



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS



FABRICIO MENDES MIRANDA

ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Mimosa*
***verrucosa* BENTH. (LEGUMINOSAE)**

Feira de Santana

2026

FABRICIO MENDES MIRANDA

ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Mimosa verrucosa* BENTH. (LEGUMINOSAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Clayton Queiroz Alves

Coorientadores: Profa. Dra. Rosane Moura Aguiar (UESB), Prof. Dr. Hugo Brandão e Prof. Dr. Manoelito C. dos Santos Junior

Feira de Santana

2026

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteadó - UEFS

Miranda, Fabricio Mendes

M642e Estudo fitoquímico e avaliação da atividade biológica de *Mimosa verrucosa* Benth. (Leguminosae) / **Fabricio Mendes Miranda**. - 2026.
140f. : il.

Orientador: Clayton Queiroz Alves

Coorientadores: Rosane Moura Aguiar, Hugo Neves Brandão e Manoelito Coelho dos Santos Junior

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Feira de Santana.
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2026.

1. *Mimosa verrucosa*. 2. Óleos essenciais. 3. Atividade antimicrobiana.
4. Resistência microbiana. 5. Docking molecular. I. **Alves, Clayton Queiroz**,
orient. II. **Aguiar, Rosane Moura**, coorient. III. **Brandão, Hugo Neves**, coorient.
IV. **Santos Junior, Manoelito Coelho dos**, coorient. V. Universidade Estadual
de Feira de Santana. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos
Vegetais. VI. Título.

CDU: 582.737

Rejane Maria Rosa Ribeiro – Bibliotecária CRB-5/695

BANCA EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente

CARLOS BORGES FILHO

Data: 09/06/2026 09:27:21-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professor Dr. Carlos Borges
(Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB)



Documento assinado digitalmente

FRANCELI DA SILVA

Data: 11/06/2026 12:42:13-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professora Dra. Franceli da Silva
(Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB)



Documento assinado digitalmente

RAPHAEL AMANCIO DE JESUS

Data: 10/06/2026 22:29:08-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professor Dr. Raphael Amancio de Jesus
(Universidade Federal de Sergipe – UFS)



Documento assinado digitalmente

REYJANE PATRICIA DE OLIVEIRA

Data: 10/06/2026 11:50:39-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professora Dra. Reyjane Patrícia de Oliveira
(Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS)



Documento assinado digitalmente

CLAYTON QUEIROZ ALVES

Data: 08/06/2026 21:39:03-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professor Dr. Clayton Queiroz Alves
(Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS)
Orientador e Presidente da Banca

Feira de Santana

2026

*“Foi como um forte temporal,
de repente, sobre mim.”*

Beto Caju

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, Criador do céu e da terra, por sustentar cada passo dessa caminhada com sabedoria, força e propósito.

“Os que confiam no Senhor serão como o monte Sião, que não se abala, mas permanece para sempre.” (Salmos 125:1)

À minha família, fonte de amor, inspiração e equilíbrio. À minha esposa Mirella, pelo apoio incondicional e paciência nos momentos mais intensos dessa jornada. Aos meus filhos Dianna e Vinicius, que me motivam a ser melhor todos os dias. À minha mãe Isabel Cristina, pelo amor e exemplo de perseverança. À minha irmã Poliana Mendes, pelo incentivo constante e presença fraterna.

Aos amigos que estiveram ao meu lado, em especial Candice Nóbrega, Rubens Barreto e tantos outros colegas que contribuíram com gestos de amizade, palavras de incentivo e apoio nos momentos decisivos.

À professora Edeltrudes Oliveira, importante nome feminino da ciência no Brasil, cuja trajetória inspira gerações de pesquisadores. À professora Rosane Moura Aguiar, minha coorientadora, pelo apoio, confiança e por compartilhar seu vasto conhecimento com generosidade. Aos professores da UESB, que contribuíram de forma significativa para minha formação científica e humana.

Ao professor Clayton Queiroz, meu orientador, por acreditar neste trabalho e conduzi-lo com sabedoria, respeito e comprometimento. Ao ilustríssimo professor Manoel Abílio, que se tornou uma grande referência para mim em humanidade e profissionalismo.

Um agradecimento especial à Cantora Joelma da Banda Calypso, cuja música, não sei bem como, me ajuda a manter a concentração durante as longas horas de escrita. Sua energia e intensidade foram uma companhia nada silenciosa, mas constante, nesta caminhada.

A todos que, de alguma forma, fizeram parte desta trajetória, expresso minha sincera gratidão.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

*Isabel Cristina, Claudino (in memoriam),
Mirella, Vinicius, Dianna e Poliana. Meu
abrigo na tempestade.*

RESUMO

O presente estudo investiga a composição química, a atividade antimicrobiana e o perfil de interações moleculares dos óleos essenciais de *Mimosa verrucosa* Benth., por meio da integração de abordagens experimentais e computacionais, com o objetivo de explorar seu potencial como agentes multialvo. Os óleos essenciais dos frutos e das folhas foram caracterizados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), evidenciando a predominância de compostos terpênicos, especialmente sesquiterpenos. A atividade antifúngica do óleo essencial dos frutos foi avaliada frente a espécies do gênero *Candida*, apresentando valores consistentes de concentração inibitória mínima (CIM), sugerindo um mecanismo de ação associado a estruturas celulares conservadas. Ensaio complementares indicaram possível interação com componentes da membrana celular. As análises de docking molecular, direcionadas à enzima esterol 14 α -desmetilase (CYP51), revelaram afinidades de ligação favoráveis para os principais constituintes, corroborando um efeito relacionado à integridade da membrana em nível molecular. A atividade antibacteriana do óleo essencial das folhas foi avaliada frente a *Staphylococcus aureus*, apresentando efeito inibitório moderado. Estudos de docking molecular envolvendo múltiplos alvos bacterianos, incluindo PBP2a, FtsZ, FabI, DHFR e ClpP, demonstraram que os sesquiterpenos apresentaram as energias de ligação mais favoráveis e maior recorrência de interações com diferentes proteínas. Esse padrão sugere a capacidade desses compostos de atuar simultaneamente em múltiplas vias celulares essenciais. A integração dos dados químicos, biológicos e computacionais sustenta um modelo de ação multialvo, no qual a atividade biológica dos óleos essenciais resulta da atuação combinada e complementar de seus constituintes. Esses resultados reforçam o potencial de *M. verrucosa* como fonte de compostos bioativos e destacam a relevância de abordagens integrativas no estudo de produtos naturais complexos.

Palavras-chave: *Mimosa verrucosa*; óleos essenciais; atividade antimicrobiana; docking molecular; resistência microbiana.

ABSTRACT

The present study investigates the chemical composition, antimicrobial activity, and molecular interaction profile of essential oils obtained from *Mimosa verrucosa* Benth., integrating experimental and computational approaches to explore their potential as multi-target agents. Essential oils from fruits and leaves were chemically characterized by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS), revealing a predominance of terpenoid compounds, particularly sesquiterpenes. The antifungal activity of the fruit essential oil was evaluated against *Candida* species, exhibiting consistent minimum inhibitory concentration (MIC) values, suggesting a mechanism associated with conserved cellular structures. Complementary assays indicated a possible interaction with membrane components. Molecular docking analyses targeting sterol 14 α -demethylase (CYP51) demonstrated favorable binding affinities for major constituents, supporting a membrane-associated mode of action at the molecular level. The antibacterial activity of the leaf essential oil was assessed against *Staphylococcus aureus*, showing moderate inhibitory effects. Docking studies against multiple bacterial targets, including PBP2a, FtsZ, FabI, DHFR, and ClpP, revealed that sesquiterpenes exhibited the most favorable binding energies and interaction profiles across different proteins. This distribution of interactions suggests the ability of these compounds to act on multiple cellular pathways simultaneously. The integration of chemical, biological, and *in silico* data supports a multi-target model of action, in which the biological activity of the essential oils arises from the combined and complementary effects of multiple constituents rather than a single active compound. These findings reinforce the potential of *M. verrucosa* essential oils as sources of bioactive molecules and highlight the relevance of integrative approaches in the study of complex natural products.

Keywords: *Mimosa verrucosa*; essential oils; antimicrobial activity; molecular docking; microbial resistance

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Flores, frutos e folhas de <i>M. verrucosa</i> coletadas no município de Jequié. Fotografia registrada pelo autor em Jequié – BA (abril de 2024).	28
Figura 2. Cromatograma do óleo essencial dos frutos de <i>M. verrucosa</i> extraído por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado.	61
Figura 3. Estrutura cristalina do esterol 14 α -desmetilase (CYP51) de <i>C. albicans</i> em complexo com antifúngico à base de tetrazol VT1161 (VT1).	70
Figura 4. Estrutura do CYP51 do patógeno <i>C. albicans</i> . Em destaque o grupo Heme (protoporfirina ix contendo fe) e o ligante 1YN (2-[(2R)-butan-2-il]-4-{4-[4-(4-[(2R,4S)-2-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolano-4-il]metoxi} fenil)	70
Figura 5. Estrutura cristalina do esterol 14-alfa desmetilase (CYP51) de uma levedura patogênica <i>C. albicans</i> em complexo com o antifúngico posaconazol (X2N).	71
Figura 6. Alinhamento entre o ligante 1YN da proteína 5V5Z e a pose_1 (em destaque) gerada pelo protocolo de docking.	71
Figura 7. Alinhamento entre o ligante VT1 da proteína 5TZ1 e a pose_1 (em destaque) gerada pelo protocolo de docking.	72
Figura 8. Alinhamento entre o ligante X2N da proteína 5FSA e a pose_1 (em destaque) gerada pelo protocolo de docking.	72
Figura 9. Representação tridimensional (3D) e bidimensional (2D) dos três compostos com melhor função de pontuação para o alvo 5V5Z. (A) Humuleno acomodado no sítio ativo da proteína e (B) seu respectivo mapa de interações em 2D; (C) Cariofileno no sítio ativo e (D) seu mapa de interações em 2D; (E) (–)- α -Panasinseno no sítio ativo e (F) sua representação em 2D.	76
Figura 10. Representação tridimensional (3D) e bidimensional (2D) dos três compostos com melhor função de pontuação para o alvo 5TZ1. (G) Humuleno acomodado no sítio ativo da proteína e (H) seu respectivo mapa de interações em 2D; (I) Cariofileno no sítio ativo (J) seu mapa de interações em 2D; (K) α -Cadinol no sítio ativo e (L) sua representação em 2D.....	77
Figura 11. Representação tridimensional (3D) e bidimensional (2D) dos três compostos com melhor função de pontuação para o alvo 5FSA. (M) Acetato de Tau-Cadinol acomodado no sítio ativo da proteína e (N) seu respectivo mapa de interações em 2D; (O) Ledol no sítio ativo da proteína e (R) seu mapa de interações em 2D.	78

Figura 12. Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>M. verrucosa</i> extraído por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado.	85
Figura 13. Atividade antioxidante avaliada pelo método do DPPH (% de inibição) para o óleo essencial das folhas (OE folhas) e extratos de <i>M. verrucosa</i> obtidos com diferentes solventes (hexano — EXT_HEX; diclorometano — EXT_DCM; clorofórmio — EXT_CL; acetato de etila — EXT_ACT; metanol — EXT_MET), em comparação ao ácido gálico (controle positivo), nas concentrações de 0,01 a 1,0 mg/mL.	92
Figura 14. Comparação das interações no sítio de FabI (PDB 4FS3). (A) Vista 3D do neointermedeol (pose com melhor energia, $\Delta G = -8.48 \text{ kcal mol}^{-1}$) no sítio ativo; proteína em cartoon. (B) Mapa 2D correspondente: ponte de H do OH do ligante com Ser197 (verde) e contatos alkyl/ π -alkyl (lilás) com Tyr147, Tyr157, Phe204, Val154, Val201, Ile207, Leu102 e Pro192; molécula de água OWD 301 próxima à borda aromática.	96
Figura 15. Comparação das interações no sítio de FabI (PDB 4FS3). (A) Vista 3D do neointermedeol (pose com melhor energia, $\Delta G = -8.48 \text{ kcal mol}^{-1}$) no sítio ativo; proteína em cartoon. (B) Mapa 2D correspondente: ponte de H do OH do ligante com Ser197 (verde) e contatos alkyl/ π -alkyl (lilás) com Tyr147, Tyr157, Phe204, Val154, Val201, Ile207, Leu102 e Pro192; molécula de água OWD 301 próxima à borda aromática. (C) Vista 3D do ligante co-cristalizado (novobiocina) em pose de redocking; RMSD = 1,21 Å em relação à pose cristalográfica; proteína na mesma orientação de (A). (D) Mapa 2D do ligante padrão destacando as âncoras polares típicas do bolso (ex.: região de Asp81 e vizinhança) e os contatos hidrofóbicos adjacentes.	97
Figura 16. Interações do óxido de cariofileno em FabI (4FS3) e FtsZ (4DXD). (A) Vista 3D em 4FS3 (sítio de FabI), com a superfície do sítio em transparência; (B) Mapa 2D em 4FS3: π -alkyl/alkyl com Tyr147, Tyr157, Phe204, Val201, Leu102, Ile207 e Pro192; Ser197 e OWD 301 próximos à borda aromática; (C) Vista 3D em 4DXD (sulco lateral hidrofóbico) na mesma orientação de (A); (D) Mapa 2D em 4DXD: ponte de H do epóxido com Leu209 (verde) e contatos alkyl/van der Waals com Leu200/Leu209, Val203/Val297, além da vizinhança de Asn263, Gly205, Thr296/Thr309.	98
Figura 17. Interações do cubeneno em FabI (PDB 4FS3) e FtsZ (PDB 4DXD). (A) Vista 3D em 4FS3 sítio de FabI), com a superfície do sítio em transparência. (B) Mapa 2D em 4FS3: π -alkyl/alkyl com Tyr147, Tyr157, Phe204, Val201 e contatos hidrofóbicos com Leu102, Ile207; Ser197 e OWE301 na vizinhança, sem H-bond observado. (C) Vista 3D em 4DXD (sulco lateral	

hidrofóbico) na mesma orientação de (A). **(D)** Mapa 2D em 4DXD: alkyl com Leu200, Leu261, Ile197, Ile228, Ile311, Met226 e van der Waals com Gln192, Gly193, Gly196, Gly227, Thr309, Val310..... 99

Figura 18. Gráfico de radar comparando as propriedades ADMET preditas para os principais sesquiterpenos de *M. verrucosa*, gentamicina e vancomicina. HIA: absorção intestinal humana; Caco-2: ensaio de permeabilidade de membrana; BBB: penetração na barreira hematoencefálica; Ames: mutagenicidade predita; hERG: inibição do canal cardíaco hERG K⁺; CYP: inibição das isoenzimas CYP3A4/2D6. Os valores foram normalizados de 0 a 1 para fins de visualização.. 102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Pannel de microrganismos utilizados na avaliação da atividade antimicrobiana, incluindo bactérias, leveduras e fungos filamentosos, com suas respectivas espécies e linhagens de referência (ATCC) e isolados clínicos ou laboratoriais (LM).	46
Tabela 2. Composição química do óleo essencial de <i>M. verrucosa</i> , obtida por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), incluindo compostos identificados, índices de retenção calculados (RI) e áreas relativas (%), com agrupamento por classes químicas.	60
Tabela 3. Resultados da média da avaliação (n=3) da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) do óleo essencial de folhas e de frutos <i>M. verrucosa</i> contra espécies microbianas-Técnica de Microdiluição.	63
Tabela 4. Efeito da combinação do óleo essencial dos frutos de <i>M. verrucosa</i> com o antifúngico fluconazol sobre cepas de <i>C. albicans</i> ATCC-76485.	65
Tabela 5. Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial dos frutos de <i>M. verrucosa</i> , na ausência e na presença de sorbitol 0,8 M.	66
Tabela 6. Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial dos frutos de <i>M. verrucosa</i> , na ausência e na presença de ergosterol (400 $\mu\text{g/mL}$).	67
Tabela 7. Principais parâmetros do arquivo de configuração (config.txt) empregados no redocking das enzimas 5V5Z, 5TZ1 e 5FSA.	68
Tabela 8. Melhores afinidades (kcal/mol), faixa de afinidades obtidas e valores de RMSD relativos à pose cristalográfica.	69
Tabela 9. Análise Comparativa das Afinidades de Ligação (kcal/mol) dos compostos naturais com a enzima CYP51 de <i>C. albicans</i> (PDB: 5V5Z, 5TZ1 e 5FSA) por docking molecular.	73
Tabela 10. Ranking dos compostos por energia de ligação (ΔG , kcal·mol ⁻¹) frente à enzima CYP51 de <i>C. albicans</i> (PDB: 5V5Z, 5TZ1 e 5FSA).	75
Tabela 11. Resultados da média da avaliação (n=3) da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) do óleo essencial de folhas e de frutos <i>M. verrucosa</i> contra <i>S. aureus</i> . Os demais microrganismos estão dispostos na tabela para mera comparação.	86
Tabela 12. Triagem fitoquímica qualitativa das classes de metabólitos secundários detectadas nos extratos foliares de <i>M. verrucosa</i>	88

Tabela 13. Toxicidade aguda das amostras de <i>M. verrucosa</i> avaliada pelo ensaio com <i>A. salina</i> , expressa como LD ₅₀ (µg/mL) e respectiva classificação toxicológica.	91
Tabela 14. Energias livres de ligação (ΔG, kcal/mol) previstas para 36 constituintes do óleo essencial das folhas e 3 ácidos graxos <i>M. verrucosa</i> frente a cinco proteínas alvo essenciais de <i>S. aureus</i>	95
Tabela 15. Compostos selecionados e ΔG por alvo (kcal/mol). (Neointermedeol; Copaeno; γ-Muuroleno; Óxido de cariofileno; 2-Isopropenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidronaftaleno e Cubeneno.	96
Tabela 16. Propriedades farmacocinéticas e toxicológicas preditas in silico (ADMET) para os principais sesquiterpenos do óleo essencial de <i>M. verrucosa</i> e para a gentamicina (controle positivo).	101
Tabela 17. Predição in silico de drug-likeness, bioatividade e parâmetros toxicológicos para ácidos graxos identificados nas folhas de <i>M. verrucosa</i> e gentamicina (C1a).	102

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 01. Mortalidade corrigida (%) calculada pelo método de Abbott, ajustando os valores observados em relação à mortalidade do grupo controle.....	53
--	----

LISTA DE SIGLAS

ADMET – Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity

ATCC – American Type Culture Collection

BHI – Brain Heart Infusion

BBB – Blood–Brain Barrier

Caco-2 – Células de adenocarcinoma de cólon humano (modelo de permeabilidade intestinal)

CG-EM (ou GC-MS) – Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

CIM (MIC) – Concentração Inibitória Mínima

CYP – Citocromo P450

CYP51 – Esterol 14 α -desmetilase

DHFR – Dihidrofolato redutase

DMSO – Dimetilsulfóxido

DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

ΔG – Energia livre de ligação

FAME – Fatty Acid Methyl Esters (Ésteres metílicos de ácidos graxos)

FabI – Enoyl-ACP redutase

FtsZ – Filamenting temperature-sensitive mutant Z

HIA – Human Intestinal Absorption

hERG – Human Ether-à-go-go-Related Gene (canal de potássio cardíaco)

LM – Isolado laboratorial

OE – Óleo essencial

PBP2a – Penicillin-Binding Protein 2a

PDB – Protein Data Bank

RI – Índice de retenção

RMSD – Root Mean Square Deviation

3D – Tridimensional

2D – Bidimensional

Sumário

APRESENTAÇÃO – ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE <i>Mimosa verrucosa</i> BENTH. (LEGUMINOSAE).....	20
INTRODUÇÃO.....	20
1. Óleos essenciais como sistemas químicos multifuncionais.....	21
1.1 Variabilidade intraespecífica e influência da matriz vegetal.....	22
1.2 Integração de abordagens experimentais e computacionais.....	23
1.3. Delimitação do problema e hipótese de trabalho.....	25
FUNDAMENTOS DA INVESTIGAÇÃO: PRODUTOS NATURAIS, <i>Mimosa</i> E AÇÃO MULTIALVO	26
INTRODUÇÃO.....	26
2.1 Aspectos taxonômicos e morfológicos do gênero <i>Mimosa</i>	27
2.2 Diversidade fitoquímica do gênero <i>Mimosa</i>	28
2.3 Óleos essenciais: localização, composição e variabilidade	29
2.4 Atividade antimicrobiana de espécies do gênero <i>Mimosa</i>	29
2.4.1 Atividade antifúngica.....	29
2.4.2 Resistência microbiana e limitações terapêuticas	31
2.5 Óleos essenciais em sistemas multialvo	33
2.6 Abordagens <i>in silico</i> aplicadas a produtos naturais.....	34
2.6.1 Fundamentos metodológicos e ferramentas computacionais em análises <i>in silico</i>	35
2.6.2 Estratégias de triagem multialvo em produtos naturais	37
2.7 Síntese crítica e lacunas do conhecimento	39
2.8 Objetivo geral e específicos.....	39
3.0 Estratégia experimental e computacional	40
3.1 Material vegetal e preparo das amostras.....	40
3.2 Obtenção do óleo essencial	42
3.3 Caracterização química por CG-EM	42
3.3.1 Condições cromatográficas.....	42
3.3.2 Identificação dos constituintes.....	43
3.3.3 Análise de ácidos graxos (FAME).....	44
3.4 Avaliação da atividade antimicrobiana.....	45
3.4.1 Microrganismos e condições de cultivo.....	45
3.4.2 Preparo das amostras	46

3.4.3 Meios de cultura.....	47
3.4.4 Inóculo	47
3.4.5 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)	47
3.4.6 Ensaio de interação (Checkerboard)	48
3.5 Ensaios de mecanismo de ação.....	50
3.5.1 Ensaio com sorbitol	50
3.5.2 Ensaio com ergosterol.....	51
3.6 Avaliação da toxicidade utilizando <i>Artemia salina</i>	52
3.7 Triagem fitoquímica preliminar	53
3.8 Avaliação da atividade antioxidante pelo método do radical DPPH.....	54
3.9 Abordagem <i>in silico</i> : docking molecular.....	55
3.9.1 Preparação dos ligantes.....	55
3.9.2 Preparação dos alvos moleculares	56
3.9.3 Execução do docking	57
3.9.4 Validação do protocolo	58
3.9.5 Análise das interações.....	58
3.9.6 Predição de propriedades farmacocinéticas (ADMET)	59
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.1 Composição química do óleo essencial dos frutos de <i>M. verrucosa</i>	59
4.2 Atividade antifúngica do óleo essencial dos frutos de <i>M. verrucosa</i>	62
4.2.1 Microrganismos avaliados e visão geral dos resultados	62
4.2.2 Relação inicial entre atividade antifúngica e composição química	64
4.3 Interação o óleo essencial dos frutos de <i>M. verrucosa</i> com fluconazol (checkerboard)	65
4.4 Indícios do mecanismo de ação do óleo essencial frente a <i>C. Albicans</i>	66
4.5 Análise <i>in silico</i> e correlação com os dados experimentais.....	68
4.5.1 Validação do Protocolo de Docking	68
4.5.2 Avaliação da Afinidade de Ligação dos Compostos dos Óleos Essenciais com Alvos Proteicos.....	72
4.6 Integração dos resultados e implicações biológicas	79
5.0 Folhas de <i>M. verrucosa</i> : composição química, atividade antibacteriana e potencial multialvo	83
5.1 Elucidação da composição química do óleo essencial das folhas de <i>M. verrucosa</i>	84

5.2 Atividade antibacteriana, natureza das frações e triagem fitoquímica das folhas de <i>M. verrucosa</i>	85
5.3 Triagem fitoquímica preliminar	87
5.4 Perfil lipídico (FAME) das folhas de <i>M. verrucosa</i>	88
5.5 Avaliação da toxicidade frente a <i>A. salina</i>	89
5.6 Avaliação da atividade antioxidante pelo método do radical DPPH.....	91
5.7 Análise <i>in silico</i> das interações entre constituintes do óleo essencial e alvos de <i>S. aureus</i>	93
5.8 Predição <i>in silico</i> das propriedades do ADMETox	99
5.9. Padrão global de atividade e coerência biológica.....	103
6.0 Dissociação funcional entre classes de metabólitos	103
6.1 Papel interpretativo dos ensaios complementares	104
6.2 Integração entre composição lipídica, docking molecular e propriedades ADMET: evidências para um modelo multialvo.....	105
7.0 Conclusão geral, limitações e perspectivas	107
8.0 Limitações do Estudo	108
9.0 Perspectivas Futuras	109
REFERÊNCIAS	110

APRESENTAÇÃO – ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Mimosa verrucosa* BENTH. (LEGUMINOSAE)

INTRODUÇÃO

A crescente demanda por novos agentes antimicrobianos tem impulsionado a investigação de produtos naturais como fontes estratégicas de compostos bioativos (LÓPEZ-VALVERDE et al., 2023). Esse cenário torna-se ainda mais crítico diante da expansão global da resistência microbiana, fenômeno que compromete progressivamente a eficácia de terapias convencionais e representa uma das principais ameaças contemporâneas à saúde pública (BONIFÁCIO et al., 2014). Nesse contexto, a biodiversidade vegetal, especialmente em ecossistemas tropicais, constitui um reservatório químico de elevada complexidade e ainda subexplorado, com potencial significativo para a identificação de moléculas funcionalmente relevantes (RUTALA et al., 2000).

