureus Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. **Toxins**, v. 13, n. 10, p. 677, 23 set. 2021.
- AHMAD, I.; BEG, A. Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, n. 2, p. 113–123, fev. 2001.
- Dadgostar, P. (2019). **Antimicrobial Resistance: Implications and Costs.** *Infection and Drug Resistance*, 12, 3903–3910.
- DIJKSHOORN, L.; NEMEC, A.; SEIFERT, H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 12, p. 939–951, dez. 2007.
- Bahn YS, Sun S, Heitman J, Lin X. Microbe Profile: *Cryptococcus neoformans* species complex. **Microbiology** (Reading). 2020 Sep;166(9):797-799.
- BARROSO, G. M. Compositae - Subtribo Baccharidinae Hoffmann - Estudo das espécies ocorrentes no Brasil. Rodriguésia, Rio de Janeiro, v. 28, n. 40, p. 1-273, 1976.
- Basso, M. E., Pulcinelli, R. S. R., Aquino, A. R. do C., & Santos, K. F. (2016). Prevalence of bacterial infections in patients in an intensive care unit. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, 48(4).
- Chen K, Peng C, Chi F, Yu C, Yang Q, Li Z. Antibacterial and Antibiofilm Activities of Chlorogenic Acid Against *Yersinia enterocolitica*. **Front Microbiol**. 2022 May 4;13:885092.
- Croxen MA, Finlay BB. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat Rev Microbiol*. 2010 Jan;8(1):26-38.
- Dickson K, Scott C, White H, Zhou J, Kelly M, Lehmann C. Antibacterial and Analgesic Properties of Beta-Caryophyllene in a Murine Urinary Tract Infection Model. **Molecules**. 2023 May 17;28(10):4144.
- Disson O, Moura A, Lecuit M. Making Sense of the Biodiversity and Virulence of *Listeria monocytogenes*. **Trends Microbiol**. 2021 Sep;29(9):811-822.
- Egorov AM, Ulyashova MM, Rubtsova MY. Bacterial Enzymes and Antibiotic Resistance. **Acta Naturae**. 2018 Oct-Dec;10(4):33-48.
- Gajdács M. **The Continuing Threat of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*.** *Antibiotics (Basel)*. 2019 May 2;8(2):52.
- Hagen F, Colom MF, Swinne D, Tintelnot K, Iatta R, Montagna MT, Torres-Rodriguez JM, Cogliati M, Velegriaki A, Burggraaf A, Kamermans A, Sweere JM, Meis JF, Klaassen CH,



Boekhout T. Autochthonous and dormant *Cryptococcus gattii* infections in Europe. **Emerg Infect Dis**. 2012 Oct;18(10):1618-24.

Johnson TJ, Logue CM, Johnson JR, Kuskowski MA, Sherwood JS, Barnes HJ, DebRoy C, Wannemuehler YM, Obata-Yasuoka M, Spanjaard L, Nolan LK. Associations between multidrug resistance, plasmid content, and virulence potential among extraintestinal pathogenic and commensal *Escherichia coli* from humans and poultry. **Foodborne Pathog Dis**. 2012 Jan;9(1):37-46.

Kabir, F., Katayama, S., Tanji, N. *et al*. Antimicrobial effects of chlorogenic acid and related compounds. **J Korean Soc Appl Biol Chem** 57, 359–365 (2014).

Konczak I, Okuno S, Yoshimoto M, Yamakawa O. Caffeoylquinic Acids Generated In Vitro in a High-Anthocyanin-Accumulating Sweet potato Cell Line. **J Biomed Biotechnol**. 2004;2004(5):287-292.

Kwon-Chung KJ, Fraser JA, Doering TL, Wang Z, Janbon G, Idnurm A, Bahn YS. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, the etiologic agents of cryptococcosis. **Cold Spring Harb Perspect Med**. 2014 Jul 1;4(7):a019760.

Le YJ, He LY, Li S, Xiong CJ, Lu CH, Yang XY. Chlorogenic acid exerts antibacterial effects by affecting lipid metabolism and scavenging ROS in *Streptococcus pyogenes*. **FEMS Microbiol Lett**. 2022 Aug 8;369(1):fnac061. Erratum in: *FEMS Microbiol Lett*. 2023 Jan 17;370.

Lou Z, Wang H, Zhu S, Ma C, Wang Z. Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. **J Food Sci**. 2011 Aug;76(6):M398-403.

Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Biondo C. Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. **Pathogens**. 2021 Oct 12;10(10):1310.

MANDAL, S. M. *et al*. Challenges and future prospects of antibiotic therapy: from peptides to phages utilization. **Frontiers in Pharmacology**, v. 5, 13 maio 2014.