O bioma Caatinga insere-se nesse cenário como um sistema ecológico singular, caracterizado por condições edafoclimáticas restritivas, incluindo irregularidade hídrica acentuada, elevada incidência de radiação solar, altas temperaturas e solos frequentemente pobres em nutrientes (QUEIROZ; LEITE; VASCONCELOS, 2023). Essas condições impõem uma forte pressão seletiva sobre as espécies vegetais, favorecendo o desenvolvimento de estratégias adaptativas complexas. Como consequência, observa-se a produção de metabólitos secundários com funções ecológicas bem definidas, como defesa contra herbivoria, proteção contra estresse oxidativo e interação com microrganismos (SOUZA; CÓRDULA; CAVALCANTI, 2024).

Diferentemente de outros biomas tropicais mais úmidos, a Caatinga apresenta um regime ambiental marcado por ciclos de estresse e recuperação, o que pode intensificar a plasticidade metabólica das espécies vegetais. Esse dinamismo ambiental contribui para a geração de perfis químicos diversificados, especialmente no que se refere à produção de compostos voláteis, como os constituintes de óleos essenciais. Assim, a flora da Caatinga não apenas representa um repositório de diversidade taxonômica, mas também um sistema altamente relevante do ponto de vista da diversidade funcional de metabólitos (CASTELO BRANCO et al., 2012).

Entre os táxons representativos desse bioma, o gênero *Mimosa* (Fabaceae) destaca-se pela elevada diversidade e ampla distribuição, com ocorrência significativa no Nordeste brasileiro (OBISTIOIU et al., 2021). Espécies desse gênero têm sido associadas à produção de compostos com atividades biológicas relevantes, embora grande parte dessa diversidade ainda permaneça

pouco explorada sob uma perspectiva integrada (ARAYA-CLOUTIER et al., 2017; GUTIÉRREZ-DURÁN et al., 2026). Em particular, permanece limitada a compreensão da variabilidade química intraespecífica e de como diferentes órgãos vegetais podem influenciar tanto a composição química quanto as propriedades biológicas associadas.

1. ÓLEOS ESSENCIAIS COMO SISTEMAS QUÍMICOS MULTIFUNCIONAIS

Óleos essenciais constituem sistemas químicos complexos, formados predominantemente por terpenoides voláteis derivados das vias biossintéticas do mevalonato (MVA) e do metileritritol fosfato (MEP), responsáveis pela produção de monoterpenos e sesquiterpenos (BUHAESCU; IZZEDINE, 2007). Esses compostos apresentam elevada diversidade estrutural e funcional, estando associados a funções ecológicas específicas, como defesa química contra herbivoria, proteção frente a microrganismos e participação em processos de comunicação planta–ambiente (LOMBARD; MOREIRA, 2011). A volatilidade e a lipofilicidade dessas moléculas favorecem sua interação com sistemas biológicos, justificando seu interesse farmacológico.

A atividade antimicrobiana desses sistemas está frequentemente relacionada à interação de seus constituintes com estruturas lipídicas, especialmente membranas celulares. Monoterpenos como α -pineno e 1,8-cineol, assim como sesquiterpenos como cariofileno e humuleno, apresentam afinidade por regiões hidrofóbicas da bicamada fosfolipídica, promovendo aumento da permeabilidade, desorganização estrutural e perda de integridade da membrana (MOO et al., 2021; VILLECCO et al., 2008). Esse processo pode resultar em extravasamento de íons, colapso do potencial de membrana e comprometimento de processos essenciais, incluindo transporte de elétrons e síntese de ATP. Em fungos, efeitos análogos têm sido descritos, frequentemente associados à interação com ergosterol ou à desestabilização da membrana plasmática, comprometendo a integridade celular e a homeostase osmótica (YELBOĞA; KARAKUŞ, 2023).

Evidências também indicam que determinados constituintes de óleos essenciais podem interagir com alvos intracelulares, incluindo enzimas envolvidas em vias metabólicas críticas e proteínas associadas à divisão celular e à biossíntese da parede bacteriana (BITENCOURT et al., 2022; FIGUEROA; ORTIZ; HENNINGSSEN, 2021). Em sistemas fúngicos, essas interações podem envolver enzimas da via de biossíntese de esteróis, como a lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51), bem como outros componentes essenciais à manutenção da estrutura e funcionalidade

celular (STUCKEY; SANTIAGO-TIRADO, 2023). A multiplicidade dessas interações sugere um modo de ação distribuído, caracterizado pela atuação simultânea sobre diferentes estruturas e processos celulares (ROCHA et al., 2021).

A complexidade química dessas misturas favorece a ocorrência de efeitos sinérgicos ou aditivos entre seus constituintes (NAZZARO et al., 2013). Compostos majoritários podem atuar como agentes de perturbação estrutural inicial, facilitando a penetração de componentes minoritários que passam a interagir com alvos moleculares mais específicos. Esse comportamento cooperativo contribui para a eficácia biológica dos óleos essenciais e impõe maior dificuldade à adaptação microbiana, tanto em bactérias quanto em fungos (SAAD; MULLER; LOBSTEIN, 2013).

A interpretação desses sistemas sob a perspectiva multialvo tem se mostrado particularmente relevante frente a microrganismos com elevada plasticidade adaptativa, como *Staphylococcus aureus* e espécies do gênero *Candida*. A possibilidade de interação simultânea com proteínas envolvidas em processos essenciais, como biossíntese da parede celular, divisão celular e metabolismo, amplia o entendimento de seu potencial biológico. A integração entre ensaios experimentais e abordagens computacionais permite explorar essas interações em nível molecular, contribuindo para a construção de hipóteses mecanísticas mais consistentes (KOWALCZYK, 2024).

1.1 Variabilidade intraespecífica e influência da matriz vegetal

A composição química de óleos essenciais apresenta elevada variabilidade, sendo modulada por fatores ambientais, genéticos e fisiológicos. Entre esses, a matriz vegetal utilizada para extração constitui um determinante central, uma vez que diferentes órgãos desempenham funções ecológicas específicas e, por consequência, exibem perfis metabólicos diferenciados (YU et al., 2025). Essa heterogeneidade pode ser compreendida à luz da plasticidade metabólica das plantas, que ajustam a produção de metabólitos secundários em resposta a pressões seletivas distintas (DAS; PRAKASH, 2024).

A ocorrência de quimiotipos intraespecíficos e a variação na abundância relativa de compostos voláteis refletem não apenas condições ambientais, mas também a especialização funcional dos órgãos vegetais. Folhas, frequentemente expostas a herbivoria e estresse abiótico

direto, tendem a concentrar compostos com funções defensivas e voláteis de rápida difusão (GONÇALVES; MANSINHOS; ROMANO, 2023). Frutos, por sua vez, podem apresentar perfis químicos associados à proteção contra patógenos e à interação com dispersores, resultando em composições distintas tanto em termos qualitativos quanto quantitativos (GIORGI et al., 2015).

Essa diferenciação química possui implicações diretas na atividade biológica dos óleos essenciais. Variações na composição podem alterar propriedades físico-químicas, como lipofilicidade e volatilidade, influenciando a capacidade de interação com membranas celulares e, potencialmente, com alvos moleculares específicos. Consequentemente, diferenças entre partes vegetais de uma mesma espécie podem resultar em perfis distintos de atividade antimicrobiana e em padrões variados de interação com sistemas biológicos (GORNI; PACHECO; SPERA, 2025; KHAN et al., 2025).

No caso de *M. verrucosa*, a literatura ainda apresenta lacunas quanto à análise comparativa entre diferentes órgãos vegetais sob uma abordagem integrada. A ausência de estudos que correlacionem composição química, atividade biológica e interação molecular limita a compreensão do papel da variabilidade intraespecífica no potencial farmacológico da espécie (ROCHA et al., 2024; MONÇÃO; ARAÚJO; CITÓ, 2019)

1.2 Integração de abordagens experimentais e computacionais

A integração entre ensaios experimentais e abordagens *in silico* tem se consolidado como uma estratégia metodológica relevante na investigação de produtos naturais, especialmente diante da complexidade química de sistemas como os óleos essenciais (SAĞSÖZ et al., 2025). Ensaios microbiológicos, como a determinação da concentração inibitória mínima (MIC), permitem quantificar a atividade antimicrobiana em condições controladas, fornecendo uma medida operacional da eficácia biológica frente a microrganismos específicos. Esse parâmetro, embora amplamente utilizado, reflete um resultado fenotípico global, resultante da interação simultânea de múltiplos constituintes com diferentes alvos celulares (SILVA et al., 2024).

A interpretação mecanística desses resultados experimentais apresenta limitações inerentes, uma vez que não discrimina, em nível molecular, quais componentes são responsáveis pelos efeitos observados nem quais vias celulares são predominantemente afetadas. A complexidade das misturas e a possibilidade de interações sinérgicas entre compostos tornam ainda mais desafiadora

a identificação de mecanismos de ação específicos a partir de dados exclusivamente experimentais (DA SILVA et al., 2020).

Abordagens computacionais, particularmente o docking molecular, oferecem uma perspectiva complementar ao permitir a investigação de interações entre ligantes e alvos proteicos em nível atômico (ASSAGGAF et al., 2023). Esse método baseia-se na predição da orientação conformacional (pose) de uma molécula dentro do sítio ativo de uma proteína, associada a estimativas de energia livre de ligação (ΔG), que refletem a afinidade teórica entre ligante e alvo. Embora essas estimativas sejam aproximadas e dependam de funções de pontuação simplificadas, o docking fornece informações relevantes sobre possíveis modos de interação, incluindo ligações hidrofóbicas, interações π e contatos com resíduos cataliticamente importantes (SHARMA; KAUR, 2022).

No contexto de *S. aureus*, diferentes proteínas estão envolvidas em processos essenciais à sobrevivência e virulência bacteriana, incluindo enzimas associadas à biossíntese da parede celular, como a proteína ligadora de penicilina PBP2a, proteínas estruturais envolvidas na divisão celular, como FtsZ, além de alvos metabólicos como FabI, DHFR e proteases como ClpP (ARAÚJO et al., 2021). A avaliação da interação de constituintes de óleos essenciais com esses alvos permite explorar a possibilidade de interferência em múltiplas vias celulares, compatível com o caráter multifatorial da atividade antimicrobiana desses sistemas (SHARMA et al., 2025).

Em organismos fúngicos, mecanismos análogos podem ser considerados, com destaque para enzimas envolvidas na biossíntese de esteróis, como a lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51), amplamente reconhecida como alvo de antifúngicos. A análise de interações entre compostos voláteis e esse tipo de proteína contribui para a compreensão do potencial antifúngico de óleos essenciais em nível molecular, ainda que em caráter preditivo (MEDEIROS, 2018).

A combinação entre dados experimentais e resultados de docking não implica validação direta de mecanismos de ação, mas permite a construção de hipóteses mecanísticas plausíveis, especialmente quando padrões consistentes de interação são observados entre diferentes compostos e múltiplos alvos (RIGBY, 2024). Essa abordagem integrada é particularmente relevante para sistemas químicos complexos, nos quais a atividade biológica emerge da ação combinada de diversos constituintes, reforçando a interpretação de óleos essenciais como sistemas de atuação potencialmente multialvo (LAHLOU, 2026).

1.3. DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA E HIPÓTESE DE TRABALHO

Apesar do avanço no estudo de óleos essenciais, permanece limitada a compreensão integrada entre variabilidade química intraespecífica, atividade antimicrobiana e interação molecular com alvos biológicos (BAKKALI et al., 2008). Em particular, há uma lacuna no entendimento de como diferentes partes vegetais de uma mesma espécie podem influenciar esses parâmetros de forma sistemática (DHIFI et al., 2016; HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012; ANGANE et al., 2022)

Diante desse cenário, esta tese parte da hipótese de que diferentes órgãos de *M. verrucosa* apresentam perfis químicos distintos em seus óleos essenciais, o que resulta em variações na atividade antimicrobiana e no padrão de interação com alvos moleculares relevantes, configurando um comportamento potencialmente multialvo.

FUNDAMENTOS DA INVESTIGAÇÃO: PRODUTOS NATURAIS, *Mimosa* E AÇÃO MULTIALVO

INTRODUÇÃO

O gênero *Mimosa* (Fabaceae) constitui um dos grupos mais representativos da subfamília Mimosoideae, com aproximadamente 540 espécies predominantemente distribuídas em regiões neotropicais (SILVA et al., 2011). Sua ocorrência abrange diferentes biomas sul-americanos, com destaque para Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, nos quais as espécies exibem elevada plasticidade ecológica e capacidade de ocupação de nichos ambientais contrastantes (CAMARGO-RICALDE et al., 2001). Essa ampla distribuição geográfica está associada a um conjunto de estratégias adaptativas que incluem modificações morfofisiológicas, ajustes metabólicos e interações simbióticas com microrganismos do solo (SILVEIRA, 2015).

No bioma Caatinga, caracterizado por regimes hídricos irregulares, alta incidência de radiação solar e solos frequentemente pobres em matéria orgânica, as espécies de *Mimosa* estão submetidas a intensas pressões seletivas (IWAZAKI, 2008). Essas condições favorecem o desenvolvimento de mecanismos de tolerância ao estresse abiótico, incluindo redução da área foliar efetiva, presença de estruturas de proteção mecânica, controle estomático eficiente e estratégias de armazenamento hídrico. Paralelamente, a limitação de recursos e a elevada pressão por herbivoria e colonização microbiana contribuem para a seleção de vias metabólicas especializadas voltadas à produção de compostos secundários com funções defensivas (JUNIOR, 2024).

A associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio, especialmente do gênero *Rhizobium*, representa um dos principais fatores que sustentam o sucesso ecológico das espécies de *Mimosa* (JUNIOR, 2014). Essa interação possibilita a fixação biológica de nitrogênio atmosférico, permitindo o estabelecimento em solos com baixa disponibilidade de nutrientes. A eficiência dessa simbiose influencia diretamente o crescimento vegetal e a dinâmica de colonização de áreas degradadas, conferindo ao gênero relevância ecológica em processos de sucessão vegetal e recuperação ambiental (PAULO, 2016).

Do ponto de vista evolutivo, a diversidade observada no gênero reflete processos de radiação adaptativa associados à ocupação de ambientes heterogêneos. A variabilidade intra e interespecífica, tanto em características morfológicas quanto químicas, sugere que diferentes

linhagens tenham desenvolvido estratégias metabólicas específicas em resposta a pressões ambientais locais. Essa heterogeneidade se manifesta, por exemplo, na variação da composição de metabólitos secundários entre populações geograficamente distintas, indicando que fatores edafoclimáticos podem atuar como moduladores da biossíntese de compostos bioativos (OLIVEIRA, 2018; SILVA, 2020).

A produção de metabólitos secundários em *Mimosa* está intimamente relacionada a funções ecológicas, incluindo defesa contra herbívoros, inibição do crescimento de microrganismos competidores e mediação de interações planta-microrganismo (OLIVEIRA, et al., 2020). Compostos fenólicos, alcaloides e terpenoides desempenham papéis centrais nesses processos, atuando tanto como barreiras químicas quanto como moléculas sinalizadoras (NUNES et al., 2008). A expressão diferencial dessas vias metabólicas, influenciada por fatores ambientais e fisiológicos, contribui para a formação de perfis químicos distintos entre espécies, órgãos vegetais e estágios de desenvolvimento (PEREIRA et al., 2019).

Esse conjunto de características posiciona o gênero *Mimosa* como um modelo relevante para estudos integrados envolvendo ecologia química, adaptação ambiental e prospecção de compostos bioativos. A compreensão das relações entre ambiente, diversidade metabólica e função biológica representa um eixo fundamental para a exploração racional do potencial químico dessas espécies, especialmente em biomas como a Caatinga, onde condições extremas tendem a favorecer a produção de metabólitos com elevada atividade biológica (LIMA; SANTOS; LA PORTA, 2018).

2.1 Aspectos taxonômicos e morfológicos do gênero *Mimosa*

O gênero *Mimosa* pertence à família Fabaceae, ordem Fabales, e apresenta grande diversidade estrutural, incluindo espécies arbóreas, arbustivas, herbáceas e lianescentes. A morfologia das espécies é caracterizada, de modo geral, por folhas bipinadas, frequentemente associadas a movimentos nictinásticos e tigmonásticos em algumas espécies, além da presença variável de acúleos ao longo dos ramos (AMORIM et al., 2016).

As inflorescências são predominantemente do tipo espiga ou capítulo, com flores pequenas, geralmente bissexuadas, nas quais os estames se destacam pela projeção além da corola. Os frutos apresentam-se como craspédios, podendo variar quanto à forma, textura e grau de segmentação,

enquanto as sementes são tipicamente plano-compressas, com variação na coloração e no tamanho (CÓRDULA; MORIM; ALVES, 2014).



Figura 1. Flores, frutos e folhas de *M. verrucosa* coletadas no município de Jequié. Fotografia registrada pelo autor em Jequié – BA (abril de 2024).

A diversidade morfológica observada no gênero está diretamente relacionada à sua capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais. Entretanto, a sobreposição de características estruturais entre espécies pode dificultar sua delimitação taxonômica, tornando necessárias abordagens integradas que incluam análises morfológicas, anatômicas e moleculares para uma identificação precisa (GURGEL et al., 2012).

2.2 Diversidade fitoquímica do gênero *Mimosa*

Estudos fitoquímicos conduzidos com espécies do gênero *Mimosa* demonstram a presença de uma ampla variedade de metabólitos secundários, incluindo flavonoides, alcaloides, taninos, saponinas, terpenoides e ácidos fenólicos. Essa diversidade química está associada a diferentes funções biológicas e ecológicas, além de contribuir para o potencial farmacológico dessas espécies (DE SOUSA et al., 2025).

Entre os compostos mais investigados, destacam-se os flavonoides, frequentemente associados à atividade antioxidante e à modulação de processos inflamatórios. Alcaloides, como a mimosina, apresentam relevância biológica devido à sua capacidade de interferir em processos

celulares, incluindo proliferação e metabolismo. Taninos e saponinas, por sua vez, têm sido relacionados a atividades antimicrobianas e cicatrizantes, frequentemente descritas em estudos com extratos vegetais (SILVA et al., 2019).

A diversidade estrutural desses metabólitos reflete a complexidade bioquímica do gênero, sendo estimado que mais de uma centena de compostos distintos já tenham sido identificados em diferentes espécies. Essa riqueza fitoquímica reforça o interesse científico no gênero como fonte de moléculas bioativas e como modelo para estudos envolvendo produtos naturais (PEÑA et al., 2006).

2.3 Óleos essenciais: localização, composição e variabilidade

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos voláteis produzidos por plantas e armazenados em estruturas especializadas, como tricomas glandulares, cavidades secretoras e idioblastos. Em espécies do gênero *Mimosa*, esses compostos podem ser encontrados em diferentes órgãos vegetais, incluindo folhas, flores, caules e raízes, refletindo funções ecológicas específicas (PERRIOT et al., 2010).

A composição química dos óleos essenciais é predominantemente constituída por monoterpenos e sesquiterpenos, derivados das vias biossintéticas do mevalonato e do metileritritol fosfato. A proporção desses compostos pode variar significativamente em função de fatores ambientais, fisiológicos e genéticos, além da matriz vegetal utilizada para extração (ŠERÁ et al., 2021).

Diferenças entre órgãos vegetais representam um fator determinante na variabilidade química observada. Folhas tendem a apresentar compostos associados à defesa contra herbivoria e estresse abiótico, enquanto flores e frutos podem conter substâncias relacionadas à atração de polinizadores ou proteção contra microrganismos. Essa heterogeneidade contribui para a diversidade funcional dos óleos essenciais e influencia diretamente suas propriedades biológicas (AQUINO et al., 2017).

2.4 Atividade antimicrobiana de espécies do gênero *Mimosa*

2.4.1 Atividade antifúngica

Extratos vegetais e frações químicas de espécies do gênero *Mimosa* têm demonstrado atividade antifúngica frente a diferentes espécies de relevância clínica, com destaque para leveduras do gênero *Candida*, incluindo *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* e *Candida auris*, uma espécie emergente associada a surtos hospitalares e elevada resistência a antifúngicos convencionais (GÓMEZ-GAVIRIA; RAMÍREZ-SOTELO; MORA-MONTES, 2022). Ensaios *in vitro* indicam que esses extratos são capazes de inibir o crescimento fúngico em concentrações moderadas, sugerindo potencial terapêutico relevante, especialmente no contexto de infecções oportunistas (PEREIRA et al., 2009).

A relevância de produtos naturais como fontes de agentes antifúngicos tem sido amplamente documentada. Óleos essenciais de espécies como *Melaleuca alternifolia* (tea tree), *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Origanum vulgare* (orégano) apresentam atividade significativa contra *C. albicans* e outros fungos patogênicos, frequentemente atribuída à presença de compostos como terpinen-4-ol, timol e carvacrol (OLIVEIRA, 2016). De forma semelhante, extratos de *Azadirachta indica* (nim) e *Allium sativum* (alho) têm demonstrado ação antifúngica relevante, envolvendo mecanismos que incluem dano à membrana celular e interferência em processos metabólicos essenciais. No contexto brasileiro, espécies adaptadas a condições semiáridas, como *Lippia sidoides* e *Croton blanchetianus*, também têm apresentado resultados promissores frente a fungos de importância clínica, reforçando o potencial da flora da Caatinga como fonte de compostos bioativos (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007; SILVA et al., 2020).

A importância desses achados torna-se ainda mais evidente diante do aumento global da resistência antifúngica, que compromete a eficácia de classes amplamente utilizadas, como os azóis, equinocandinas e polienos (SHOKRI, 2011). Cepas resistentes de *Candida*, bem como fungos filamentosos como *Aspergillus fumigatus* e dermatófitos como *T. rubrum*, têm sido frequentemente relatados em ambientes clínicos, ampliando a necessidade por novas abordagens terapêuticas baseadas em mecanismos alternativos (CHEN; SHEN; WU, 2009).

Os mecanismos de ação associados a extratos de *Mimosa* envolvem, predominantemente, a interação com a membrana plasmática fúngica, particularmente com o ergosterol, principal esterol estrutural dessas células (MA et al., 2006). Essa interação pode resultar em alterações na permeabilidade da membrana, perda de integridade estrutural e consequente comprometimento da viabilidade celular. Paralelamente, evidências experimentais sugerem a possível inibição de enzimas-chave da via de biossíntese de esteróis, como a lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51), alvo

clássico de antifúngicos azólicos. A modulação dessa enzima compromete a formação de ergosterol, levando ao acúmulo de intermediários tóxicos e disfunção da membrana (LEPESHEVA; VILLALTA; WATERMAN, 2011).

Além dos efeitos sobre a membrana, estudos indicam que compostos fenólicos e saponinas podem atuar na desestabilização de estruturas celulares adicionais, incluindo parede celular e sistemas enzimáticos intracelulares. Há relatos de interferência em processos como formação de biofilmes, transição morfológica em *Candida albicans* (levedura-hifa) e produção de fatores de virulência, aspectos diretamente relacionados à patogenicidade e persistência das infecções fúngicas (TRÖSKEN et al., 2006).

A presença de flavonoides, taninos e saponinas nos extratos de *Mimosa* está frequentemente associada a esses efeitos, sugerindo que a atividade antifúngica não resulta de um único composto, mas da ação combinada de múltiplos constituintes. Esse comportamento é consistente com o conceito de sistemas químicos complexos, nos quais interações sinérgicas ou aditivas podem potencializar a atividade biológica e reduzir a probabilidade de desenvolvimento de resistência (ZHANG et al., 2011).

Dessa forma, a investigação de espécies do gênero *Mimosa*, especialmente aquelas adaptadas a ambientes extremos como a Caatinga, emerge como uma estratégia promissora para a identificação de novos agentes antifúngicos (ROCHA et al., 2024). As condições ambientais desse bioma, marcadas por estresse hídrico, elevada radiação e limitações nutricionais, podem favorecer a seleção de metabólitos com funções defensivas intensificadas, ampliando o potencial bioativo dessas espécies frente a microrganismos patogênicos (MONÇÃO; ARAÚJO; CITÓ, 2019).

2.4.2 Resistência microbiana e limitações terapêuticas

A atividade antibacteriana de espécies do gênero *Mimosa* tem sido amplamente descrita frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo patógenos de relevância clínica como *S. aureus* e *Escherichia coli* (YUAN et al., 2011). Em particular, *S. aureus* destaca-se pela sua capacidade de desenvolver resistência a múltiplas classes de antibióticos, incluindo cepas resistentes à metilina (MRSA), o que reforça a necessidade de novas abordagens terapêuticas (RIAZ et al., 2011). Ensaios experimentais demonstram que extratos vegetais e óleos essenciais

podem apresentar efeitos bacteriostáticos ou bactericidas, dependendo da concentração, composição química e da susceptibilidade da cepa testada (YUNIATI et al., 2018).

Os mecanismos de ação associados a compostos presentes em *Mimosa* envolvem múltiplos níveis de interação celular (MANDAL et al., 2022). A desorganização da membrana citoplasmática constitui um dos efeitos mais frequentemente descritos, resultando em aumento da permeabilidade, perda de íons e comprometimento da homeostase celular. Compostos lipofílicos, especialmente terpenoides, são capazes de se inserir na bicamada fosfolipídica, alterando sua fluidez e integridade estrutural (SANTIAGO et al., 2025).

Além dos efeitos sobre a membrana, há evidências de interferência em alvos intracelulares específicos. A inibição de enzimas envolvidas na biossíntese da parede celular, como proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), incluindo a PBP2a em cepas resistentes, compromete a formação adequada do peptidoglicano (CHUA; DERETIC, 2004; FAIR; TOR, 2014). A perturbação do processo de divisão celular também tem sido associada à interação com proteínas como FtsZ, essencial para a formação do anel de divisão bacteriana (GRAY; WENZEL, 2020).

Compostos fenólicos, flavonoides e saponinas desempenham papel relevante nessas interações, promovendo tanto efeitos inespecíficos, como danos estruturais à membrana, quanto interações mais direcionadas com proteínas e enzimas intracelulares (CUSHNIE; LAMB, 2005). Flavonoides, por exemplo, têm sido descritos como inibidores de enzimas bacterianas e moduladores de sistemas de efluxo, enquanto saponinas podem intensificar a permeabilização da membrana, facilitando a entrada de outros compostos ativos (CUSHNIE; CUSHNIE; LAMB, 2014).

A atividade antibacteriana de produtos naturais é frequentemente reforçada por efeitos combinatórios entre seus constituintes (LEPORE et al., 2011). Esse comportamento multifatorial resulta de interações sinérgicas ou aditivas, nas quais compostos majoritários podem atuar na perturbação inicial da célula bacteriana, enquanto componentes minoritários interagem com alvos específicos, ampliando o espectro de ação (ULTEE; KETS; SMID, 1999). Esse padrão de atividade é particularmente relevante frente a microrganismos com elevada capacidade adaptativa, como *S. aureus*, reduzindo a probabilidade de desenvolvimento de resistência (BASSOLÉ; JULIANI, 2012).

A diversidade de compostos presentes nos extratos de *Mimosa* sugere, portanto, um modo de ação multialvo, no qual diferentes componentes atuam simultaneamente sobre múltiplos alvos

celulares (BURT, 2004). Essa característica posiciona o gênero como uma fonte promissora de moléculas bioativas com potencial aplicação no desenvolvimento de novas estratégias antimicrobianas, especialmente no contexto de resistência bacteriana crescente (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012; ANGANE et al., 2022).

2.5 Óleos essenciais em sistemas multialvo

A atividade biológica de óleos essenciais não pode ser atribuída a um único composto ou a um mecanismo isolado. Esses sistemas correspondem a misturas químicas altamente complexas, constituídas predominantemente por terpenoides e compostos aromáticos voláteis, cujas interações resultam em efeitos biológicos emergentes que não podem ser previstos a partir da ação individual de seus constituintes. Nesse contexto, interações sinérgicas, aditivas e, em menor grau, antagonistas, desempenham papel central na modulação da atividade biológica observada (BAKKALI et al., 2008; RAUT; KARUPPAYIL, 2014).

Do ponto de vista mecanístico, a ação de óleos essenciais envolve múltiplos níveis de interação celular (ISKANDAR et al., 2025). A destabilização inicial de membranas biológicas, frequentemente promovida por compostos majoritários lipofílicos, resulta em alterações na permeabilidade, perda de gradientes eletroquímicos e comprometimento da homeostase celular (SWAMY; AKHTAR; SINNIHA, 2016a). Esse efeito facilita a penetração de compostos minoritários, que passam a interagir com alvos intracelulares mais específicos, incluindo enzimas metabólicas, proteínas estruturais e sistemas de regulação celular (FALLEH, 2025).

Além dos efeitos diretos sobre membranas e proteínas, há evidências de que constituintes de óleos essenciais podem modular processos celulares complexos, como formação de biofilmes, sistemas de *quorum sensing* e expressão de fatores de virulência em bactérias, bem como transições morfológicas e adaptação ao estresse em fungos. Esses efeitos ampliam o espectro de ação dessas misturas e contribuem para sua eficácia frente a microrganismos com elevada plasticidade fisiológica (GUILLÍN et al., 2021; TOUATI et al., 2025).

Do ponto de vista farmacológico e químico, os óleos essenciais podem ser compreendidos como sistemas dinâmicos, nos quais a composição qualitativa e quantitativa dos constituintes determina o perfil de atividade observado (RAN et al., 2018). Pequenas variações na proporção entre compostos majoritários e minoritários podem resultar em mudanças significativas na

atividade biológica, evidenciando a importância de abordagens integradas que considerem a mistura como unidade funcional (ANDRADE-OCHOA et al., 2021).

Esse entendimento reforça a relevância de estratégias que combinem dados experimentais com abordagens *in silico*, permitindo a avaliação do potencial de interação de múltiplos constituintes com diferentes alvos biológicos. A análise integrada desses sistemas contribui para a formulação de hipóteses mecanísticas mais consistentes, especialmente no contexto de microrganismos de interesse clínico, como *S. aureus* e espécies do gênero *Candida*, nos quais a atuação multialvo pode representar uma vantagem terapêutica significativa (FORLI et al., 2016; EBERHARDT et al., 2021; XIONG et al., 2021).

2.6 Abordagens *in silico* aplicadas a produtos naturais

Ferramentas computacionais, como o docking molecular, têm sido amplamente utilizadas na investigação de interações entre compostos naturais e alvos biológicos, especialmente no contexto da prospecção de moléculas bioativas. Essa abordagem permite estimar a afinidade de ligação por meio de funções de pontuação (*scoring functions*), além de prever modos de interação em nível atômico, incluindo ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, forças de van der Waals e interações π - π (AJIBADE; ZOU, 2024). Esses parâmetros fornecem uma visão preliminar do potencial de um composto em interagir com sítios ativos ou regiões alostéricas de proteínas-alvo (FERREIRA et al., 2015).

No contexto bacteriano, particularmente em *S. aureus*, proteínas envolvidas em processos essenciais à sobrevivência e virulência têm sido amplamente exploradas em estudos de docking (LIN et al., 2024). Entre essas, destacam-se as proteínas ligadoras de penicilina, como a PBP2a, associada à resistência à meticilina, a proteína FtsZ, fundamental para a formação do anel de divisão celular, a enoyl-ACP redutase (FabI), envolvida na biossíntese de ácidos graxos, e a diidrofolato redutase (DHFR), essencial para a síntese de nucleotídeos (WANG et al., 2021). Proteínas relacionadas à proteólise e regulação da virulência, como ClpP, também têm sido consideradas alvos relevantes. A avaliação da interação de compostos naturais com esses sistemas permite explorar diferentes vias metabólicas e estruturais simultaneamente, reforçando o conceito de abordagem multialvo (GAO et al., 2026).

Em fungos, enzimas associadas à biossíntese de esteróis, como a lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51), representam alvos clássicos em estudos de docking, dada sua importância na manutenção da integridade da membrana celular (RABELO et al., 2017). A inibição dessa enzima compromete a produção de ergosterol, resultando em disfunções estruturais e metabólicas. Além da CYP51, outros alvos vêm sendo progressivamente explorados, incluindo proteínas envolvidas na síntese da parede celular, transporte de membrana e regulação do estresse oxidativo, ampliando o escopo das abordagens *in silico* no estudo de antifúngicos (RUMA et al., 2022).

Apesar de sua utilidade, os resultados obtidos por docking molecular apresentam caráter preditivo e devem ser interpretados com cautela. Fatores como flexibilidade proteica limitada, simplificações nos modelos de solvatação e restrições das funções de pontuação podem impactar a precisão das estimativas de afinidade (IQBAL et al., 2023). Por essa razão, a validação dos protocolos por meio de redocking de ligantes co-cristalizados e análise de parâmetros como RMSD constitui etapa fundamental para garantir a confiabilidade dos resultados (SAKITA et al., 2023).

A integração entre dados experimentais, como ensaios de concentração inibitória mínima (MIC), e análises computacionais permite a construção de hipóteses mecanísticas mais robustas (SARMA et al., 2023). Essa abordagem combinada possibilita correlacionar perfis de atividade biológica com padrões de interação molecular, contribuindo para a identificação de compostos prioritários e para a compreensão do potencial multialvo de sistemas complexos, como os óleos essenciais. Em conjunto, essas estratégias ampliam a capacidade de interpretação dos dados e fortalecem a base científica para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos de origem natural (GOLCHHA et al., 2024).

2.6.1 Fundamentos metodológicos e ferramentas computacionais em análises *in silico*

As abordagens *in silico* aplicadas ao estudo de produtos naturais envolvem um conjunto de ferramentas computacionais destinadas à predição de propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e interações moleculares com alvos biológicos. Entre essas abordagens, o docking molecular destaca-se como uma das metodologias mais amplamente utilizadas, permitindo a investigação da afinidade e do modo de ligação entre ligantes e macromoléculas, geralmente proteínas (BANJARE et al., 2023).

O processo de docking baseia-se na exploração conformacional do ligante dentro do sítio ativo da proteína-alvo, considerando diferentes orientações e conformações possíveis. Algoritmos de busca, como métodos genéticos, Monte Carlo e gradientes locais, são empregados para amostrar o espaço conformacional, enquanto funções de pontuação (scoring functions) são utilizadas para estimar a energia de ligação e classificar as poses geradas. Essas funções consideram contribuições energéticas associadas a interações eletrostáticas, forças de van der Waals, ligações de hidrogênio e efeitos hidrofóbicos (SPECK-PLANCHE; KLEANDROVA; SCOTTI, 2012).

Diversos softwares têm sido empregados em estudos de docking, destacando-se ferramentas como AutoDock® e AutoDock Vina®, amplamente utilizadas devido à sua eficiência computacional e robustez na predição de interações ligante-receptor. Outras plataformas, como Glide (Schrödinger)®, Gold e Molecular Operating Environment (MOE)®, também são utilizadas, oferecendo diferentes abordagens algorítmicas e níveis de precisão. A escolha do software está frequentemente associada ao equilíbrio entre custo computacional, acessibilidade e complexidade do sistema analisado (MURUGAN et al., 2020; RAJ; VARADWAJ, 2016).

A preparação das estruturas moleculares constitui etapa crítica no fluxo de trabalho *in silico*. Proteínas obtidas de bancos de dados como o Protein Data Bank (PDB) devem ser previamente tratadas, incluindo remoção de moléculas de água não estruturais, adição de hidrogênios polares, definição de estados de protonação e, quando necessário, reconstrução de resíduos ausentes (LAVECCHIA; CERCHIA, 2016; MURUGAN et al., 2020). De forma semelhante, os ligantes devem ser otimizados geometricamente, com definição adequada de cargas parciais e graus de liberdade rotacional (YOUSUF et al., 2017).

A definição do sítio de ligação pode ser realizada com base na posição de ligantes co-cristalizados ou por meio de predição de cavidades. A validação do protocolo de docking é geralmente conduzida por redocking, no qual o ligante original é reposicionado no sítio ativo, sendo a qualidade da predição avaliada por meio do desvio quadrático médio (RMSD), com valores inferiores a 2,0 Å considerados indicativos de boa reprodutibilidade (HASAN et al., 2022; TANVEER et al., 2022).

Além do docking molecular, outras ferramentas *in silico* podem ser empregadas para complementar a análise, incluindo predições de propriedades farmacocinéticas (ADMET), avaliação de toxicidade e estudos de dinâmica molecular, que permitem explorar a estabilidade temporal dos complexos formados (KARAKOTI et al., 2022). Em sistemas complexos, como óleos

essenciais, essas abordagens possibilitam a triagem de múltiplos constituintes e a identificação de padrões de interação com diferentes alvos biológicos (MUSLIKH et al., 2022).

Embora essas metodologias forneçam informações valiosas em nível molecular, seus resultados devem ser interpretados como preditivos, sendo essencial sua integração com dados experimentais. A combinação entre ensaios biológicos e análises computacionais permite uma abordagem mais abrangente, contribuindo para a construção de hipóteses mecanísticas e para a seleção de compostos com maior potencial bioativo (WARUDE et al., 2023).

2.6.2 Estratégias de triagem multialvo em produtos naturais

A abordagem multialvo tem emergido como um paradigma relevante na investigação de produtos naturais, especialmente no contexto de sistemas químicos complexos, como extratos vegetais e óleos essenciais. Diferentemente da estratégia tradicional “um fármaco–um alvo”, essa abordagem considera a possibilidade de múltiplos compostos interagirem simultaneamente com diferentes proteínas ou vias metabólicas, resultando em efeitos biológicos integrados e, frequentemente, mais robustos (DENG et al., 2017).

No caso de produtos naturais, essa perspectiva é particularmente pertinente, uma vez que essas matrizes são constituídas por misturas de compostos com diferentes propriedades físico-químicas e perfis de interação molecular. A diversidade estrutural presente nesses sistemas favorece a ocorrência de múltiplas interações com alvos biológicos distintos, incluindo enzimas, proteínas estruturais e sistemas regulatórios celulares. Essa característica tem sido associada à capacidade desses compostos de atuar sobre diferentes etapas do metabolismo microbiano, contribuindo para efeitos antimicrobianos mais amplos (GRISONI et al., 2019).

As estratégias de triagem multialvo baseadas em *in silico* envolvem, geralmente, a avaliação de um conjunto de compostos frente a uma biblioteca de alvos biológicos previamente selecionados (ZHENG et al., 2014). Esse processo pode ser conduzido por meio de docking molecular sistemático, no qual cada ligante é testado contra múltiplas proteínas, permitindo a construção de perfis de afinidade e a identificação de padrões de interação. A análise comparativa desses perfis possibilita a priorização de compostos com potencial de atuação simultânea sobre diferentes alvos, bem como a identificação de alvos mais suscetíveis à interação com classes específicas de metabólitos (MAYR et al., 2020).

No contexto bacteriano, a seleção de alvos pode abranger proteínas envolvidas em processos essenciais (QURESHI et al., 2021; REHMAN, 2025). A avaliação simultânea de proteínas essenciais permite explorar diferentes níveis da fisiologia bacteriana, ampliando a compreensão sobre possíveis mecanismos de ação. Em fungos, abordagens semelhantes podem ser aplicadas a enzimas como a lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51), entre outros alvos envolvidos na manutenção da integridade celular (BOGARI et al., 2023).

Além da análise individual de afinidade de ligação, estratégias multialvo podem incorporar abordagens estatísticas e computacionais adicionais, como análise de clusters, mapas de calor (heatmaps) e padronização por escores (Z-score), permitindo a visualização de padrões de interação entre compostos e múltiplos alvos. Essas ferramentas facilitam a identificação de compostos com comportamento consistente entre diferentes proteínas, bem como a detecção de perfis seletivos ou preferenciais (AGONI; SOLIMAN, 2021).

A interpretação desses dados deve considerar não apenas os valores absolutos de energia de ligação, mas também a consistência dos resultados entre diferentes alvos e a plausibilidade biológica das interações propostas. Compostos que apresentam afinidade moderada por múltiplos alvos podem ser tão relevantes quanto aqueles com alta afinidade por um único alvo, especialmente no contexto de sistemas multialvo (KOEBERLE; WERZ, 2014).

Essa abordagem apresenta implicações importantes para o desenvolvimento de agentes antimicrobianos, uma vez que a atuação simultânea sobre múltiplos sistemas celulares pode dificultar o desenvolvimento de resistência. A necessidade de adaptações múltiplas por parte do microrganismo reduz a probabilidade de seleção de cepas resistentes, tornando essa estratégia particularmente interessante frente a patógenos com elevada plasticidade genética e metabólica (MARUCA et al., 2017).

No contexto de óleos essenciais, a triagem multialvo assume um papel ainda mais relevante, considerando que diferentes constituintes podem atuar de forma complementar. Compostos majoritários podem promover alterações iniciais na integridade celular, enquanto componentes minoritários interagem com alvos intracelulares específicos, configurando um modelo de ação cooperativa. A integração entre dados experimentais e análises *in silico* permite, portanto, uma compreensão mais abrangente desses sistemas, contribuindo para a identificação de compostos prioritários e para a formulação de hipóteses mecanísticas consistentes.

2.7 Síntese crítica e lacunas do conhecimento

A literatura disponível demonstra que o gênero *Mimosa* constitui um reservatório expressivo de diversidade fitoquímica, com destaque para sistemas metabólicos capazes de gerar compostos bioativos em resposta a condições ambientais adversas, como aquelas observadas no bioma Caatinga (MONÇÃO; ARAÚJO; CITÓ, 2019).

Embora múltiplos estudos tenham evidenciado a atividade antimicrobiana de extratos e frações dessas espécies, a compreensão mecanística desses efeitos permanece fragmentada, frequentemente limitada a descrições fenotípicas ou à atribuição de atividade a classes químicas de forma generalista. Essa limitação é particularmente relevante no contexto de óleos essenciais, cuja natureza multicomponente impõe um desafio adicional à interpretação de seus efeitos biológicos, dificultando a distinção entre contribuições individuais e interações sinérgicas ou aditivas.

Paralelamente, abordagens *in silico* têm ampliado a capacidade de investigação em nível molecular, permitindo a exploração de interações entre compostos naturais e múltiplos alvos biológicos; no entanto, tais estratégias ainda são, em grande parte, aplicadas de forma dissociada de dados experimentais, restringindo sua aplicabilidade interpretativa.

Nesse cenário, persiste uma lacuna significativa na integração entre caracterização química, avaliação biológica e modelagem molecular, especialmente para espécies pouco exploradas como *M. verrucosa*. Assim, o presente estudo propõe uma abordagem integrada, baseada na análise combinada de composição química, atividade antimicrobiana e interações moleculares preditivas, com o objetivo de investigar o potencial multialvo de seus constituintes e contribuir para a construção de hipóteses mecanísticas mais consistentes no contexto de produtos naturais.

2.8 OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICOS

O objetivo geral desse estudo é investigar a variabilidade química e o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais de diferentes partes vegetais de *M. verrucosa*, integrando análises experimentais e abordagens de docking molecular para avaliar suas interações com alvos biológicos relevantes.

Seus objetivos específicos são descritos abaixo:

- Extrair óleos essenciais de diferentes partes vegetais de *Mimosa verrucosa* Benth.

- Caracterizar e comparar a composição química dos óleos essenciais por GC-MS.
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais frente a cepas bacterianas e fúngicas selecionadas.
- Determinar as concentrações inibitórias mínimas dos óleos essenciais contra os microrganismos testados.
- Investigar possíveis efeitos de associação entre os óleos essenciais e fármacos antimicrobianos de referência.
- Avaliar, por docking molecular, a interação dos principais constituintes químicos com alvos biológicos relevantes.
- Integrar os dados químicos, microbiológicos e computacionais para discutir o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais de *M. verrucosa*.

3.0 ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL E COMPUTACIONAL

Os dados gerados nesse estudo serão organizados de forma a contemplar, inicialmente, a composição química das amostras, seguida dos ensaios biológicos *in vitro* e das análises *in silico* por docking molecular. Essa abordagem visa fornecer uma base integrada de evidências que permita explorar, de maneira sistemática, a hipótese de atuação multialvo proposta neste estudo. A interpretação detalhada e a articulação entre esses resultados serão desenvolvidas nos tópicos seguintes, no qual se busca compreender os possíveis mecanismos envolvidos na atividade biológica observada.

3.1 Material vegetal e preparo das amostras

Os materiais vegetais de *M. verrucosa* (folhas e frutos) foram coletados no município de Jequié, Bahia, Brasil, sob as coordenadas geográficas -13.8933 e -40.0645, em abril de 2024, durante o período de frutificação plena, logo após a fase de floração, quando as vagens apresentavam maior desenvolvimento volumétrico e estágio avançado de maturação fisiológica. A escolha desse período visou reduzir a variabilidade associada ao estágio fenológico e maximizar a representatividade química do material vegetal empregado nas etapas subsequentes de extração e caracterização.

A identificação botânica da espécie foi realizada com base em caracteres morfológicos diagnósticos, incluindo padrão de ramificação, presença de acúleos, morfologia foliar bipinada, tipo de inflorescência e características dos frutos, em conformidade com a circunscrição taxonômica adotada para o gênero *Mimosa* no trabalho. O material testemunho foi depositado no Herbário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, campus de Jequié (HUESB), sob número de exsicata HUESB - 12727, assegurando a rastreabilidade taxonômica e a reprodutibilidade do estudo. O acesso ao patrimônio genético e o uso do material botânico no presente trabalho encontram-se regularizados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), sob cadastro ADA5ACA.

Após a coleta, o material vegetal foi acondicionado de forma a minimizar exposição excessiva à radiação solar, aquecimento e perda de constituintes voláteis durante o transporte. Em seguida, os frutos foram encaminhados ao laboratório de Instrumentação Analítica (LAIA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), onde foram realizadas as etapas iniciais de triagem, limpeza, secagem, fragmentação e acondicionamento pré-extrativo.

Nessa etapa, procedeu-se à seleção manual do material, priorizando frutos íntegros, livres de danos mecânicos evidentes, sinais de colonização fúngica, deterioração, perfurações por insetos ou alterações visuais que pudessem indicar degradação fisiológica ou interferência biótica no perfil químico. O mesmo procedimento foi realizado para as folhas. Também se buscou uniformidade quanto ao tamanho, coloração e grau de maturação, com o objetivo de reduzir a heterogeneidade intra-amstral.

Posteriormente, aproximadamente 1,70 kg de folhas e frutos recém-coletados foram submetidos à secagem em estufa com circulação de ar forçada, a 38 °C, até obtenção de massa constante, resultando em aproximadamente 1,30 kg de material seco para os frutos e 1,20 para as folhas. A adoção dessa temperatura relativamente branda foi deliberada, visando favorecer a remoção gradual da umidade residual sem promover perdas expressivas de metabólitos voláteis termossensíveis ou alterações químicas relevantes na fração aromática. Esse procedimento também contribuiu para a padronização da umidade do material vegetal, aspecto importante para a reprodutibilidade do rendimento da hidrodestilação e da composição do óleo essencial.

Após a secagem, os materiais foram fragmentados manualmente em unidades menores, com o propósito de aumentar a área superficial de contato entre o material vegetal e a água durante o processo de extração. Essa etapa favorece a ruptura parcial das estruturas vegetais e melhora a

eficiência da hidrodestilação, facilitando a liberação dos constituintes voláteis (BAŞER; BUCHBAUER, 2015).

O material seco e fragmentado foi então acondicionado em recipientes adequados, protegidos da luz e da umidade, permanecendo armazenado sob condições controladas até a etapa de extração do óleo essencial. Esse cuidado foi adotado para minimizar processos de oxidação, adsorção de umidade e volatilização de compostos, preservando a integridade química da amostra até sua utilização experimental.