Medina-López CF, Plascencia-Jatomea M, Cinco-Moroyoqui FJ, Yépiz-Gómez MS, Cortez-Rocha MO, Rosas-Burgos EC. Potentiation of antifungal effect of a mixture of two antifungal fractions obtained from *Baccharis glutinosa* and *Jacquinia macrocarpa* plants. **J Environ Sci Health B**. 2016 Nov;51(11):760-8.

MIAO, M.; XIANG, L. Pharmacological action and potential targets of chlorogenic acid. Em: **Advances in Pharmacology**. 1. ed. Zhengzhou: [s.n.]. v. 87p. 71–88.

Miyasaki Y, Rabenstein JD, Rhea J, Crouch ML, Mocek UM, Kittell PE, Morgan MA, Nichols WS, Van Benschoten MM, Hardy WD, Liu GY. Isolation and characterization of antimicrobial compounds in plant extracts against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **PLoS One**. 2013 Apr 22;8(4):e61594.

Montanari, R. M., Barbosa, L. C. A., Demuner, A. J., Silva, C. J., Carvalho, L. S., & Andrade, N. J. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from verbenaceae species: alternative sources of (E)-caryophyllene and germacrene-D. **Química Nova**, 34(9), 1550–1555.

Morgan DJ, Okeke IN, Laxminarayan R, Perencevich EN, Weisenberg S. Non-prescription antimicrobial use worldwide: a systematic review. **Lancet Infect Dis**. 2011 Sep;11(9):692-701.

Naik KK, Thangavel S, Alam A, Kumar S. Flavone Analogues as Antimicrobial Agents. **Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov**. 2017;11(1):53-63.

NASCIMENTO, P. F. C. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108–113, mar. 2007.

NAVEED, M. *et al.* Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 97, p. 67–74, jan. 2018.

OLIVEIRA, L. *et al.* Coumaric acid analogues inhibit growth and melanin biosynthesis in *Cryptococcus neoformans* and potentialize amphotericin B antifungal activity. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 153, p. 105473, out. 2020.

OLIVEIRA, S. Q. *et al.* Antioxidant Activity of *Baccharis articulata* Extracts: Isolation of a New Compound with Antioxidant Activity. **Free Radical Research**, v. 37, n. 5, p. 555–559, 7 jan. 2003.

Organização Mundial de Saúde. Relatório Mundial de Violência e Saúde. Genebra: OMS, 2002.

Organização Pan-Americana de Saúde em 2021.

SILVA, R. A. DA *et al.* Resistência a Antimicrobianos: a formulação da resposta no âmbito da saúde global. **Saúde em Debate**, v. 44, n. 126, p. 607–623, set. 2020.

Phillips P, Galanis E, MacDougall L, Chong MY, Balshaw R, Cook VJ, Bowie W, Steiner T, Hoang L, Morshed M, Ghesquiere W, Forrest DM, Roscoe D, Doyle P, Kibsey PC, Connolly T, Mirzanejad Y, Thompson D; British Columbia *Cryptococcus gattii* Study Group. Longitudinal clinical findings and outcome among patients with *Cryptococcus gattii* infection in British Columbia. **Clin Infect Dis**. 2015 May 1;60(9):1368-76.

PODSCHUN, R.; ULLMANN, U. *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 4, p. 589–603, out. 1998.

Projan SJ. Why is big Pharma getting out of antibacterial drug discovery? **Curr Opin Microbiol**. 2003 Oct;6(5):427-30.

RAINERI, A. *et al.* 3,5-Dicaffeoylquinic Acid Lowers 3T3-L1 Mitotic Clonal Expansion and Adipocyte Differentiation by Enhancing Heme Oxygenase-1 Expression. **Molecules**, v. 26, n. 16, p. 5027, 19 ago. 2021.

Ramos Campos, F., Bressan, J., Godoy Jasinski, V. C., Zuccolotto, T., da Silva, L. E., & Bonancio Cerqueira, L. (2016). *Baccharis* (Asteraceae): Chemical Constituents and Biological Activities. **Chemistry & Biodiversity**, 13(1), 1–17.

Sauer JD, Herskovits AA, O'Riordan MXD. Metabolism of the Gram-Positive Bacterial Pathogen *Listeria monocytogenes*. **Microbiol Spectr**. 2019 Jul;7(4):10.1128/microbiolspec.GPP3-0066-2019.

Selestino Neta MC, Vittorazzi C, Guimarães AC, Martins JD, Fronza M, Endringer DC, Scherer R. Effects of  $\beta$ -caryophyllene and *Murraya paniculata* essential oil in the murine

hepatoma cells and in the bacteria and fungi 24-h time-kill curve studies. **Pharm Biol.** 2017 Dec;55(1):190-197.

Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. **Cold Spring Harb Perspect Biol.** 2010 May;2(5):a000414.

Sousa EO, Silva NF, Rodrigues FF, Campos AR, Lima SG, Costa JG. Chemical composition and resistance-modifying effect of the essential oil of *Lantana camara* Linn. **Pharmacogn Mag.** 2010 Apr;6(22):79-82.

Sun Z, Zhang X, Wu H, Wang H, Bian H, Zhu Y, Xu W, Liu F, Wang D, Fu L. Antibacterial activity and action mode of chlorogenic acid against *Salmonella Enteritidis*, a foodborne pathogen in chilled fresh chicken. **World J Microbiol Biotechnol.** 2020 Jan 21;36(2):24.

TASCHETTO, Ana Paula Dambros. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos aquosos e etanólicos de baccharis trimera e baccharis articulata frente ao microorganismo helicobacter pylori.** 2010. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ambiente e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Taquari - Univates, Lajeado, 17 jul. 2010.

Uddin TM, Chakraborty AJ, Khusro A, Zidan BRM, Mitra S, Emran TB, Dhama K, Ripon MKH, Gajdacs M, Sahibzada MUK, Hossain MJ, Koirala N. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. **Infect Public Health.** 2021 Dec;14(12):1750-1766.

VERDI, L.G.; BRIGHENTE, I.M.C. PIZZOLATTI, M.G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos Químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v.28, p.85-94, 2005.

WAGNER, H. & BLADT, S. 2001. Plant drug analysis. **Thin Layer Chromatography Atlas.** 2nd ed. Springer. Londres.

World Health Organization. **Ten threats to global health in 2019.**

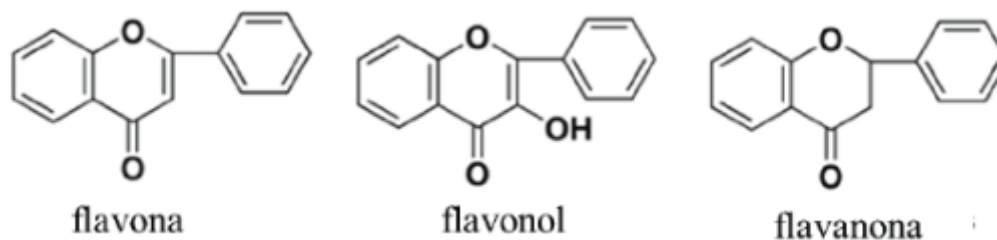
Wu T, He M, Zang X, Zhou Y, Qiu T, Pan S, Xu X. A structure-activity relationship study of flavonoids as inhibitors of *E. coli* by membrane interaction effect. **Biochim Biophys Acta.** 2013 Nov;1828(11):2751-6.

Tomazoni Z.E., Ribeiro R.T.S., Pauletti G.F., Gonçalves Soares G.L., Schwambach J. Inhibition of *Alternaria* stem canker on tomato by essential oils from *Baccharis* species. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 54, n. 9, p. 781–790, 2 set. 2019.

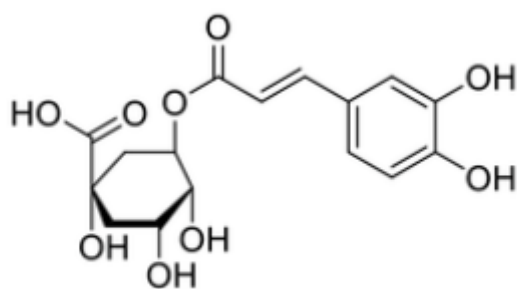
7. **APÊNDICE A** - Estruturas químicas presentes nos extratos e frações de *baccharis articulata* (Lam) Pers.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

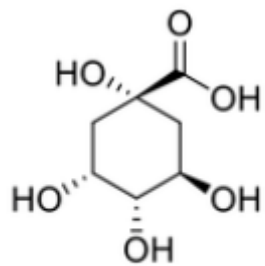


Derivados de flavona e flavonol presentes de forma significativa nas frações acetato de etila (FAE) e metanol assim, como nos extratos aquoso (EAQ) e etanólico (ET).



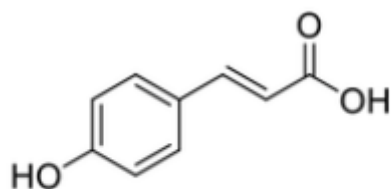
**ácido clorogênico**

Isômeros do ácido clorogênico presente na fração metanol (FM) e nos extratos aquoso (EAQ) e etanólico (ET).



**ácido quínico**

Derivados do ácido quínico presente no extrato etanólico (ET).



**ácido *p*-cumárico**

Derivados do ácido cumárico presente nas frações acetato de etila (FEA) e metanol (FM).