3.2 Obtenção do óleo essencial

A extração dos óleos essenciais das folhas e frutos de *M. verrucosa* foi realizada por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado, utilizando-se o material vegetal previamente seco e fragmentado (ELYEMNI et al., 2019). Para essa etapa, empregou-se aproximadamente 1,30 kg dos frutos secos, os quais foram submetidos ao processo extrativo sob aquecimento controlado, de modo a promover o arraste dos constituintes voláteis pela fase aquosa e sua posterior condensação. O método foi escolhido por sua ampla aplicação na obtenção de óleos essenciais de partes vegetais aromáticas e por permitir recuperação adequada da fração volátil com baixo custo operacional e boa reprodutibilidade.

Ao término da hidrodestilação, que durou em torno de 3,5 horas, a fração oleosa foi separada da fase aquosa e acondicionada em frascos de vidro âmbar com capacidade de 2 mL, hermeticamente fechados, a fim de evitar exposição à luz, ao oxigênio atmosférico e à umidade. As amostras foram mantidas sob refrigeração a -3°C até o momento das análises químicas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e dos ensaios biológicos subsequentes. Esse protocolo de armazenamento foi adotado com o objetivo de preservar a estabilidade da composição química do óleo essencial e reduzir alterações oxidativas ou evaporação de constituintes mais voláteis ao longo do período experimental.

Para extração do óleo essencial das folhas utilizou-se o mesmo procedimento aplicado para os frutos, porém usando a massa de 1,20 kg e um período de hidrodestilação de cerca de 2,5 horas.

3.3 Caracterização química por CG-EM

3.3.1 Condições cromatográficas

A análise da composição química do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), utilizando sistema Agilent 7890B acoplado a detector de massas Agilent 5977A MSD, equipado com coluna capilar HP-5MS (5%-fenil-95%-dimetilpolisiloxano; 30 m × 0,25 mm de diâmetro interno × 0,25 µm de espessura de filme).

O gás de arraste utilizado foi hélio (pureza $\geq 99,999\%$), mantido em fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹. A injeção foi realizada no modo split, com razão de divisão de 1:20, utilizando volume de injeção de 1,0 µL da amostra previamente diluída em solvente apropriado (diclorometano, for gas chromatography MS SupraSolv[®]; CAS 75-09-2; $\geq 99,8\%$ (GC)).

A temperatura do injetor foi mantida a 250 °C, enquanto a interface GC–MS foi mantida a 280 °C. A temperatura da fonte de íons foi ajustada para 230 °C e o quadrupolo mantido a 150 °C. O programa de temperatura do forno cromatográfico foi iniciado a 50 °C, permanecendo nessa condição inicial por 2 min, seguido de aquecimento a uma taxa de 3 °C min⁻¹ até 280 °C, sendo mantido por tempo adicional (geralmente 10 min) para garantir a eluição de compostos de maior massa molecular.

A detecção foi realizada em modo de varredura total (*scan mode*), com faixa de aquisição de massas de m/z 40–400, utilizando ionização por impacto eletrônico (EI) a 70 eV. Esse método de ionização foi escolhido por sua robustez e compatibilidade com bibliotecas espectrais comerciais, permitindo a identificação confiável dos compostos voláteis.

O procedimento experimental acima foi adaptado para obtenção do melhor resultado possível, de acordo com os equipamentos e procedimentos disponíveis no local de análise. Além disso, as rotinas experimentais aplicadas foram sustentadas pelos resultados disponíveis na literatura de trabalhos semelhantes aos desenvolvidos nessa pesquisa (BAKKALI et al., 2008; EL HASSANI et al., 2010; WANG et al., 2011).

3.3.2 Identificação dos constituintes

Os compostos voláteis foram identificados por comparação dos espectros de massas com a biblioteca NIST 17, considerando índices de similaridade superiores a 85%. Os índices de retenção

(RI) foram calculados a partir da co-injeção de uma série homóloga de n-alcanos (C₈–C₂₅) e comparados com dados da literatura (ADAMS, 2007; VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963).

As análises foram processadas com auxílio do software AMDIS (versão 2.73), sendo considerada a consistência entre RI e espectros de massas para confirmação estrutural (MARCHYSHYN et al., 2023; ZHU et al., 2026).

3.3.3 Análise de ácidos graxos (FAME)

Para a avaliação da fração lipídica não volátil do material vegetal (*M. verrucosa*), incluindo folhas e frutos, foram inicialmente obtidos extratos orgânicos por maceração sucessiva utilizando solventes de polaridade crescente. O material vegetal previamente seco e pulverizado foi submetido à extração com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, permanecendo em contato com cada solvente por aproximadamente 72 h, sob agitação ocasional e à temperatura ambiente. Após cada etapa, os extratos foram filtrados e os solventes removidos sob pressão reduzida em evaporador rotativo ($\leq 45\text{ }^{\circ}\text{C}$), resultando nos extratos brutos correspondentes.

Dentre os extratos obtidos, a fração hexânica foi selecionada para análise de ácidos graxos, em função de sua afinidade por compostos apolares, especialmente lipídios e ácidos graxos de cadeia longa.

Para a preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME), aproximadamente 1,00 g do extrato hexânico foi inicialmente submetido à filtração em camada de celite, utilizada como material inerte para remoção de impurezas particuladas e resíduos insolúveis (ICHIHARA; FUKUBAYASHI, 2010).

Uma alíquota de 10,0 mg do extrato purificado foi então transferida para tubo de reação, sendo adicionados 100 μL de solução metanólica de hidróxido de potássio (KOH 1,0 mol L⁻¹, 5%). A mistura foi submetida a aquecimento assistido por micro-ondas doméstico, operando a 5% da potência máxima, durante 5 min. Essa etapa promove a saponificação dos lipídios presentes, liberando os ácidos graxos na forma de sais.

Após resfriamento à temperatura ambiente, foram adicionados 100 μL de água destilada, seguido de extração líquido-líquido com hexano ($3 \times 300\text{ }\mu\text{L}$), visando a remoção de compostos neutros e impurezas apolares remanescentes.

A fase aquosa resultante foi então acidificada com solução de HCl 1,0 mol L⁻¹, promovendo a protonação dos sais de ácidos graxos e regeneração dos ácidos graxos livres. Estes foram posteriormente extraídos com acetato de etila (3 × 300 µL), sendo a fase orgânica reunida para a etapa de derivatização.

A conversão dos ácidos graxos livres em seus respectivos ésteres metílicos foi realizada por esterificação utilizando 100 µL de solução de trifluoreto de boro em metanol (BF₃–MeOH, 14%). A mistura reacional foi submetida à centrifugação por 15 min, seguida de aquecimento em banho-maria a 80 °C por 15 min, garantindo a completa metilação dos ácidos graxos presentes.

Os ésteres metílicos obtidos (FAME) foram então resfriados e diretamente utilizados para análise cromatográfica por CG-EM.

A análise dos FAME foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), sob condições específicas otimizadas para compostos de maior massa molecular e menor volatilidade relativa. O hélio foi utilizado como gás de arraste a um fluxo de 1,8 mL min⁻¹. A temperatura do injetor foi mantida a 290 °C, enquanto a interface e o detector foram mantidos a 290 °C e 260 °C, respectivamente.

O programa de temperatura do forno foi iniciado a 100 °C, seguido de aquecimento a uma taxa de 5 °C min⁻¹ até 285 °C, com manutenção nessa temperatura por aproximadamente 40 min, permitindo a adequada eluição de ácidos graxos de cadeia longa. A detecção foi realizada em modo scan, na faixa de *m/z* 40–350.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada com base na comparação dos espectros de massas com a biblioteca NIST, considerando padrões de fragmentação característicos de FAME, bem como comparação com dados descritos na literatura clássica (FULK; SHORB, 1970; MORRISON; SMITH, 1964).

3.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

3.4.1 Microrganismos e condições de cultivo

Para a avaliação da atividade antimicrobiana, foram utilizadas cepas de referência (ATCC) e cepas clínicas (LM), abrangendo bactérias, leveduras e fungos filamentosos, permitindo uma análise abrangente do espectro de ação dos óleos essenciais de *M. verrucosa*. As cepas que foram empregadas utilizadas nesse estudo estão descritas na tabela 1.

As cepas microbianas foram cedidas pela Micoteca do Laboratório de Micologia, vinculada ao Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF), Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Tabela 1. Pannel de microrganismos utilizados na avaliação da atividade antimicrobiana, incluindo bactérias, leveduras e fungos filamentosos, com suas respectivas espécies e linhagens de referência (ATCC) e isolados clínicos ou laboratoriais (LM).

Categoria	Espécie	Linhagem (Strain)
Bactérias	<i>S. aureus</i>	ATCC 25923
	<i>P. aeruginosa</i>	ATCC 25853
Leveduras	<i>C. albicans</i>	ATCC 76485
	<i>C. albicans</i>	LM-65
	<i>C. tropicalis</i>	ATCC 750
	<i>C. tropicalis</i>	LM-14
	<i>T. rubrum</i>	ATCC 28188
Fungos Filamentosos	<i>T. rubrum</i>	LM-150
	<i>A. flavus</i>	ATCC 4603
	<i>A. flavus</i>	LM-248
	<i>P. citrinum</i>	ATCC 28752
	<i>P. citrinum</i>	LM-74

3.4.2 Preparo das amostras

Os óleos essenciais das folhas e dos frutos de *M. verrucosa*, bem como os extratos testados foram submetidas aos ensaios biológicos para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de bactérias, fungos leveduriformes e fungos filamentosos. Os OE das folhas e frutos foram pesados e devidamente solubilizados em 150 µL (3%) de dimetilsulfóxido (DMSO) e adicionados 100 µL (2%) de Tween 80, completando-se o volume final com água destilada esterilizada q.s.p. 3 mL. Dessa forma, foi obtida a concentração inicial dos produtos de 1024 µg/mL e diluído em série até 32 µg/mL.

Para o controle dos resultados dos ensaios biológicos, foram usadas como padrão as drogas licenciadas: gentamicina/bactérias e fluconazol/fungos filamentosos conforme dados obtidos da literatura (KOZICS et al., 2019; SIMBU; ORCHARD; VUUREN, 2024).

3.4.3 Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados nos ensaios para avaliação da atividade biológica foram Brain Heart Infusion Broth (BHI) e caldo RPMI 1640 com L-glutamina e sem bicarbonato (Difco Laboratories Ltd, USA, France e INLAB, São Paulo, Brasil). Os meios foram preparados conforme as descrições dos fabricantes.

3.4.4 Inóculo

Para preparação do inóculo, as colônias obtidas de culturas das cepas de fungos em meio ASD, foram suspensas em solução fisiológica a 0,9% estéril e ajustadas de acordo com o tubo 0,5 da escala padrão de Mcfarland para obtenção de aproximadamente $1-5 \times 10^6$ UFC/mL para as cepas fúngicas e $1-5 \times 10^8$ UFC/mL para as cepas bacterianas (WIEGAND; HILPERT; HANCOCK, 2008).

3.4.5 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

Os ensaios de atividade antifúngica foram realizados conforme os protocolos de Cleeland e Squires (1991), Eloff (1998) e CLSI (2008), com algumas modificações. A determinação da CIM das amostras fúngicas foram realizadas através da técnica de microdiluição em caldo, com placa para cultura de células (TPP/ SWITZERLAND/EUROPA) contendo 96 poços com fundo em “U”.

Inicialmente, foram distribuídos 100 µL de caldo BHI/bactérias e RPMI/fungos duplamente concentrados nos poços das placas de microdiluição. Em seguida, 100 µL dos produtos solubilizados foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. Por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024 até 32 µg/mL. Por fim, foram adicionados 10 µL das suspensões das cepas bacterianas e fúngicas nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se, especificamente, a uma espécie. Paralelamente, foram realizados os

controles: micro-organismos (BHI + bactérias e RPMI + fungos), para comprovação da viabilidade das cepas, meio de cultura (RPMI), para comprovação da esterilidade e controle positivo foram utilizados os antimicrobianos gentamicinas e fluconazol. As placas preparadas foram assepticamente fechadas e submetidas à incubação numa temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 - 48 horas para os ensaios com bactérias e leveduras e à Temperatura Ambiente (TA/28-30 °C) para os fungos filamentosos.

A CIM para cada produto foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento microbiano e/ou verificado pela permanência da coloração do corante indicador. O produto foi considerado ativo quando inibiu, pelo menos, 50% dos micro-organismos utilizados nos ensaios de atividade biológica. A atividade antifúngica dos produtos foi interpretada e considerada como ativa ou inativa, conforme os seguintes critérios: até 600 µg/mL= forte atividade; 600-1500 µg/mL= moderada atividade; acima de 1500 µg/mL=fraca atividade ou produto inativo.

Após leitura da CIM, foi realizado o ensaio para determinação da CBM/ CFM. Aliquotas de 10 µL do sobrenadante das cavidades onde foi observada completa inibição do crescimento fúngico (CIM, CIMx2 e CIMx4) foram adicionadas a 100 µL de caldo RPMI contidos em novas placas de microdiluição/96 poços e incubadas por 24-48 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ /leveduras e TA (28-30 °C)/5-7dias para fungos filamentosos. A CBM e a CFM foram consideradas como sendo a menor concentração do produto teste capaz de inibir o crescimento dos micro-organismos. Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado expresso pela média aritmética das CFM's obtidas nos três ensaios. Paralelamente, foi realizado o controle de esterilidade (caldo RPMI 1640) e de viabilidade das espécies bacterianas e fúngicas (RPMI 1640 mais inóculo de cada micro-organismo) (CLSI, 2017a; CLSI, 2017b; CLSI, 2024).

Também foi avaliado o modo de ação da substância teste através da razão CFM/CIM, metodologia para especificar a natureza do efeito antimicrobiano, considerada como bactericida ou fungicida quando a razão CBM/CIM ou CFM/CIM está entre 1:1 a 2:1. Por outro lado, se a proporção for maior que 2:1, o modo de ação tem maior probabilidade de ser bacteriostático ou fungistático (DINIZ-NETO et al., 2024; HAFIDH et al., 2011; SQUIRES et al., 1991; TEIXEIRA et al., 2020).

3.4.6 Ensaio de interação (Checkerboard)

A interação entre o óleo essencial e o fluconazol foi avaliada por meio do ensaio de checkerboard (microdiluição em caldo em matriz bidimensional), permitindo a análise combinatória dos dois agentes em diferentes concentrações (MELETIADIS et al., 2010; HLEBOVÁ et al., 2023). O ensaio foi realizado em placas de microtitulação de 96 poços com fundo em “U”, nas quais o fluconazol e o óleo essencial foram distribuídos em gradientes seriados ortogonais. O fluconazol foi diluído ao longo do eixo horizontal da placa, enquanto o óleo essencial foi diluído ao longo do eixo vertical, resultando em uma matriz de combinações contendo diferentes proporções dos dois agentes. As concentrações testadas foram definidas a partir dos valores previamente obtidos de concentração inibitória mínima (CIM) para cada substância isoladamente, sendo empregadas diluições seriadas em razão de dois, abrangendo intervalos acima e abaixo da CIM (geralmente de $4 \times \text{CIM}$ até $1/8 \times \text{CIM}$).

Os óleos essenciais foram previamente solubilizados em solução contendo dimetilsulfóxido (DMSO 3%) e Tween 80 (2%), com posterior diluição em meio RPMI-1640, garantindo adequada dispersão no sistema aquoso e minimizando interferências na atividade antifúngica. Em cada poço da microplaca, foram adicionados volumes equivalentes das soluções dos agentes testados e do meio de cultura duplamente concentrado, seguido da inoculação com suspensão padronizada de *C. albicans*, previamente ajustada à turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland e posteriormente diluída para obtenção de concentração final de aproximadamente $1-5 \times 10^3$ UFC/mL, conforme recomendações do CLSI para ensaios antifúngicos em caldo.

Controles apropriados foram incluídos em todas as placas, incluindo controle de crescimento (meio + inóculo), controle de esterilidade (meio sem inóculo) e controles contendo cada agente isoladamente nas mesmas condições experimentais. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24–48 horas, e a leitura dos resultados foi realizada visualmente, considerando a ausência de turbidez como indicativo de inibição do crescimento microbiano.

A interação entre os agentes foi quantificada por meio do índice de concentração inibitória fracionada (FICI), calculado a partir das concentrações dos compostos em combinação necessárias para inibir o crescimento microbiano, em relação às suas CIMs individuais. O FICI foi determinado pela soma das frações inibitórias de cada agente ($\text{FIC_A} + \text{FIC_B}$), onde FIC_A corresponde à razão entre a CIM do óleo essencial em combinação e sua CIM isolada, e FIC_B corresponde à razão entre a CIM do fluconazol em combinação e sua CIM isolada.

Os valores obtidos foram interpretados conforme critérios amplamente aceitos na literatura: $FICI \leq 0,5$ indicando efeito sinérgico; $0,5 < FICI \leq 1,0$ indicando efeito aditivo; $1,0 < FICI \leq 4,0$ indicando efeito indiferente; e $FICI > 4,0$ indicando antagonismo. Esse método permite uma avaliação quantitativa da interação farmacodinâmica entre compostos, sendo particularmente útil na identificação de potenciais efeitos de modulação da atividade antifúngica, como a redução da concentração necessária de antifúngicos convencionais na presença de produtos naturais (ODDS, 2003; TCHINANG et al., 2023).

Ressalta-se que, embora o ensaio de checkerboard forneça evidências importantes sobre interações entre agentes antimicrobianos, os resultados devem ser interpretados como indicativos e não conclusivos quanto ao mecanismo de ação, sendo recomendada a complementação com abordagens adicionais para elucidação mecanística (LÁSCARIS et al., 2022).

3.5 Ensaios de mecanismo de ação

3.5.1 Ensaio com sorbitol

Para investigação de possíveis efeitos do óleo essencial sobre a integridade da parede celular fúngica, os ensaios de concentração inibitória mínima (CIM) foram realizados na presença de sorbitol (0,8 M), utilizado como agente osmoprotetor. Esse ensaio baseia-se no princípio de que compostos capazes de comprometer a estrutura da parede celular tornam as células mais suscetíveis à lise osmótica; nesse contexto, a adição de sorbitol ao meio de cultura atua como estabilizador osmótico, prevenindo a ruptura celular e permitindo a sobrevivência de células com parede celular danificada (MANI-LÓPEZ; GARCÍA; LÓPEZ-MALO, 2021; SOUZA et al., 2024).

Os ensaios foram conduzidos conforme a metodologia de microdiluição em caldo previamente descrita, com a modificação da adição de sorbitol ao meio RPMI-1640, de forma a atingir concentração final de 0,8 M em todos os poços da microplaca. As soluções do óleo essencial foram preparadas nas mesmas condições utilizadas nos ensaios convencionais, incluindo solubilização em DMSO (3%) e Tween 80 (2%), seguida de diluição seriada em razão de dois. Após a adição do inóculo padronizado de *C. albicans*, ajustado conforme as recomendações do CLSI, as placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24–48 h (TCHINANG et al., 2023; OUYANG et al., 2021).

A CIM foi determinada visualmente como a menor concentração capaz de inibir o crescimento fúngico, sendo os valores obtidos na presença de sorbitol comparados àqueles obtidos na ausência do agente osmoprotetor (ARUNACHALAM; SASIDHARAN, 2021).

Ressalta-se que este ensaio fornece uma evidência indireta do possível mecanismo de ação, devendo ser interpretado com cautela e preferencialmente em conjunto com outros testes complementares, uma vez que alterações na CIM podem também estar relacionadas a efeitos secundários sobre a fisiologia celular.

3.5.2 Ensaio com ergosterol

A possível interação do óleo essencial com a membrana celular fúngica foi avaliada por meio da adição de ergosterol exógeno ao meio de cultivo, conforme metodologia adaptada de ensaios clássicos de interferência com esteróis de membrana. O princípio desse ensaio baseia-se na capacidade de compostos com afinidade por esteróis de se ligarem ao ergosterol presente na membrana celular; na presença de ergosterol exógeno, esses compostos podem ter sua atividade reduzida devido à interação preferencial com o esterol livre no meio, resultando em aumento dos valores de concentração inibitória mínima (CIM (MANI-LÓPEZ; GARCÍA; LÓPEZ-MALO, 2021; SOUZA et al., 2024)).

Para a realização do ensaio, o ergosterol foi previamente solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO), sob aquecimento moderado e agitação, de modo a garantir sua completa dissolução, sendo posteriormente incorporado ao meio RPMI-1640 para obtenção de concentração final de 400 µg/mL em todos os poços da microplaca. As soluções do óleo essencial foram preparadas nas mesmas condições descritas para os ensaios convencionais, utilizando DMSO (3%) e Tween 80 (2%) como agentes solubilizantes, seguidas de diluições seriadas em razão de dois.

Os ensaios foram conduzidos por microdiluição em caldo em placas de 96 poços, com adição de inóculo padronizado de *C. albicans*, ajustado de acordo com o padrão 0,5 da escala de McFarland e posteriormente diluído para obtenção de concentração final compatível com as recomendações do CLSI. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24–48 h, sendo a CIM determinada como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento fúngico (AHMAD et al., 2011; CRUZ et al., 2024).

Os valores de CIM obtidos na presença de ergosterol foram comparados àqueles determinados na ausência do esteroide. Um aumento na CIM foi interpretado como indicativo de possível interação do óleo essencial com componentes lipídicos da membrana celular, particularmente com esteróis, sugerindo que parte da atividade antifúngica pode estar associada à perturbação da organização ou função da membrana. Por outro lado, a ausência de alteração significativa nos valores de CIM indicaria baixa afinidade do composto por ergosterol ou ausência de envolvimento direto com esse componente estrutural (ALIZADEH et al., 2018).

Ressalta-se que esse ensaio fornece evidências indiretas de interação com a membrana celular, não permitindo a identificação precisa do alvo molecular envolvido. Dessa forma, os resultados devem ser interpretados de maneira integrada com outras abordagens experimentais e computacionais, como ensaios adicionais de mecanismo de ação e estudos de docking molecular.

3.6 Avaliação da toxicidade utilizando *Artemia salina*

A avaliação preliminar de toxicidade das amostras foi realizada por meio do bioensaio de letalidade com *Artemia salina*, conforme metodologia clássica descrita na literatura, com adaptações para produtos naturais. Cistos de *A. salina* foram incubados em solução salina artificial (NaCl 3,5%, p/v), sob aeração constante e iluminação contínua, à temperatura ambiente (25–28 °C), por um período de 24 a 48 horas, até a eclosão dos náuplios (RAJABI et al., 2015).

Após a eclosão, os náuplios ativos foram coletados e transferidos para tubos ou placas contendo solução salina fresca. Para os ensaios, grupos de aproximadamente 10 náuplios foram adicionados a cada unidade experimental contendo diferentes concentrações das amostras testadas. As amostras (extratos e óleo essencial) foram previamente solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO), respeitando concentração final inferior a 1%, e posteriormente diluídas em solução salina artificial para obtenção de uma faixa de concentrações entre 10 e 1000 µg/mL. Cada concentração foi testada em triplicata independente.

Como controle negativo, foi utilizada solução salina contendo a mesma proporção de DMSO empregada nas amostras. O dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) foi utilizado como controle positivo, devido à sua toxicidade conhecida e comportamento dose-dependente.

Após 24 horas de exposição, foi realizada a contagem dos organismos vivos e mortos, sendo considerados mortos aqueles que não apresentaram qualquer movimento após leve agitação do

sistema. A porcentagem de mortalidade foi calculada para cada concentração testada (MEYER et al., 1982; FILIPE et al., 2022).

Quando necessário, os dados foram corrigidos utilizando a fórmula de Abbott:

$$\text{Mortalidade corrigida (\%)} = \frac{(\text{mortalidade no teste} - \text{mortalidade no controle})}{(100 - \text{mortalidade no controle})} \times 100$$

Equação 01. Mortalidade corrigida (%) calculada pelo método de Abbott, ajustando os valores observados em relação à mortalidade do grupo controle.

Os valores de concentração letal média (LC_{50}) foram estimados por análise de regressão, utilizando os dados de mortalidade em função da concentração. A toxicidade das amostras foi classificada conforme critérios estabelecidos na literatura: alta toxicidade ($LC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$), toxicidade moderada ($100\text{--}500 \mu\text{g/mL}$) e baixa toxicidade ($LC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$) (BRAGUINI; ALVES; PIRES, 2019; CANSIAN et al., 2017; MESQUITA et al., 2021).

3.7 Triagem fitoquímica preliminar

A triagem fitoquímica preliminar foi realizada com o objetivo de identificar qualitativamente a presença de classes de metabólitos secundários nos extratos do material vegetal, empregando testes colorimétricos clássicos descritos na literatura, com adaptações. As análises foram conduzidas utilizando soluções dos extratos previamente preparadas em solventes apropriados, sendo os resultados interpretados com base no desenvolvimento de colorações características ou formação de precipitados (GUL et al., 2017; SHAIKH; PATIL, 2020; GODLEWSKA et al., 2023).

A presença de flavonoides foi investigada por meio do teste de Shinoda, no qual uma alíquota do extrato foi tratada com pequenas quantidades de magnésio metálico e ácido clorídrico concentrado. A formação de coloração avermelhada, rosada ou alaranjada foi considerada indicativa da presença de flavonoides, especialmente flavonas e flavonóis.

Adicionalmente, a detecção de flavonoides foi confirmada pelo teste com cloreto de alumínio (AlCl_3), no qual o extrato foi tratado com solução alcoólica de AlCl_3 . A formação de

coloração amarela intensa ou fluorescência sob luz UV foi interpretada como indicativa da presença de flavonoides, devido à formação de complexos com grupos hidroxila fenólicos (SHAIKH; PATIL, 2020; GODLEWSKA et al., 2023). A presença de compostos fenólicos foi avaliada utilizando o reagente de cloreto férrico (FeCl_3), sendo considerada positiva a formação de coloração azul, verde ou violeta, resultante da complexação com grupos fenólicos (MUZAYINAH; WUTSQA; FAUZI, 2025).

Taninos foram identificados também por meio do teste com FeCl_3 , complementado pela formação de precipitado após adição de gelatina ou solução de proteínas, indicando a presença de taninos condensados ou hidrolisáveis (N'CHO et al., 2025).

A presença de saponinas foi avaliada pelo teste de formação de espuma persistente, no qual soluções dos extratos foram agitadas vigorosamente em água destilada. A formação de espuma estável por período superior a 10 minutos foi considerada indicativa da presença dessas substâncias. Alcaloides foram investigados utilizando reagentes clássicos, como Dragendorff e Mayer, sendo a formação de precipitados de coloração alaranjada ou esbranquiçada interpretada como indicativa da presença dessa classe de compostos. Em alguns casos, a resposta foi considerada fraca, sugerindo baixa concentração desses metabólitos nas amostras analisadas (WINA; MUETZEL; BECKER, 2005).

Os resultados obtidos nesta triagem foram considerados qualitativos, fornecendo apenas indicação preliminar da presença ou ausência das classes de metabólitos, sem quantificação dos compostos presentes.

3.8 Avaliação da atividade antioxidante pelo método do radical DPPH

A atividade antioxidante das amostras foi avaliada pelo método de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil ($\text{DPPH}^\bullet$), utilizado como triagem complementar da capacidade redox dos extratos e do óleo essencial. Inicialmente, preparou-se uma solução de $\text{DPPH}^\bullet$ a 0,10 mM em metanol, a qual foi mantida protegida da luz até o momento do uso (SHAHIDI; ZHONG, 2015; MUNTEANU; APETREI, 2021). As amostras foram previamente solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO) e posteriormente diluídas em metanol, de modo que a concentração final de DMSO em todas as soluções permanecesse igual ou inferior a 1% (v/v). As determinações foram

realizadas nas concentrações de 5, 10, 25, 50, 100, 250 e 500 µg/mL (HARBORNE, 1998; MATOS, 2009).

Para a reação, adicionou-se 1,0 mL da solução de DPPH• a 1,0 mL da solução da amostra em tubos de ensaio. As misturas foram homogeneizadas e mantidas em repouso por 30 min, à temperatura ambiente (25 ± 2 °C), ao abrigo da luz. O controle do radical foi preparado substituindo-se a amostra por metanol contendo a mesma proporção de DMSO empregada nas soluções teste. Brancos das amostras, sem adição de DPPH•, também foram preparados para correção de eventuais interferências causadas por cor própria ou turbidez das amostras. O ácido gálico foi utilizado como padrão antioxidante de referência (CHEBBAC et al., 2021; FONSECA GOMES et al., 2013).

Após o período de incubação, as leituras de absorbância foram realizadas a 517 nm. A porcentagem de sequestro do radical DPPH• foi calculada a partir da redução da absorbância da solução reacional em comparação com o controle, e os valores de IC₅₀ foram obtidos por regressão não linear. Todos os ensaios foram realizados em triplicata independente (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; GÜLÇİN; ALWASEL, 2023).

3.9 Abordagem *in silico*: docking molecular

3.9.1 Preparação dos ligantes

As estruturas químicas dos constituintes majoritários do óleo essencial foram inicialmente construídas e/ou editadas no software Avogadro (versão 1.97), a partir de suas fórmulas estruturais bidimensionais obtidas da literatura e bancos de dados químicos. As geometrias moleculares foram convertidas para representações tridimensionais e submetidas à otimização geométrica preliminar utilizando campos de força clássicos (MMFF94), visando a obtenção de conformações energeticamente favoráveis e livres de tensões estruturais artificiais (SHARMA et al., 2024).

Posteriormente, as estruturas foram processadas no Open Babel (versão 3.1.1), sendo convertidas entre diferentes formatos químicos e submetidas a etapas adicionais de padronização, incluindo verificação de conectividade, normalização de hidrogênios explícitos e geração de conformações compatíveis com os requisitos do docking molecular. Durante essa etapa, foi assegurada a correta atribuição dos estados de protonação das moléculas, considerando condições

fisiológicas (pH 7,4), de modo a refletir de forma mais realista o comportamento dos ligantes em ambiente biológico (TOSCO; STIEFL; LANDRUM, 2014).

As moléculas preparadas foram então importadas para o (versão 1.5.7), onde foram realizadas etapas essenciais para a simulação de docking, incluindo a adição de hidrogênios polares, definição de átomos do tipo AutoDock, e atribuição de cargas parciais do tipo Gasteiger–Marsili. Em seguida, foram definidos os graus de liberdade rotacional dos ligantes por meio da identificação de ligações rotacionáveis, mantendo-se rígidos os sistemas aromáticos e regiões estruturais planas (KABIER et al., 2024).

Por fim, todos os ligantes foram convertidos para o formato PDBQT, compatível com o software AutoDock, contendo informações sobre coordenadas atômicas, cargas parciais e parâmetros de flexibilidade molecular. Esse procedimento garantiu a padronização estrutural e energética dos compostos analisados, permitindo sua utilização em simulações de docking molecular com maior confiabilidade e reprodutibilidade (FORLI et al., 2016; EBERHARDT et al., 2021).

3.9.2 Preparação dos alvos moleculares

As estruturas tridimensionais das proteínas-alvo foram obtidas a partir do Protein Data Bank (PDB), sendo selecionadas com base em sua relevância biológica para processos essenciais em microrganismos, incluindo biossíntese da parede celular, divisão celular e metabolismo. Foram priorizadas estruturas cristalográficas com alta resolução e contendo ligantes co-cristalizados, de modo a permitir a definição precisa dos sítios ativos e a validação dos protocolos de acoplamento molecular (GUEDES; DE MAGALHÃES; DARDENNE, 2014; PINZI; RASTELLI, 2019).

A preparação das proteínas foi realizada utilizando ferramentas apropriadas, incluindo AutoDockTools (versão 1.5.7), seguindo etapas padronizadas de pré-processamento estrutural. Inicialmente, foram removidas moléculas de água cristalográfica, íons não essenciais e outros heteroátomos que não participavam diretamente do sítio de ligação, visando evitar interferências artificiais nas simulações de docking. Em seguida, foram adicionados hidrogênios polares às estruturas proteicas, considerando que os dados cristalográficos geralmente não incluem esses átomos, sendo fundamentais para a correta modelagem de interações intermoleculares, especialmente ligações de hidrogênio.

As cargas parciais do tipo Gasteiger foram atribuídas aos átomos das proteínas, e os tipos atômicos compatíveis com o AutoDock foram definidos, garantindo consistência com os ligantes previamente preparados. Os sítios ativos foram definidos com base nas coordenadas dos ligantes co-cristalizados presentes nas estruturas originais, sendo utilizadas como referência para o posicionamento das caixas de grid (grid box), assegurando que as regiões biologicamente relevantes fossem corretamente amostradas durante as simulações.

Adicionalmente, os ligantes co-cristalizados foram removidos após a definição do sítio ativo e utilizados em etapas de redocking para validação do protocolo, permitindo verificar a capacidade do método em reproduzir a orientação experimental do ligante no sítio de ligação, usualmente avaliada por valores de RMSD inferiores a 2,0 Å. Por fim, as estruturas proteicas preparadas foram convertidas para o formato PDBQT, contendo informações de coordenadas, cargas e parâmetros necessários para as simulações de docking molecular.

3.9.3 Execução do docking

Os estudos de docking molecular foram realizados utilizando o software AutoDock 4.2.6, empregando o algoritmo Lamarckian Genetic Algorithm (LGA), amplamente utilizado para exploração do espaço conformacional de ligantes flexíveis em sítios proteicos definidos. As simulações foram conduzidas considerando o ligante como flexível e a proteína como rígida, permitindo a amostragem de diferentes conformações por meio de operadores genéticos combinados com otimização local.

As caixas de busca (grid boxes) foram definidas com base nas coordenadas dos ligantes co-cristalizados presentes nas estruturas do PDB, garantindo o direcionamento das simulações para os sítios ativos biologicamente relevantes. Os parâmetros do grid foram configurados de modo a abranger completamente a cavidade catalítica, com espaçamento típico de 0,375 Å entre os pontos da malha, assegurando resolução adequada na avaliação das interações intermoleculares.

Para cada sistema ligante-proteína, foram realizadas múltiplas execuções independentes de docking (tipicamente 100 corridas por ligante), com população inicial de 200 indivíduos, número máximo de avaliações de energia da ordem de $2,5 \times 10^6$ a $4,5 \times 10^6$, e número máximo de gerações de até 50.000, parâmetros estes selecionados para garantir adequada convergência do algoritmo e amostragem eficiente do espaço conformacional. A taxa de mutação e cruzamento foi mantida nos

valores padrão do AutoDock, assegurando equilíbrio entre diversidade conformacional e refinamento das soluções.

Os resultados obtidos foram agrupados com base em critérios de similaridade estrutural (clusterização), utilizando um valor de tolerância de RMSD de 2,0 Å, sendo selecionadas como representativas as conformações pertencentes aos clusters mais populados e/ou com menor energia livre de ligação (ΔG). As energias de ligação estimadas foram utilizadas como parâmetro comparativo entre os diferentes ligantes, sendo interpretadas de forma relativa, sem atribuição de valores absolutos de afinidade.

A análise das interações ligante-proteína foi realizada considerando ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, forças de van der Waals e possíveis interações π , permitindo a identificação de padrões de ligação relevantes nos diferentes alvos moleculares. Ressalta-se que os resultados de docking representam predições teóricas baseadas em modelos estáticos, devendo ser interpretados como indicativos do potencial de interação molecular e não como evidência definitiva de atividade biológica (FORLI et al., 2016; EBERHARDT et al., 2021; WARREN et al., 2006).

3.9.4 Validação do protocolo

A validação do protocolo foi realizada por redocking dos ligantes co-cristalizados, sendo considerado adequado um desvio $\text{RMSD} \leq 2,0 \text{ Å}$ entre as poses experimental e predita (KHMIL; SHESTOPALOVA; KOLESNIKOV, 2025).

3.9.5 Análise das interações

As interações entre ligantes e proteínas foram analisadas a partir dos complexos obtidos nas simulações de docking, selecionando-se, para cada sistema, as conformações com menor energia livre de ligação (ΔG) e pertencentes aos clusters mais representativos. A visualização tridimensional dos complexos foi realizada no software PyMOL (The PyMOL Molecular Graphics System, versão 2.x), permitindo a inspeção detalhada da orientação dos ligantes no sítio ativo, bem como a análise espacial das interações com resíduos aminoacídicos relevantes.

Adicionalmente, os perfis de interação bidimensional foram gerados utilizando o software LigPlot+, o qual possibilita a identificação automática de ligações de hidrogênio e interações

hidrofóbicas, representando graficamente os contatos intermoleculares entre ligante e proteína. As ligações de hidrogênio foram consideradas com base em critérios geométricos padrão, incluindo distâncias típicas inferiores a 3,5 Å entre doadores e aceptores, e ângulos favoráveis à formação dessas interações.

O software Discovery Studio Visualizer (BIOVIA) foi utilizado como ferramenta complementar para análise e validação das interações, permitindo a caracterização mais abrangente dos contatos intermoleculares, incluindo interações de van der Waals, interações π - π , π -alquil, ligações de hidrogênio convencionais e não convencionais, além de contatos eletrostáticos. Essa abordagem integrada permitiu uma avaliação mais robusta do modo de ligação dos ligantes, considerando diferentes perspectivas de análise estrutural.

Os resíduos aminoácídicos envolvidos nas interações foram identificados com base na proximidade espacial e na natureza das interações estabelecidas, sendo comparados, sempre que possível, com aqueles descritos para os ligantes co-cristalizados, a fim de verificar a consistência do posicionamento dos compostos testados no sítio ativo. Ressalta-se que as interações descritas representam modelos estáticos derivados das conformações mais estáveis previstas pelo docking, devendo ser interpretadas como indicativas do potencial de interação molecular, e não como evidência definitiva de mecanismo de ação.

3.9.6 Predição de propriedades farmacocinéticas (ADMET)

As propriedades farmacocinéticas e toxicológicas dos compostos selecionados foram preditas utilizando as plataformas SwissADME, pkCSM e ProTox-II, permitindo a avaliação preliminar do potencial farmacológico das moléculas (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017; XIONG et al., 2021; BANERJEE et al., 2024).

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composição química do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa*

A composição química do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa*, apresentada na Tabela 2, revelou um perfil dominado por terpenoides, com predominância da fração sesquiterpênica.

Tabela 2. Composição química do óleo essencial de *M. verrucosa*, obtida por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), incluindo compostos identificados, índices de retenção calculados (RI) e áreas relativas (%), com agrupamento por classes químicas.

Nº	Composto	RI (calc.)	Área Relativa (%)
1	α -Pinoeno	980	9,3
2	β -Pinoeno	1057	19,56
3	Eucaliptol	1153	8,6
4	Terpinen-4-ol	1425	0,3
5	Ciclosativeno	1780	0,25
6	Copaeno	1793	2,15
7	Elemeno	1820	0,43
8	Cariofileno	1886	22
9	β -Calareno	1906	1,91
10	(-)- α -Panasinsene	1913	1,01
11	Humuleno	1958	2,92
12	Aromadendrene	1966	0,58
13	2-Isopropenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octa-hidronaftaleno	1990	0,07
14	α -Muuroleno	1994	0,2
15	β -Longipinoeno	2008	0,16
16	β -Selineno	2021	1,72
17	(1R,5S)-1,8-Dimetil-4-(propan-2-ilideno)espiro[4.5]dec-7-eno	2031	1,18
18	α -Selineno	2038	1,54
19	γ -Muuroleno	2069	0,31
20	Cubeneno	2077	2,18
21	cis-Calameneno	2087	0,17
22	Espatuleno	2202	6,09
23	Óxido de cariofileno	2214	10,9
24	Isovalencenol	2220	0,34
25	Ledol	2266	0,2
26	Epóxido de humuleno I	2280	1,09
27	Cubenol	2316	0,34
28	(-)-Espatuleno	2332	0,21
29	10,10-Dimetil-2,6-metilenobiciclo[7.2.0]undecan-5 β -ol	2348	0,64
30	Acetato de τ -cadinol	2357	0,21
31	τ -Cadinol	2363	0,19
32	τ -Muurolol	2370	0,54
33	α -Cadinol	2396	1,19
34	Neointermedeol	2407	0,22
35	(1R,7S,E)-7-Isopropil-4,10-metilenociclododec-5-enol	2437	0,68

A soma de sesquiterpenos hidrocarbonados (38,78%) e oxigenados (22,84%) totaliza **61,62%**, superando a fração monoterpênica (**37,76%**). Esse padrão indica uma matriz composta

majoritariamente por moléculas de maior massa molecular e menor volatilidade, sugerindo maior persistência e estabilidade funcional.

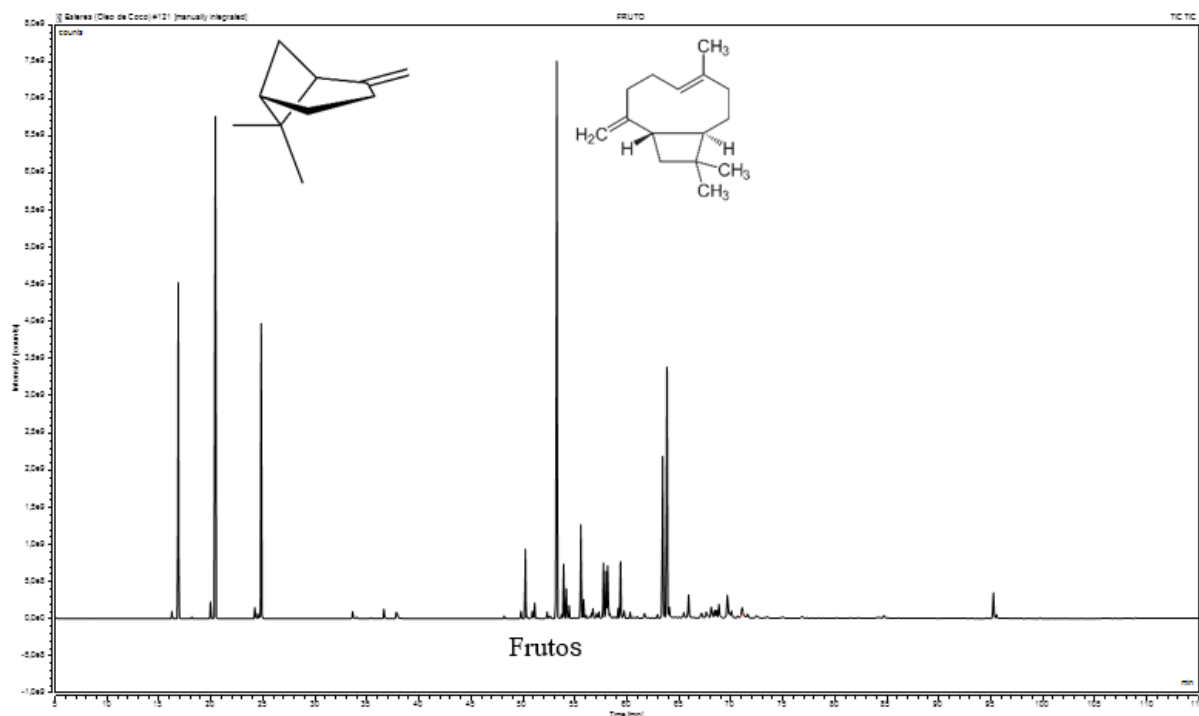


Figura 2. Cromatograma do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* extraído por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado.

Os principais constituintes foram cariofileno (22,0%), β -pineno (19,56%), óxido de cariofileno (10,9%), eucaliptol (8,6%) e espatulenol (6,09%), os quais concentram parcela significativa do óleo essencial. O cromatograma (Figura 2) evidencia essa distribuição não homogênea, caracterizada por poucos compostos majoritários acompanhados por uma fração minoritária diversificada.

Do ponto de vista estrutural, o óleo essencial dos frutos apresenta coexistência de sesquiterpenos hidrocarbonados (como cariofileno, humuleno e selinenos) e sesquiterpenos oxigenados (óxido de cariofileno, espatulenol, cadinóis). Essa organização amplia o espectro de interações biológicas: compostos apolares favorecem interações hidrofóbicas com membranas, enquanto derivados oxigenados introduzem possibilidades adicionais de interação intermolecular (SELL, 2020; ZUZARTE; SALGUEIRO, 2015).

A elevada proporção de cariofileno e óxido de cariofileno configura um eixo químico central, combinando caráter hidrofóbico e funcionalização por oxigênio, o que sugere complementaridade estrutural relevante (PRAET et al., 2016). A presença expressiva de β -pineno e eucaliptol indica contribuição adicional de compostos mais voláteis, potencialmente envolvidos em etapas iniciais de interação com sistemas biológicos (JAOUÏ et al., 2013).

Embora poucos constituintes sejam majoritários, a fração minoritária deve ser considerada, pois pode atuar modulando a atividade global do óleo essencial (DI SOTTO et al., 2020). Dessa forma, a composição observada aponta para um sistema químico multifatorial, no qual a atividade biológica resulta da interação entre diferentes classes de compostos, e não da ação isolada de um único constituinte (NAZZARO et al., 2017; TCHINANG et al., 2023; ANGANE et al., 2022).

Em conjunto, os dados da Tabela 2 e do cromatograma (Figura 2) indicam que o óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* constitui uma matriz terpênica organizada e funcionalmente coerente com atividades biológicas complexas, fornecendo base estrutural para os resultados antifúngicos discutidos nas seções seguintes.

4.2 Atividade antifúngica do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa*

4.2.1 Microrganismos avaliados e visão geral dos resultados

A atividade antifúngica do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* foi avaliada frente a leveduras e fungos filamentosos de relevância clínica e ambiental, conforme apresentado na Tabela 3.

Foram incluídas leveduras do gênero *Candida* — *C. albicans* (ATCC 76485 e LM-65) e *C. tropicalis* (ATCC 750 e LM-14) — e fungos filamentosos, representados por *T. rubrum* (ATCC 28188 e LM-150), *A. flavus* (ATCC 4603 e LM-248) e *P. citrinum* (ATCC 28752 e LM-74). A utilização de linhagens padrão (ATCC) e isolados clínicos (LM) permitiu avaliar a consistência da resposta antifúngica frente a diferentes perfis biológicos.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3, o óleo essencial dos frutos exibiu atividade antifúngica mensurável para todos os microrganismos avaliados, com valores de concentração inibitória mínima (CIM) predominantemente iguais a 64 $\mu\text{g/mL}$. Esse padrão foi

observado tanto para leveduras quanto para a maioria dos fungos filamentosos, indicando um comportamento relativamente uniforme frente a diferentes grupos fúngicos.

Tabela 3. Resultados da média da avaliação (n=3) da Concentração Inibitória Mínima/CIM (µg/mL) do óleo essencial de folhas e de frutos *M. verrucosa* contra espécies microbianas-Técnica de Microdiluição.

Óleo essencial (µg/mL)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC-25853	<i>C. albicans</i> ATCC-76485	<i>C. albicans</i> LM-65	<i>C. tropicalis</i> ATCC-750	<i>C. tropicalis</i> LM-14	<i>T. rubrum</i> ATCC-28188	<i>T. rubrum</i> LM-150	<i>A. flavus</i> ATCC-4603	<i>A. flavus</i> LM-248	<i>P. citrinum</i> ATCC-28752	<i>P. citrinum</i> LM-74
Folhas	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64
Frutos	64	64	64	64	64	64	64	64	64	128	128
Controle: Meio de cultura	-	-		-	-	-	-	-	-		
Controle: Micro-organismo	+	+		+	+	+	+	+	+		
Controle: gentamicina	128	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Controle: Fluconazol	X	128	128	128	128	128	128	256	256	1024	1024

Uma exceção foi observada para *P. citrinum*, cujas linhagens apresentaram CIM de 128 µg/mL, sugerindo menor suscetibilidade quando comparado aos demais microrganismos testados (FERREIRA et al., 2019; LIU; WANG; SU, 2024), dados compatíveis com os encontrados na literatura para *Zataria multiflora* por exemplo (MOHAJERI et al., 2018). A ausência de variação significativa entre linhagens ATCC e isolados clínicos indica que a atividade antifúngica do óleo essencial se manteve consistente independentemente da origem do microrganismo. Esse comportamento reforça a reprodutibilidade dos resultados e sugere que o efeito observado não está restrito a características específicas de uma única linhagem, conforme descrito no estudo Bactericidal activity of herbal volatile oil extracts against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (INTORASOOT et al., 2017) e em Antifungal Activity of Essential Oils Against *Candida* Species Isolated from Clinical Samples (CÓRDOBA et al., 2019)

4.2.2 Relação inicial entre atividade antifúngica e composição química

A relação entre a atividade antifúngica observada e a composição química do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* pode ser analisada não apenas em termos de presença de compostos bioativos, mas sobretudo a partir da organização estrutural da matriz terpênica.

Um aspecto relevante é a predominância de sesquiterpenos (38,78%) e sesquiterpenos oxigenados (22,84%), em contraste com a fração de monoterpenos, que, embora presente, representa uma contribuição menor em termos estruturais. Esse padrão sugere uma matriz química dominada por compostos de maior massa molecular e menor volatilidade, o que pode influenciar diretamente a forma de interação com células fúngicas. Diferentemente de monoterpenos, que frequentemente apresentam ação mais rápida e difusa, os sesquiterpenos tendem a promover interações mais estáveis e prolongadas com sistemas biológicos, especialmente em ambientes lipídicos (BAKKALI et al., 2008; SRINIVASAN et al., 2015).

Essa distinção estrutural permite interpretar a atividade antifúngica observada sob uma perspectiva funcional. A presença de compostos como cariofileno e seus derivados oxigenados indica a coexistência de regiões hidrofóbicas extensas com pontos de funcionalização química, favorecendo múltiplos modos de interação (SCHWINDL; KRAUS; HEILMANN, 2017; SRINIVASAN et al., 2015). Em vez de atuar por um único mecanismo dominante, a matriz química do óleo pode proporcionar uma distribuição de interações, nas quais diferentes constituintes contribuem para a perturbação progressiva da célula fúngica (ISKANDAR et al., 2025).

O padrão relativamente uniforme de CIM (64 µg/mL) entre espécies de *Candida* e outros fungos sugere que essa distribuição de interações é suficientemente robusta para superar variações fisiológicas entre microrganismos distintos. Isso indica que a atividade não depende de afinidade específica por um alvo molecular isolado, mas possivelmente de um **efeito cumulativo**, resultante da ação simultânea de múltiplos constituintes sobre estruturas celulares essenciais (GRAY; WENZEL, 2020).

Por outro lado, a menor suscetibilidade observada para *P. citrinum* (CIM = 128 µg/mL) sugere que essa estratégia química apresenta limitações frente a organismos com maior complexidade estrutural ou diferenças na organização da parede celular e membrana. Fungos filamentosos, de modo geral, apresentam barreiras adicionais à difusão de compostos hidrofóbicos,

o que pode reduzir a eficiência de interação da matriz terpênica (GÓMEZ-GAVIRIA; RAMÍREZ-SOTELO; MORA-MONTES, 2022).

Dessa forma, a análise conjunta da composição química e da atividade antifúngica sugere que o óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* atua como um sistema químico organizado, no qual a predominância de sesquiterpenos contribui para uma atividade consistente, enquanto a diversidade estrutural permite a adaptação do efeito biológico a diferentes tipos de microrganismos. Essa interpretação fornece uma base conceitual mais refinada para as análises mecanísticas e moleculares apresentadas nas seções subsequentes.

4.3 Interação o óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* com fluconazol (checkerboard)

A avaliação da interação entre o óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* e o fluconazol foi realizada com o objetivo de investigar se a combinação entre um produto natural complexo e um antifúngico de uso clínico poderia resultar em modulação da atividade antifúngica. Essa abordagem é particularmente relevante no contexto de infecções por *Candida*, nas quais a resistência a azólicos representa um desafio crescente, tornando desejável a identificação de estratégias capazes de potencializar a eficácia de fármacos já estabelecidos (CORRÊA et al., 2009; SARRAZIN et al., 2024).

O ensaio de combinação foi conduzido utilizando a técnica de microdiluição em matriz bidimensional (checkerboard), permitindo a avaliação simultânea de diferentes concentrações do óleo essencial e do fluconazol. A partir dos dados obtidos, foram calculados os índices de concentração inibitória fracionada (CIF) para cada agente e o índice de concentração inibitória fracionada combinado (ICIF), conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 4. Efeito da combinação do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* com o antifúngico fluconazol sobre cepas de *C. albicans* ATCC-76485.

<i>C. albicans</i>	OE-frutos	Fluconazol	OE- frutos + Fluconazol	Resultado
	CIF A	CIF B	ICIF	
ATCC-76485	0,5	0,125	0,625	Aditividade

CIF - Concentração Inibitória Fracionada; ICIF - Índice da Concentração Inibitória Fracionada; Valores em µg/mL.

Para *C. albicans* ATCC 76485, foram obtidos os valores de CIF = 0,5 para o óleo essencial e CIF = 0,125 para o fluconazol, resultando em um ICIF de 0,625, caracterizando um efeito aditivo. Esse resultado indica que, quando utilizados em combinação, o óleo essencial e o fluconazol apresentam um efeito antifúngico superior ao observado quando aplicados isoladamente, embora não atendam ao critério estabelecido para sinergismo ($ICIF \leq 0,5$). A redução das concentrações efetivas de ambos os agentes na condição combinada evidência que não há interferência negativa entre eles, sugerindo compatibilidade funcional entre seus modos de ação.

A observação de um efeito aditivo é particularmente relevante, pois indica que o óleo essencial pode atuar como modulador da atividade do fluconazol, contribuindo para o aumento da eficácia antifúngica sem evidência de antagonismo (ADASZYŃSKA-SKWIRZYŃSKA; DZIĘCIOŁ; SZCZERBIŃSKA, 2023). Esse comportamento fornece suporte experimental para a continuidade das análises mecanísticas, especialmente no que se refere à interação com estruturas celulares fúngicas e possíveis alvos moleculares (MANDRAS et al., 2016; MEDEIROS et al., 2022).

4.4 Indícios do mecanismo de ação do óleo essencial frente a *C. Albicans*

A investigação preliminar do mecanismo de ação do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* foi realizada por meio de ensaios com sorbitol e ergosterol (tabela 5 e 6), utilizando *C. albicans* ATCC 76485 como organismo modelo.

Tabela 5. Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa*, na ausência e na presença de sorbitol 0,8 M.

Cepas	OE-frutos	
	Ausência de sorbitol CIM (µg/mL)	Presença de sorbitol CIM (µg/mL)
<i>C. albicans</i> ATCC-76485	64	64

No ensaio com sorbitol (0,8 M), não foi observada alteração na concentração inibitória mínima (CIM), que permaneceu em 64 µg/mL tanto na presença quanto na ausência do agente osmoprotetor. Esse resultado indica que o óleo essencial não exerce efeito antifúngico primariamente associado à inibição da biossíntese da parede celular, uma vez que o sorbitol atua protegendo células submetidas a esse tipo de estresse (SOUZA et al., 2010).

Tabela 6. Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa*, na ausência e na presença de ergosterol (400 µg/mL).

Cepas	OE-frutos	
	Ausência de ergosterol CIM (µg/mL)	Presença de ergosterol CIM (µg/mL)
<i>C. albicans</i> ATCC-76485	64	128

Em contraste, no ensaio com ergosterol exógeno, foi observada elevação da CIM de 64 para 128 µg/mL, correspondendo a um aumento de duas vezes na concentração necessária para inibição do crescimento fúngico. Esse comportamento sugere uma possível interação entre os constituintes do óleo essencial e os esteróis da membrana fúngica, uma vez que o ergosterol livre pode atuar como alvo competitivo, reduzindo a disponibilidade do composto ativo para interação com a membrana celular (ESSID et al., 2017).

A diferença de resposta entre os dois ensaios indica que o efeito antifúngico do óleo essencial está mais associado à membrana plasmática do que à parede celular, sugerindo um mecanismo compatível com a desorganização estrutural da bicamada lipídica ou interferência em componentes esterólicos (RAJPUT; KARUPPAYIL, 2013). Um importante estudo (Anti-*Candida* activity of geraniol involves disruption of cell membrane integrity and function) (SHARMA; KHAN; MANZOOR, 2016) mostrou que esse tipo de efeito já foi descrito na literatura para monoterpenos isolados, como o geraniol, cuja atividade antifúngica frente a espécies de *Candida* tem sido associada à desestabilização da membrana plasmática, com aumento da permeabilidade e comprometimento da integridade estrutural celular (TRAN; GRAHAM; ADUKWU, 2020).

Esse comportamento é coerente com a composição química do óleo essencial dos frutos, caracterizada pela predominância de sesquiterpenos e sesquiterpenoides, como cariofileno, óxido de cariofileno e espatulenol, compostos reconhecidos por sua natureza lipofílica e capacidade de interação com membranas biológicas. A presença simultânea de hidrocarbonetos terpênicos e derivados oxigenados pode favorecer diferentes tipos de interação, incluindo inserção na bicamada lipídica e perturbação da organização estrutural da membrana (LEITE et al., 2015).

Embora esses resultados não permitam a definição de um mecanismo de ação específico, eles fornecem evidências consistentes de um efeito associado à membrana, contribuindo para a construção de uma hipótese mecanística que será posteriormente discutida em conjunto com os dados de interação com fluconazol e as análises *in silico*.

4.5 Análise *in silico* e correlação com os dados experimentais

4.5.1 Validação do Protocolo de Docking

A validação do protocolo de docking foi realizada por meio do redocking dos ligantes co-cristalizados presentes nas estruturas das proteínas 5V5Z (ligante 1YN), 5TZ1 (ligante VT1) e 5FSA (ligante X2N), todas associadas à enzima CYP51 de *C. albicans*. Os dados de gridbox pode ser visto na tabela 7 abaixo.

Tabela 7. Principais parâmetros do arquivo de configuração (config.txt) empregados no redocking das enzimas 5V5Z, 5TZ1 e 5FSA.

Proteína (Receptor)	Ligante	Center x	Center y	Center z	Size x	size y	Size z	exhaustiveness
5V5Z	1YN	-38.357	-19.239	25.342	40	50	40	1000
5TZ1	VT1	72.915	66.463	3.815	22	40	32	1000
5FSA	X2N	195.009	-1.596	35.690	32	40	32	1000

Para cada estrutura cristalográfica, os ligantes co-cristalizados foram inicialmente removidos e, em seguida, preparados individualmente para o processo de redocking. O preparo envolveu a adição de hidrogênios polares, definição de cargas parciais e conversão dos arquivos

para o formato PDBQT, compatível com o AutoDock Vina. Em seguida, foi realizado o redocking utilizando o software AutoDock Vina, com a geração de 10 poses conformacionais para cada composto, permitindo avaliar a melhor orientação possível no sítio ativo da proteína em relação ao ligante original. A tabela 8 mostra os resultados numéricos dessa análise.

Tabela 8. Melhores afinidades (kcal/mol), faixa de afinidades obtidas e valores de RMSD relativos à pose cristalográfica.

Proteína (Ligante)	Melhor Afinidade (kcal/mol)	Faixa das Demais Poses (kcal/mol)	RMSD em relação ao cristal (Å)
5V5Z (1YN)	-12,7	-12,0 a -12,7	1,360
5TZ1 (VT1)	-12,7	-11,6 a -12,7	0,558
5FSA (X2N)	-13,2	-12,2 a -13,1	0,758

Todos os valores ficaram abaixo do limite de 2,0 Å, considerado adequado para validar a reprodutibilidade do docking. As energias de ligação preditas para as melhores poses foram -12,7 a -13,2. As análises visuais confirmaram a manutenção do posicionamento dos ligantes no interior do sítio ativo, incluindo coordenação axial com o ferro do grupo heme, além de múltiplas interações hidrofóbicas e aromáticas com resíduos como Tyr132, Leu376, Phe126, Met508 e His310.

Esses resultados indicam que o protocolo empregado é confiável e reproduz satisfatoriamente as poses experimentais, servindo como referência para os compostos dos óleos essenciais avaliados nas etapas seguintes como podem ser vistos nas Figuras 3, 4 e 5, onde as proteínas CYP51 (PDB: 5V5Z, 5TZ1 e 5FSA) podem ser visualizadas em sua forma de superfície. Nas figuras 6, 7 e 8 podem ser vistos em destaque as interações entre o ligante padrão e o substrato da proteína, bem como sua posição na cavidade proteica.

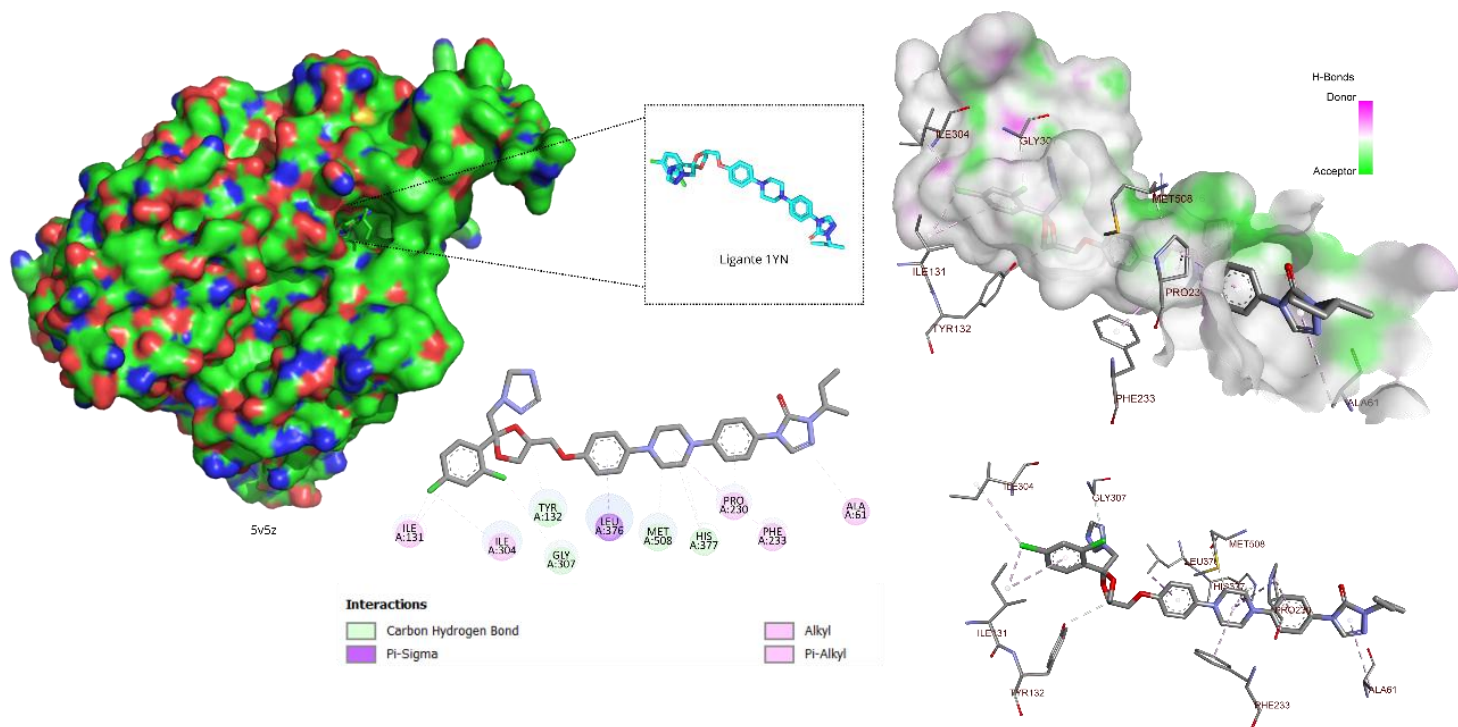


Figura 4. Estrutura do CYP51 do patógeno *C. albicans*. Em destaque o grupo Heme (protoporfirina ix contendo fe) e o ligante 1YN (2-[(2R)-butan-2-il]-4-{4-[4-(4-{[(2R,4S)-2-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolano-4-il]metoxi} fenil)

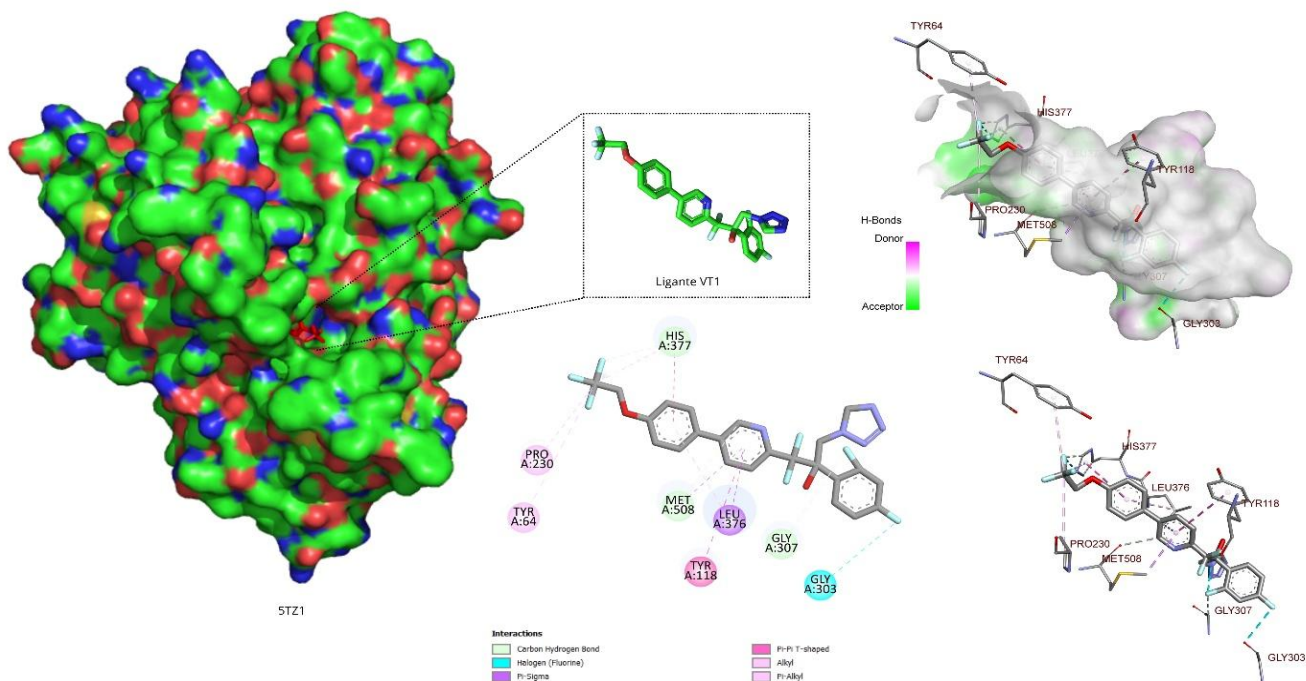


Figura 3. Estrutura cristalina do estero 14 α -desmetilase (CYP51) de *C. albicans* em complexo com antifúngico à base de tetrazol VT1161 (VT1).

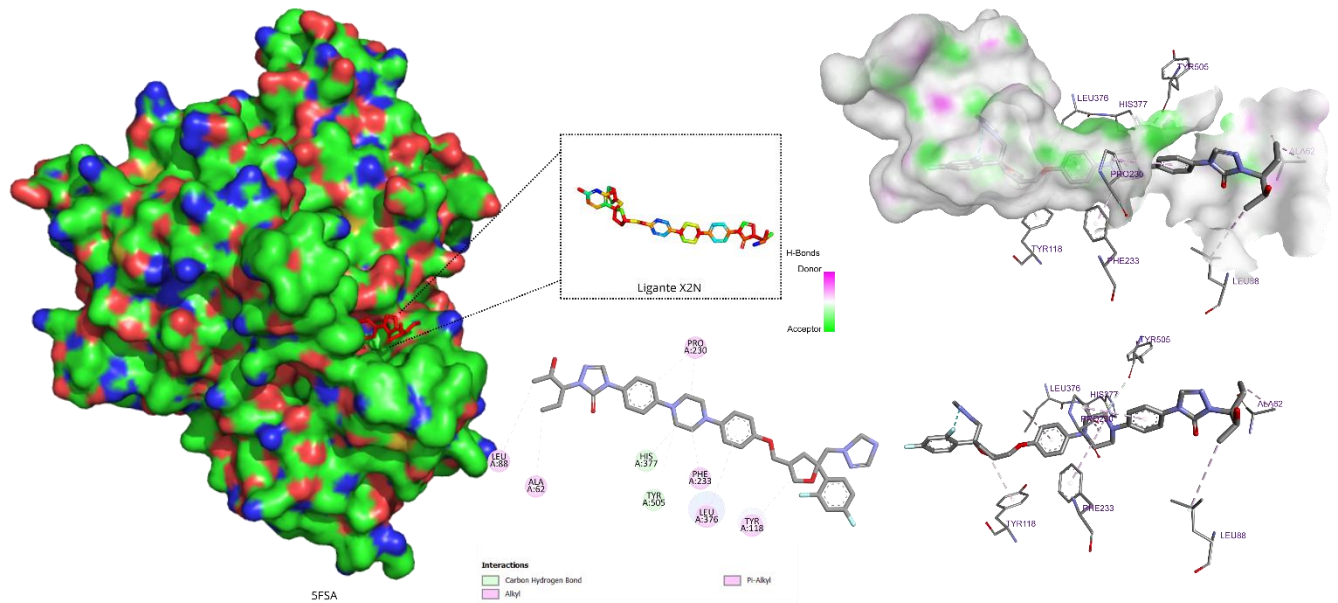


Figura 5. Estrutura cristalina do estero1 14-alfa desmetilase (CYP51) de uma levedura patogênica *C. albicans* em complexo com o antifúngico posaconazol (X2N).

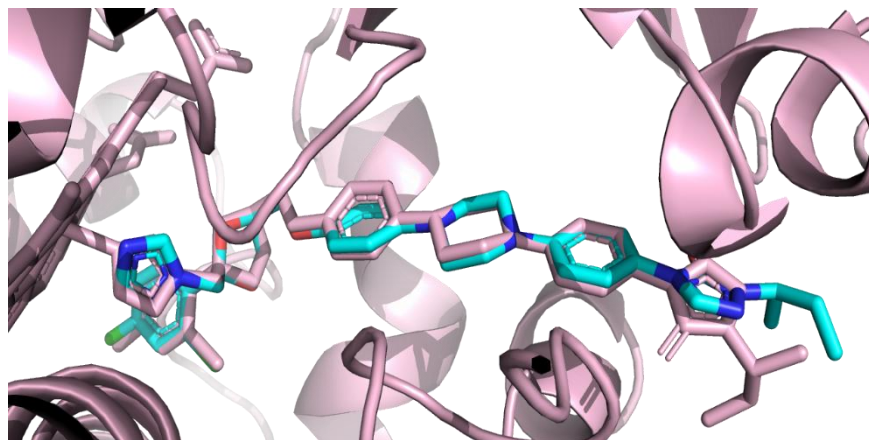


Figura 6. Alinhamento entre o ligante 1YN da proteína 5V5Z e a pose_1 (em destaque) gerada pelo protocolo de docking.

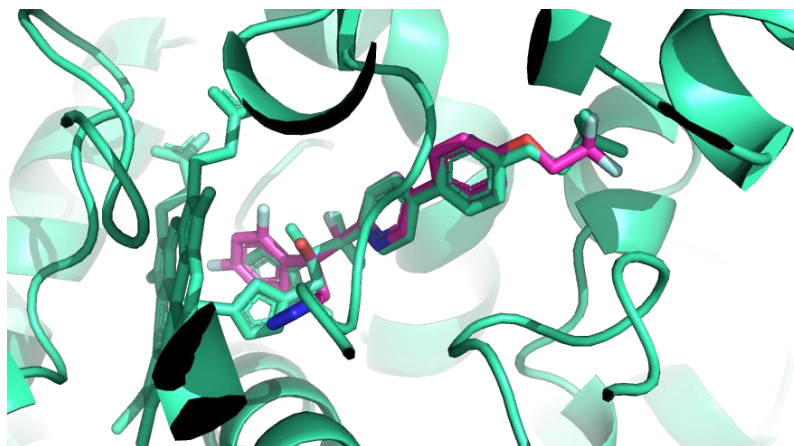


Figura 7. Alinhamento entre o ligante VT1 da proteína 5TZ1 e a pose_1 (em destaque) gerada pelo protocolo de docking.

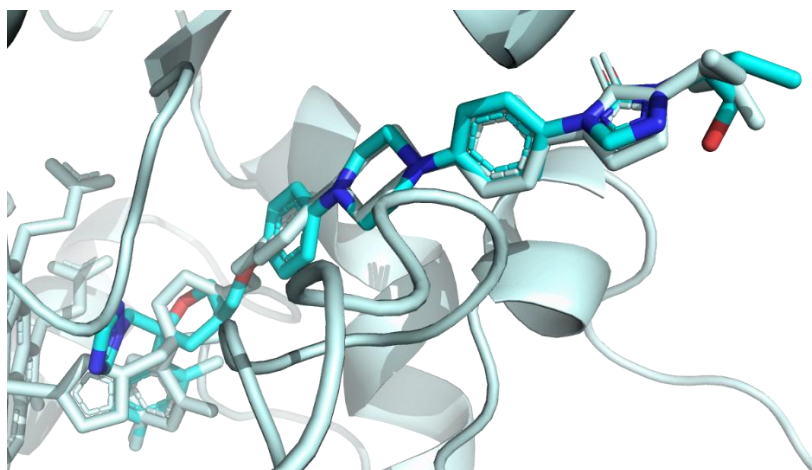


Figura 8. Alinhamento entre o ligante X2N da proteína 5FSA e a pose_1 (em destaque) gerada pelo protocolo de docking.

4.5.2 Avaliação da Afinidade de Ligação dos Compostos dos Óleos Essenciais com Alvos Proteicos

A Tabela 9 apresenta os valores de afinidade de ligação (kcal/mol) obtidos por docking molecular para os principais compostos do óleo essencial com as proteínas CYP51 de *C. albicans* (PDB IDs: 5V5Z, 5TZ1 e 5FSA). Valores negativos altos indicam interações mais favoráveis com o sítio ativo das enzimas, sugerindo maior potencial antifúngico.

Para detalhamento das interações moleculares, foram selecionados os cinco compostos com

a melhor afinidade média de ligação frente às três proteínas-alvo, em evidência na tabela 10. Esses cinco compostos, que demonstraram o maior potencial global de interação, são analisados em profundidade nas próximas seções, com visualizações 2D e 3D de suas interações no sítio ativo.

Tabela 9. Análise Comparativa das Afinidades de Ligação (kcal/mol) dos compostos naturais com a enzima CYP51 de *C. albicans* (PDB: 5V5Z, 5TZ1 e 5FSA) por docking molecular.

Compostos	Enzimas de <i>C. albicans</i> (ATCC76485)		
	5V5Z	5TZ1	5FSA
α -Pineno	-6.80	-6.70	-6.70
β -Pineno	-6.70	-6.60	-6.80
Eucaliptol	-6.70	-6.80	-6.70
Terpinen-4-ol	-6.90	-6.70	-6.70
Ciclosativeno	-8.80	-9.10	-8.70
Copaneno	-8.50	-8.80	-8.90
Elemeno	-8.00	-8.50	-8.10
Cariofileno	-9.40	-9.20	-9.20
β -Celareno	-8.90	-8.90	-8.80
(-) α -Panasinsen	-9.20	-8.70	-9.00
Humuleno	-9.50	-9.30	-9.00
Aromandreno	-8.80	-8.80	-8.90
2-Isopropenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidronaftaleno	-8.80	-8.60	-9.00
α -Muuroleno	-8.70	-8.80	-8.80
β -Longipineno	-9.10	-9.00	-9.00
β -Selineno	-8.90	-8.80	-8.80
(1R,5S)-1,8-Dimetil-4-(propan-2-ilideno)spiro[4.5]dec-7-eno	-8.70	-8.90	-9.10
α -Selineno	-8.80	-8.60	-9.10
γ -Muuroleno	-8.50	-9.10	-9.10
Cubeneno	-8.70	-8.80	-8.60
cis-Calameneno	-8.80	-9.00	-8.90
Spatulenol	-8.90	-8.20	-8.90
Óxido de Cariofileno	-8.40	-8.60	-8.50
Isovalencenol	-8.20	-8.10	-8.40
Ledol	-9.00	-8.70	-9.30

Epóxido Humuleno I	-9.10	-9.10	-9.20
Cubenol	-8.30	-8.50	-8.70
(-)-Spatulenol	-8.90	-8.20	-8.90
10,10-Dimetil-2,6-dimetilenobiciclo[7.2.0]undecan-5 β -ol	-8.90	-9.00	-8.90
Acetato de Tau-Cadinol	-9.00	-9.10	-9.40
Tau-Cadinol	-8.10	-8.70	-8.70
τ -Muurolol	-8.40	-9.10	-9.00
α -Cadinol	-8.40	-9.10	-9.00
Neointermedeol	-8.80	-8.40	-9.00
(1R,7S,E)-7-Isopropil-4,10-dimetilenociclododec-5-enol	-8.80	-9.00	-9.10

O conjunto de pontuações (ΔG) evidencia um padrão robusto, visto que os sesquiterpenos concentram as melhores afinidades nos três alvos de *C. albicans*, com destaque recorrente para humuleno e cariofileno ($\approx -9,3 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$). Em contraste, os monoterpênos (α/β -pineno, eucaliptol, terpinen-4-ol) permanecem em torno de $-6,7$ a $-6,9 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, sugerindo contribuição de ligação mais fraca. Esse gradiente já configura uma relação estrutura-atividade intuitiva: maior superfície hidrofóbica, geometria mais rígida e esqueleto policíclico tendem a maximizar o encaixe e a estabilização do complexo.

Entre os sesquiterpenos, dois arquétipos ajudam a explicar o desempenho. Os hidrocarbonetos bicíclicos (humuleno, cariofileno, β -longipineno, muurolenos, selinenos) preenchem canais apolares e exploram extensivamente contatos hidrofóbicos/ π -alkyl, com menor penalidade entrópica pela rigidez conformacional (JONES et al., 2008). Já os derivados oxigenados (acetato de tau-cadinol, ledol, epóxido de humuleno I, τ -muurolol, α -cadinol) preservam o “corpo” hidrofóbico, mas acrescentam pontos de ancoragem polar (OH, epóxido, acetato), capazes de formar pontes de H ou interações dipolares periféricas quando o bolso oferece essa oportunidade (NIKONOVA et al., 2004).

As nuances por alvo reforçam essa leitura. Em CYP51 (5V5Z) e CYP51 (5TZ1), humuleno e cariofileno lideram, seguidos de hidrocarbonetos de perfil semelhante, sugerindo bolsos predominantemente apolares em que o empacotamento volumétrico domina (CRUNKHORN, 2017). Em 5FSA, os melhores passam a incluir acetato de tau-cadinol e ledol, no alvo CYP51 (5FSA), indicando maior tolerância (ou preferência) por grupos polares na borda do sítio. Embora as séries mostrem correlações altas (tendência global compartilhada), a troca de posições entre

compostos revela micro-preferências de cada bolso, úteis para desenhar combinações com cobertura química complementar (SUN; JIANG; WANG, 2009).

Tabela 10. Ranking dos compostos por energia de ligação (ΔG , kcal·mol⁻¹) frente à enzima CYP51 de *C. albicans* (PDB: 5V5Z, 5TZ1 e 5FSA).

Posição	5V5Z		5TZ1		5FSA	
1	Humuleno		Humuleno		Acetato de Tau-	
		-9.50		-9.30	Cadinol	-9.40
2	Cariofileno		Cariofileno		Ledol	
		-9.40		-9.20		-9.30
3	(-) α -Panasinseno		α -Cadinol		Epóxido	
		-9.20		-9.10	Humuleno I	-9.20
4	Epóxido Humuleno		τ -Muurolol		Cariofileno	
	I	-9.10		-9.10		-9.20
5	β -Longipineno		γ -Muuroleno		α -Selineno	
		-9.10		-9.10		-9.10

A distribuição hierárquica de afinidades apresentada na Tabela 10 reforça a coerência entre os dados de docking e a aditividade experimental observada para OE-frutos + fluconazol (FICI $\approx$ 0,625). Em 5V5Z e 5TZ1, humuleno e cariofileno ocupam as primeiras posições, sugerindo bolsos ativos majoritariamente apolares, nos quais o empacotamento volumétrico e a pressão hidrofóbica predominam. Já em 5FSA, compostos oxigenados como acetato de tau-cadinol e ledol lideram, indicando maior tolerância a grupos polares periféricos. Essas micropreferências estruturais entre alvos sustentam um modelo de efeito combinado sem antagonismo, no qual sesquiterpenos volumosos modulam a membrana e facilitam o desempenho do azólico no sítio canônico (MUNDHE; RAJKUMARI, 2025; UNGUREANU et al., 2025).

Do ponto de vista aplicado, destacam-se três perfis prioritários: (i) sesquiterpenos apolares (humuleno, cariofileno, β -longipineno); (ii) oxigenados (acetato de tau-cadinol, ledol, τ -muurolol, α -cadinol); e (iii) epóxidos do humuleno como intermediários hidrofóbico-polares. A validação pode prosseguir com frações enriquecidas nesses compostos em checkerboard, cinéticas de morte e ensaios de permeabilidade/ergosterol, associando evidências *in silico* e fenotípicas para consolidar a narrativa de complementaridade multi-alvo.

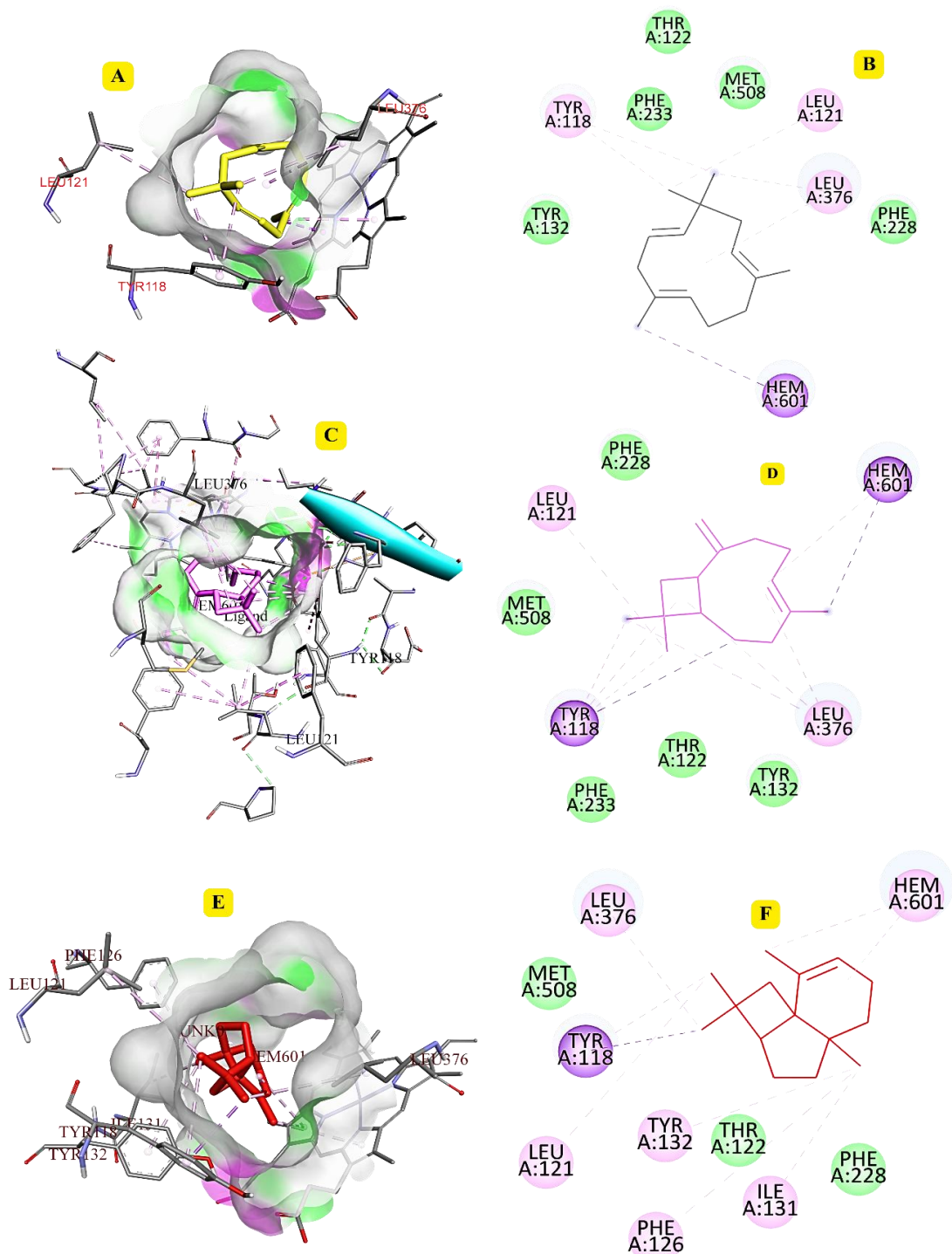


Figura 9. Representação tridimensional (3D) e bidimensional (2D) dos três compostos com melhor função de pontuação para o alvo 5V5Z. (A) Humuleno acomodado no sítio ativo da proteína e (B) seu respectivo mapa de interações em 2D; (C) Cariofileno no sítio ativo e (D) seu mapa de interações em 2D; (E) (-)-α-Panasinseno no sítio ativo e (F) sua representação em 2D.

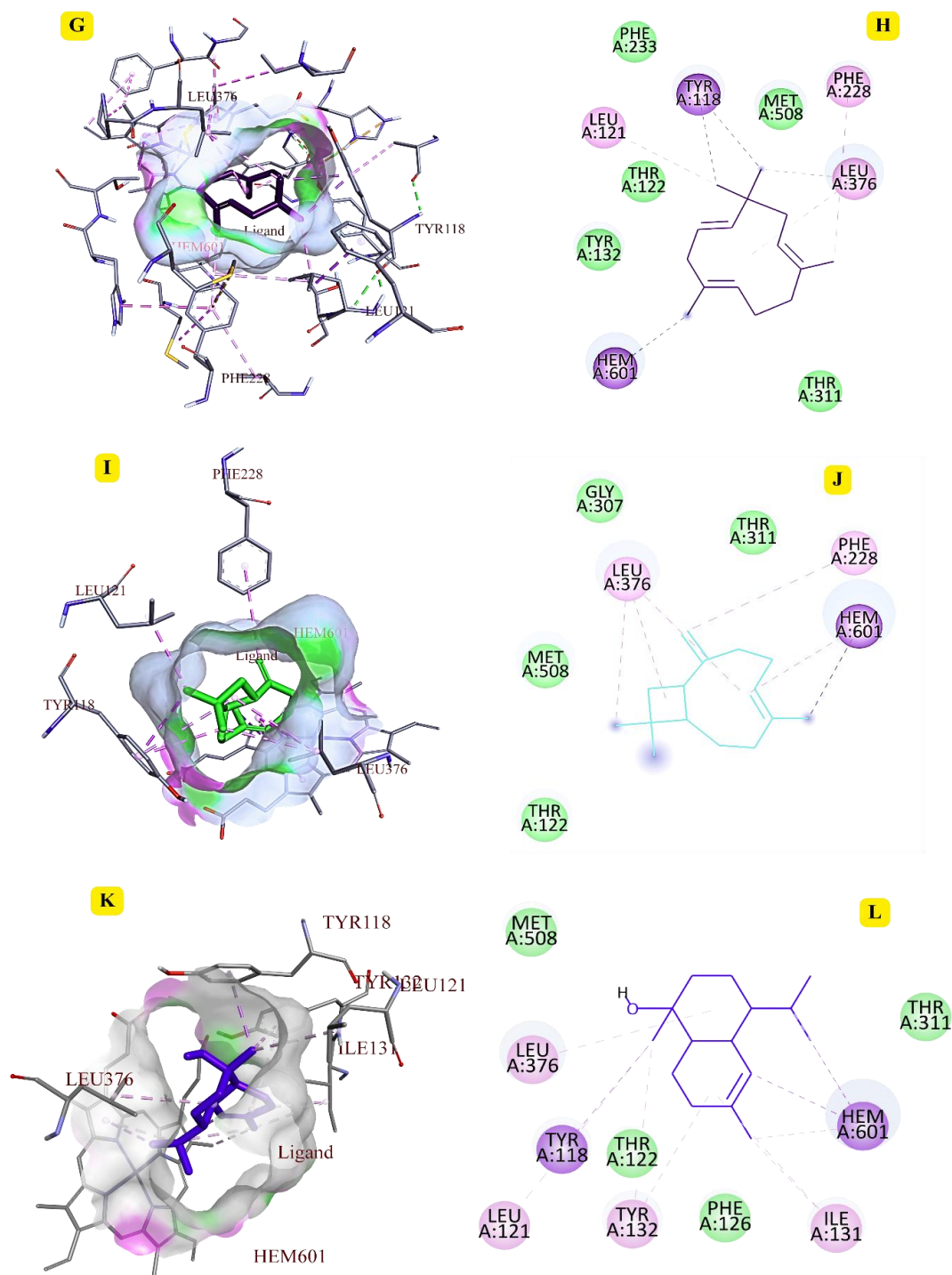


Figura 10. Representação tridimensional (3D) e bidimensional (2D) dos três compostos com melhor função de pontuação para o alvo 5TZ1. (G) Humuleno acomodado no sítio ativo da proteína e (H) seu respectivo mapa de interações em 2D; (I) Cariofileno no sítio ativo (J) seu mapa de interações em 2D; (K) α -Cadinol no sítio ativo e (L) sua representação em 2D.

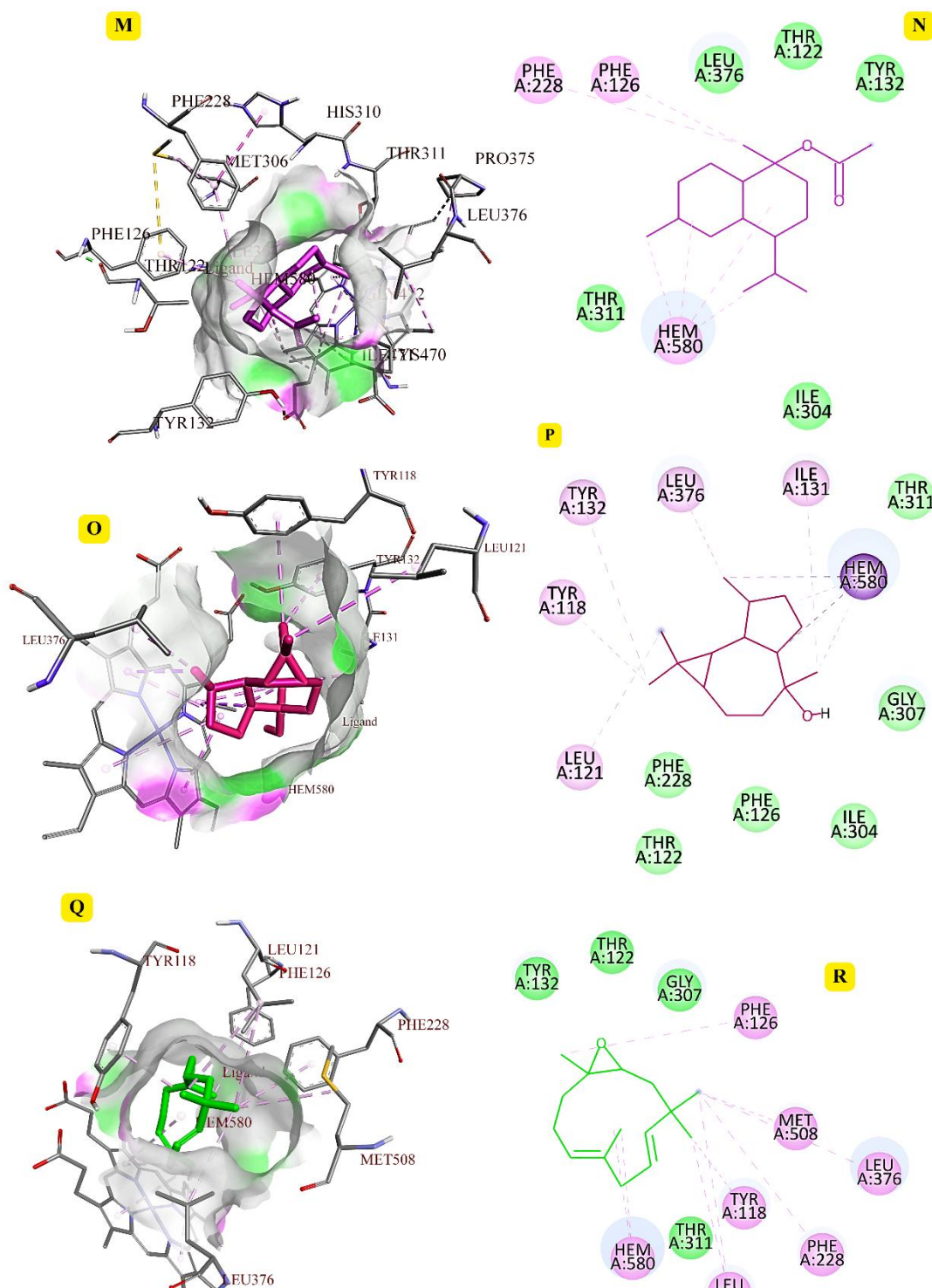


Figura 11. Representação tridimensional (3D) e bidimensional (2D) dos três compostos com melhor função de pontuação para o alvo 5FSA. (M) Acetato de Tau-Cadinol acomodado no sítio ativo da proteína e (N) seu respectivo mapa de interações em 2D; (O) Ledol no sítio ativo da proteína e (R) seu mapa de interações em 2D.

Dentre os cinco compostos selecionados com base nas afinidades preditas (Humuleno, Cariofileno, Acetato de τ -cadinol, Ledol e Epóxido de humuleno I), foram representados graficamente os três com melhores valores de ΔG e poses mais bem definidas em cada alvo (Figuras 1–3). Essa escolha visou destacar perfis estruturais contrastantes — hidrocarbonetos volumosos e derivados oxigenados — que refletem padrões complementares de interação nos sítios ativos.

Em 5V5Z e 5TZ1, Humuleno e Cariofileno mantiveram posicionamento profundo e interações predominantemente hidrofóbicas, em consonância com as maiores afinidades observadas (Tabela 1). Já em 5FSA, compostos oxigenados, como Acetato de τ -cadinol e Ledol, assumiram destaque, sugerindo maior tolerância a grupos polares periféricos. Essa distribuição hierárquica diferenciada entre alvos reforça a interpretação de micropreferências estruturais e explica, em parte, a aditividade observada para OE-frutos + fluconazol (FICI $\approx$ 0,625), sem evidência de antagonismo.

Em síntese, a distribuição hierárquica das afinidades, aliada à complementaridade estrutural entre os compostos, delineia um cenário consistente com a aditividade observada experimentalmente. Esses achados fornecem uma base sólida para estratégias combinatórias e apontam perspectivas promissoras para os próximos passos experimentais.

4.6 Integração dos resultados e implicações biológicas

A análise integrada dos resultados obtidos neste estudo revela um padrão biológico consistente, no qual a atividade antifúngica do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* se manifesta de forma relativamente uniforme entre diferentes espécies e linhagens de fungos, especialmente no gênero *Candida* (ABD RASHED et al., 2021). A manutenção de valores de CIM próximos entre as cepas avaliadas sugere a atuação sobre alvos celulares conservados, possivelmente relacionados à integridade da membrana plasmática. Esse comportamento é frequentemente observado em óleos essenciais ricos em terpenoides amplamente descritos na literatura (DEMYTTENAERE, 2001; GALINDO-SOLÍS; FERNÁNDEZ, 2022; GUIMARÃES et al., 2019), cuja atividade tende a ser menos dependente de especificidades genéticas de uma única linhagem e mais associada a propriedades físico-químicas gerais da célula fúngica (LEIVA-MORA et al., 2025).

Quando comparados à literatura (CAVALEIRO et al., 2006; NENOFF; HAUSTEIN; BRANDT, 1996), os valores de CIM obtidos neste estudo (64 µg/mL para *Candida spp.*) situam o óleo essencial de *M. verrucosa* dentro de uma faixa considerada biologicamente relevante para sistemas naturais complexos. Estudos com outros óleos essenciais demonstram grande variabilidade de atividade, incluindo sistemas com menor eficácia em ensaio direto ou com desempenho limitado em associação com antifúngicos convencionais. Em alguns casos, como relatado para o óleo essencial de *Eugenia uniflora*, a interação com fluconazol foi classificada como indiferente ou antagonista, evidenciando que nem todos os óleos apresentam comportamento farmacológico favorável em combinação (DOS SANTOS et al., 2018).

Em contraste, sistemas como os óleos de *Lippia origanoides* (SCALAS et al., 2018) e *Thymus vulgaris* (GIL et al., 2025) têm sido associados a efeitos sinérgicos mais pronunciados. Nesse contexto, o efeito aditivo observado para *M. verrucosa* pode ser interpretado como um comportamento intermediário, porém consistente e farmacologicamente relevante, uma vez que demonstra compatibilidade com fluconazol sem perda de atividade própria.

A interpretação desse padrão biológico torna-se mais robusta quando considerada à luz da composição química do óleo essencial. A predominância de sesquiterpenos e sesquiterpenoides, associada a uma fração menor de monoterpenos, configura uma matriz química lipofílica e estruturalmente diversa. Compostos como cariofileno, óxido de cariofileno e espatulenol apresentam características que favorecem interações com sistemas biológicos, especialmente membranas (SANTOS et al., 2021; SELESTINO NETA et al., 2017).

Esse perfil é compatível com a literatura, que descreve maior contribuição de sesquiterpenos para atividades antimicrobianas em comparação a monoterpenos, frequentemente devido à sua maior capacidade de interação hidrofóbica com a bicamada lipídica. Nesse cenário, a atividade antifúngica observada pode ser interpretada como resultado de um efeito coletivo, no qual diferentes classes de compostos contribuem de forma complementar, evidencia sustentada por (VAN VUUREN; SULIMAN; VILJOEN, 2009) em “*The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials*” além de outras literaturas relacionadas (CHOUHAN; SHARMA; GULERIA, 2017; SOULAIMANI, 2025).

Os ensaios voltados à investigação de mecanismo de ação fornecem suporte experimental adicional para essa interpretação. A ausência de alteração da CIM na presença de sorbitol indica que a atividade antifúngica não está associada à parede celular, enquanto o aumento da CIM na

presença de ergosterol sugere uma possível interação com componentes esterólicos da membrana. Esse comportamento encontra paralelos na literatura, na qual diversos óleos essenciais têm sido associados à desestabilização da membrana plasmática e à interferência na homeostase de esteróis (BIERNASIUK; BAJ; MALM, 2022; LIMA et al., 2012).

No entanto, nem todos os compostos seguem esse padrão; estudos com moléculas como citral (DE MENEZES et al., 2023) demonstram que atividades antifúngicas semelhantes podem ocorrer por mecanismos distintos, sem envolvimento direto com ergosterol. Essa variabilidade reforça a necessidade de interpretar os resultados como indicativos, e não como evidência definitiva de um mecanismo único (ZHENG et al., 2021).

A análise *in silico* complementa os dados experimentais ao indicar que diversos constituintes do óleo essencial apresentam afinidade favorável com a enzima lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51), um alvo central na biossíntese de ergosterol. A predominância de interações hidrofóbicas observada no docking favorece compostos apolares, como os sesquiterpenos, o que está de acordo com a composição química do óleo. Estudos computacionais com produtos naturais têm demonstrado que a CYP51 é um alvo recorrente em análises preditivas envolvendo compostos terpênicos, embora tais resultados devam ser interpretados com cautela (SISWINA et al., 2023). No presente estudo, a convergência entre docking e ensaio com ergosterol sugere, de forma consistente, que a via de biossíntese de esteróis pode estar envolvida, ainda que não seja possível afirmar exclusividade desse mecanismo.

Adicionalmente, a inspeção detalhada dos mapas de interação revelou um padrão recorrente de contatos predominantemente hidrofóbicos envolvendo resíduos-chave do sítio ativo da CYP51, incluindo Tyr118, Tyr132, Phe228, Phe233, Leu121, Leu376 e Met508, além da proximidade consistente com o grupo prostético heme (HEM A:601). Esse arranjo indica que o sítio de ligação favorece ligantes apolares com elevada complementaridade conformacional, nos quais o reconhecimento molecular é guiado principalmente por forças dispersivas e empacotamento estérico. Comportamento semelhante pode ser observado nos derivados de 1,2,4-triazol, promissores agentes antifúngicos (SADEGHIAN et al., 2023) e que sustentam a argumentação para o óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa*.

Esse achado é particularmente relevante para os sesquiterpenos identificados no óleo essencial, como humuleno, cariofileno e (-)- α -panasinseno, cuja natureza hidrocarbonada favorece a acomodação em cavidades lipofílicas. A recorrência desses resíduos entre diferentes ligantes

sugere a existência de um núcleo de interação conservado dentro do sítio ativo, no qual compostos estruturalmente distintos podem ser estabilizados por um mesmo ambiente hidrofóbico (SABT et al., 2022).

Nesse contexto, a afinidade observada não parece depender de interações polares altamente específicas, mas sim de uma compatibilidade físico-química entre os ligantes e o microambiente do sítio catalítico. Essa característica ajuda a explicar, em nível molecular, como constituintes terpênicos — mesmo desprovidos de grupos funcionais fortemente reativos — podem interagir de forma favorável com alvos envolvidos na biossíntese de esteróis (KHAN et al., 2020).

Ainda que essas interações não constituam evidência direta de inibição enzimática, elas fornecem suporte estrutural consistente à hipótese de envolvimento da CYP51, especialmente quando consideradas em conjunto com os resultados experimentais obtidos no ensaio com ergosterol. Assim, os dados sugerem um cenário no qual a atividade antifúngica pode emergir da convergência entre interações em nível molecular e efeitos físico-químicos sobre sistemas de membrana (FARIS SHALAYEL et al., 2024).

A avaliação da interação com fluconazol, por meio do ensaio de checkerboard, revelou efeito aditivo, indicando ausência de antagonismo e possível compatibilidade farmacológica. Na literatura, observa-se que interações entre óleos essenciais e antifúngicos variam amplamente, podendo resultar em sinergismo, aditividade ou antagonismo, dependendo da composição química e do mecanismo envolvido (SINGH et al., 2023). Nesse cenário, o comportamento observado para *M. verrucosa* reforça a hipótese de atuação por múltiplas vias, nas quais o óleo essencial pode complementar a ação do fluconazol sem competir diretamente pelo mesmo sítio de ação.

Em conjunto, os resultados obtidos sustentam a hipótese de que a atividade antifúngica do óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* emerge de um sistema químico complexo e multifatorial. A combinação de dados experimentais e computacionais sugere a atuação simultânea sobre a membrana plasmática, a biossíntese de esteróis e possivelmente outros processos celulares ainda não explorados (SANA et al., 2026). Esse comportamento é compatível com o conceito de abordagem multialvo, no qual diferentes constituintes contribuem de forma integrada para o efeito biológico observado. Assim, a atividade antifúngica não deve ser atribuída a um único composto ou mecanismo isolado, mas sim à interação dinâmica entre os componentes da matriz química, resultando em um efeito emergente (CASCAES et al., 2023).

Essa interpretação deve ser compreendida como um modelo conceitual, construído a partir da convergência entre diferentes abordagens metodológicas, e que pode orientar investigações futuras voltadas à elucidação mais detalhada dos mecanismos envolvidos.

O óleo essencial dos frutos de *M. verrucosa* apresentou atividade antifúngica consistente, com padrão uniforme entre diferentes espécies, sugerindo atuação sobre estruturas celulares conservadas. Os resultados experimentais indicam envolvimento da membrana plasmática, enquanto as análises *in silico* apontam a CYP51 como alvo potencial, sustentado por interações hidrofóbicas favoráveis no sítio ativo. Em conjunto, os dados suportam um mecanismo multifatorial, no qual a atividade emerge da complementaridade entre os constituintes do óleo, reforçando seu potencial como sistema bioativo de ação multialvo.

5.0 FOLHAS DE *M. verrucosa*: COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E POTENCIAL MULTIALVO

A emergência de microrganismos resistentes a antimicrobianos representa um dos principais desafios da medicina contemporânea, impulsionando a busca por novas estratégias terapêuticas (KUMAR et al., 2013). Nesse contexto, produtos naturais têm se destacado como uma fonte relevante de compostos bioativos, devido à sua elevada diversidade estrutural e à capacidade de interagir com múltiplos alvos biológicos. Diferentemente de moléculas sintéticas altamente específicas, metabólitos secundários de origem vegetal frequentemente apresentam perfis de ação mais complexos, o que pode contribuir para a redução do desenvolvimento de resistência microbiana (NUNES et al., 2022; RODRIGUES et al., 2020).

Entre os patógenos de maior relevância clínica, *S. aureus* destaca-se pela sua capacidade adaptativa e pela associação com infecções de difícil tratamento. A identificação de compostos capazes de atuar sobre diferentes vias celulares tem se tornado uma abordagem promissora, especialmente no contexto de estratégias multialvo (RABELLO et al., 2020; ROSSI, 2011).

A investigação da atividade biológica de espécies vegetais frequentemente revela variações entre diferentes órgãos da planta, refletindo diferenças na composição química e nas funções ecológicas associadas a cada tecido (JANOTTO et al., 2023; MELO et al., 2019; ROSSI, 2011).

No caso de *M. verrucosa*, enquanto os frutos apresentam atividade antifúngica relevante, as folhas exibem um perfil metabólico distinto, com potencial para atuação frente a bactérias como *S. aureus*.

O óleo essencial das folhas é caracterizado pela predominância de terpenoides, especialmente sesquiterpenos e monoterpenos, cuja diversidade estrutural sugere a possibilidade de múltiplas interações com sistemas biológicos. Essa complexidade está frequentemente associada a mecanismos de ação distribuídos, envolvendo tanto interações com membranas celulares quanto a modulação de proteínas envolvidas em processos metabólicos essenciais (BACHIR; BENALI, 2012).

Nesse cenário, a integração entre dados experimentais e abordagens *in silico*, como o docking molecular, permite a identificação de possíveis alvos biológicos e a construção de hipóteses mecanísticas mais robustas (SWAIN et al., 2023). A análise de múltiplos alvos, incluindo proteínas relacionadas à biossíntese da parede celular, divisão bacteriana e metabolismo, possibilita explorar o potencial multialvo de compostos naturais (AOUF et al., 2022).

Diante disso, o presente capítulo tem como objetivo discutir, de forma integrada, os resultados obtidos a partir do óleo essencial e dos extratos das folhas de *M. verrucosa*, incluindo a caracterização química, a avaliação da atividade antibacteriana, os ensaios de citotoxicidade e as análises *in silico* direcionadas a alvos-chave de *S. aureus*. A abordagem adotada busca estabelecer conexões entre diferentes níveis de evidência, contribuindo para a proposição de um modelo interpretativo consistente para a atividade observada.

5.1 Elucidação da composição química do óleo essencial das folhas de *M. verrucosa*

A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) permitiu a identificação de 45 constituintes no óleo essencial das folhas de *M. verrucosa*, correspondendo a 91,95% da composição total.

O perfil químico revelou predominância de sesquiterpenos hidrocarbonetos (47,70%), seguidos por hidrocarbonetos monoterpênicos (20,67%), sesquiterpenos oxigenados (14,57%) e monoterpenos oxigenados (8,70%), além de uma fração minoritária de ésteres (0,31%).

Os principais constituintes identificados foram cariofileno (15,96%), β -pineno (14,00%), α -selineno (9,14%), eucaliptol (7,57%), β -helmiscapeno (6,55%), α -pineno (5,81%) e humuleno (5,36%), que juntos representaram mais de 60% da fração volátil do óleo essencial. Compostos de

menor abundância incluíram spatulenol (4,88%), óxido de cariofileno (3,15%), cubeneno (2,74%) e neointermedeol (1,96%).

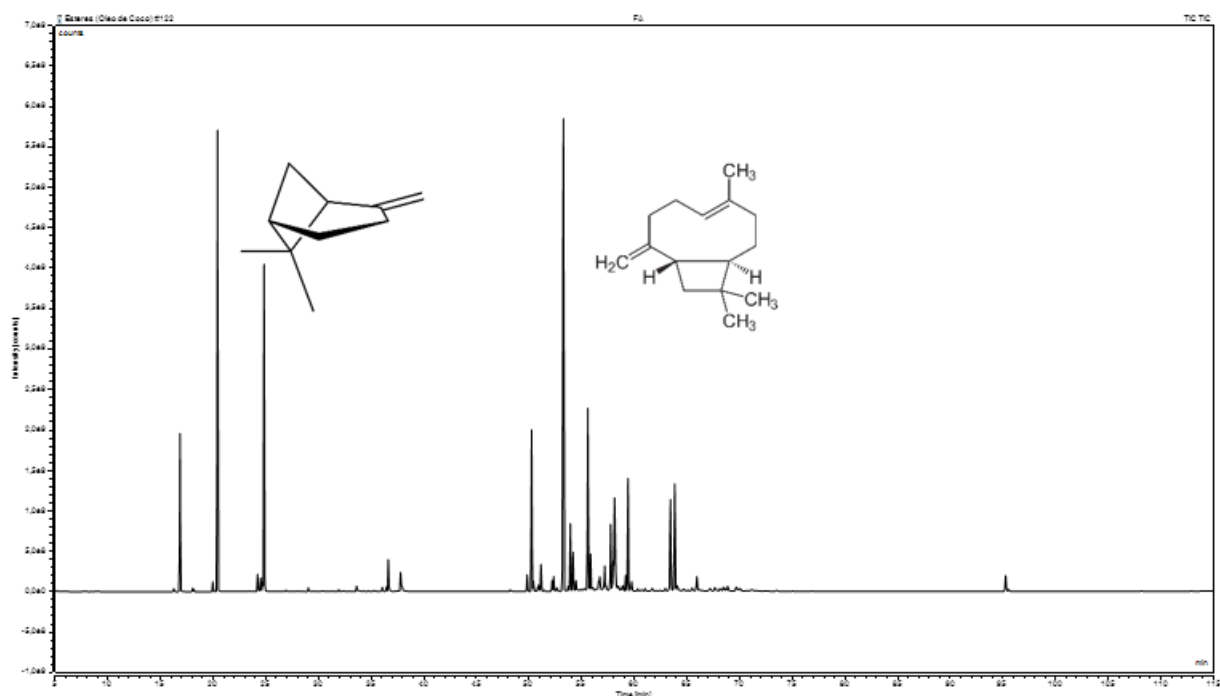


Figura 12. Cromatograma do óleo essencial das folhas de *M. verrucosa* extraído por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado.

5.2 Atividade antibacteriana, natureza das frações e triagem fitoquímica das folhas de *M. verrucosa*

A atividade antibacteriana dos extratos e do óleo essencial das folhas de *M. verrucosa* foi avaliada frente à cepa *S. aureus* ATCC 25923, e os resultados encontram-se apresentados na Tabela 11. De modo geral, observou-se um comportamento distinto entre as frações avaliadas, evidenciando diferenças marcantes associadas à natureza química dos constituintes presentes. Vale salientar que os outros microrganismos apresentados junto com a bactéria (*S. aureus*) estão dispostos na tabela para comparação dos efeitos do óleo essencial em estudo frente a diferentes microrganismos.

O óleo essencial apresentou atividade antibacteriana relevante, com concentração inibitória mínima (CIM) de 64 µg/mL, indicando potencial significativo frente ao microrganismo testado.

Em contraste, os extratos obtidos com solventes de baixa e média polaridade (hexano, diclorometano, clorofórmio e acetato de etila) não demonstraram atividade nas condições avaliadas, sendo observada a presença de crescimento microbiano. O extrato metanólico apresentou atividade limitada, com CIM de 1024 µg/mL, sugerindo baixa eficácia antibacteriana quando comparado ao óleo essencial. Um resultado semelhante foi descrito para os extratos obtidos dos galhos de *Dorstenia mannii* (Moraceae) (MBAVENG et al., 2012) e *M. tenuiflora* (SILVA et al., 2020).

Tabela 11. Resultados da média da avaliação (n=3) da Concentração Inibitória Mínima/CIM (µg/mL) do óleo essencial de folhas e de frutos *M. verrucosa* contra *S. aureus*. Os demais microrganismos estão dispostos na tabela para mera comparação.

Óleo essencial (µg/mL)	<i>S. aureus</i> ATCC- 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC-25853
Folhas	64	64
Ext. Hexânico	+	+
Ext. Clorofórmico	+	+
Ext. Acetato De Etila	+	+
Ext. Metanólico	+	+
Controle: Gentamicina	128	128

Esse padrão evidencia uma clara dissociação entre as frações quanto à atividade biológica, indicando que os compostos responsáveis pelo efeito antibacteriano estão concentrados predominantemente na fração volátil. Considerando a composição química típica de óleos essenciais, esse comportamento pode ser associado à presença de terpenoides, especialmente monoterpenos e sesquiterpenos, cujas propriedades lipofílicas favorecem interações com estruturas celulares bacterianas (RIZWAN et al., 2022).

Por outro lado, os extratos obtidos por solventes orgânicos, particularmente o extrato metanólico, tendem a concentrar compostos de maior polaridade, como fenólicos e flavonoides, que, embora frequentemente associados a diferentes atividades biológicas, não demonstraram contribuição significativa para a atividade antibacteriana nas condições avaliadas (FERREIRA et al., 2022).

A ausência de atividade nos extratos apolares também sugere que compostos não voláteis de natureza lipofílica, como hidrocarbonetos de cadeia longa e ácidos graxos, não desempenham papel relevante na inibição de *S. aureus* neste sistema experimental. Esse resultado indica que a atividade observada não está relacionada apenas à lipofilicidade dos compostos, mas possivelmente à presença de estruturas químicas específicas capazes de interagir com alvos celulares bacterianos. Esse resultado contrasta com os dados obtidos para os ácidos graxo extraídos das partes aéreas de *M. invisa* que alcançaram resultados na faixa de 64 – 256 µg/mL (NANA et al., 2012).

Dessa forma, os resultados obtidos indicam que a atividade antibacteriana das folhas de *M. verrucosa* está predominantemente associada à fração volátil, enquanto os extratos apresentam contribuição limitada. Esses dados fornecem uma base importante para a interpretação dos resultados químicos e das análises *in silico*, que serão discutidos nas seções seguintes.

5.3 Triagem fitoquímica preliminar

A triagem fitoquímica preliminar foi realizada com o extrato metanólico bruto das folhas de *M. verrucosa*, utilizando testes qualitativos clássicos para a identificação de classes de metabólitos secundários. Os resultados encontram-se apresentados na Tabela 12.

Foram detectados compostos fenólicos e taninos por meio do teste com cloreto férrico, bem como flavonoides, evidenciados pela reação de Shinoda. A presença dessas classes indica a predominância de metabólitos de natureza polar no extrato metanólico, caracterizados pela presença de grupos hidroxila e estruturas aromáticas conjugadas. Foi observada a presença fraca de alcaloides pelo reagente de Bouchardat, enquanto o teste de espuma indicou presença discreta de saponinas.

A identificação de compostos fenólicos e flavonoides está em concordância com o perfil observado na atividade antioxidante, uma vez que essas classes são amplamente reconhecidas por sua capacidade de atuar como doadores de elétrons e neutralizadores de radicais livres (MORAES

et al., 2022). Esse comportamento está associado à presença de sistemas aromáticos conjugados e grupos funcionais capazes de estabilizar espécies reativas.

Tabela 12. Triagem fitoquímica qualitativa das classes de metabólitos secundários detectadas nos extratos foliares de *M. verrucosa*.

Classe Química	Teste aplicado	Resultado
Compostos Fenólicos	Cloreto Férrico	+
Flavonoides	Reagente Shinoda	+
Taninos	Ferric chloride	+
Alcaloides	Bouchardat	±
Saponinas	Teste da espuma	±
Positivo (+); negativo (-); fraco positivo (±)		

No entanto, apesar da presença dessas classes de metabólitos, o extrato metanólico apresentou atividade antibacteriana limitada frente a *S. aureus*, indicando que tais compostos não contribuíram de forma significativa para a inibição do crescimento bacteriano nas condições avaliadas. Esse resultado reforça a distinção funcional entre as frações da planta, sugerindo que diferentes classes químicas estão associadas a diferentes tipos de atividade biológica.

Dessa forma, a triagem fitoquímica preliminar fornece uma visão inicial da composição química do extrato metanólico, permitindo estabelecer relações entre classes de metabólitos e os perfis de atividade observados. Esses dados contribuem para a interpretação dos resultados experimentais e serão considerados em conjunto com as demais análises ao longo do capítulo.

5.4 Perfil lipídico (FAME) das folhas de *M. verrucosa*

A caracterização do perfil lipídico das folhas de *M. verrucosa* foi realizada por meio da análise de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME), obtidos a partir do extrato hexânico após derivatização. Essa abordagem permitiu a identificação de ácidos graxos de cadeia longa, contribuindo para a ampliação da descrição da composição química da espécie para além da fração volátil (CAVIGELLI; ROBERTSON; KLUG, 1995).

Foram identificados como principais constituintes o ácido linoleico (C18:2), o ácido oleico (C18:1) e o ácido tridecanoico (C13:0), evidenciando a presença de ácidos graxos insaturados e saturados na matriz vegetal. Esses compostos apresentam características estruturais distintas dos terpenoides, sendo formados por cadeias alifáticas relativamente lineares, com menor diversidade conformacional e funcional.

Do ponto de vista comparativo, a presença desses lipídios complementa o perfil químico das folhas, indicando que a espécie reúne diferentes classes de metabólitos com propriedades físico-químicas distintas. Enquanto os terpenoides presentes no óleo essencial são caracterizados por estruturas cíclicas e elevada volatilidade, os ácidos graxos apresentam maior estabilidade e menor complexidade estrutural, o que pode influenciar sua interação com sistemas biológicos.

Quando considerados em conjunto com os resultados de atividade antibacteriana, observa-se que as frações associadas a esses compostos não apresentaram efeito inibitório relevante frente a *S. aureus*. Esse comportamento sugere que, nas condições avaliadas, os ácidos graxos identificados não desempenham papel expressivo na atividade antibacteriana observada (AZEVEDO et al., 2024).

Adicionalmente, nas análises *in silico*, esses compostos apresentaram, de modo geral, energias de ligação menos favoráveis quando comparados aos constituintes terpênicos do óleo essencial, indicando menor afinidade predita frente aos alvos bacterianos selecionados. Embora esses dados possam caráter preditivo, eles acompanham a tendência observada experimentalmente (BAHR et al., 2021).

Dessa forma, a análise do perfil lipídico contribui para a compreensão da diversidade química das folhas de *M. verrucosa*, permitindo estabelecer distinções preliminares entre classes de metabólitos quanto ao seu comportamento biológico. Esses resultados serão considerados em conjunto com os demais dados experimentais nas etapas posteriores de interpretação.

5.5 Avaliação da toxicidade frente a *A. salina*

A toxicidade das amostras foi avaliada por meio do bioensaio com *A. salina*, e os valores de concentração letal média (LC₅₀) encontram-se apresentados na Tabela 13. O controle positivo (dicromato de potássio) apresentou alta toxicidade (LC₅₀ ≈ 50 µg/mL), confirmando a sensibilidade do ensaio e a confiabilidade dos resultados obtidos.

De modo geral, todas as amostras avaliadas exibiram toxicidade classificada como moderada, com exceção do extrato metanólico, que apresentou baixa toxicidade ($LC_{50} = 644, \mu\text{g/mL}$). O óleo essencial apresentou LC_{50} de $324,8 \mu\text{g/mL}$, enquadrando-se na faixa de toxicidade moderada, valor superior ao observado para alguns extratos apolares, como o extrato hexânico ($LC_{50} = 125,9 \mu\text{g/mL}$). Resultados semelhantes foram encontrados para a *M. caesalpinifolia* Benth (MONÇÃO et al., 2014).

A distribuição dos valores de LC_{50} entre as diferentes frações evidencia que a toxicidade não acompanha de forma direta o padrão de atividade antibacteriana. Embora o óleo essencial tenha apresentado maior atividade frente a *S. aureus*, sua toxicidade não foi a mais elevada entre as amostras, sendo inferior à observada para alguns extratos de menor polaridade (NTUNGWE N et al., 2020).

Esse comportamento sugere que diferentes classes de metabólitos contribuem de maneira distinta para os efeitos biológicos observados. Enquanto a atividade antibacteriana foi mais pronunciada na fração volátil, a toxicidade frente a *A. salina* mostrou-se distribuída entre diferentes extratos, indicando que compostos não voláteis também podem influenciar esse parâmetro (NAIMA et al., 2025).

A toxicidade moderada observada para o óleo essencial pode estar associada à presença de compostos terpênicos, cuja natureza lipofílica favorece interações amplas com sistemas biológicos. No entanto, a ausência de uma correspondência direta entre atividade antibacteriana e toxicidade sugere que esses efeitos não estão necessariamente vinculados aos mesmos mecanismos ou compostos predominantes (GATTO et al., 2020; RAHAMOUZ-HAGHIGHI et al., 2022; RAMOS, S. C. S. et al., 2009).

Dessa forma, os resultados obtidos no ensaio com *A. salina* contribuem para a caracterização biológica das amostras, permitindo uma avaliação comparativa entre as frações quanto ao seu potencial citotóxico. Esses dados serão considerados em conjunto com os demais resultados experimentais na discussão integrada apresentada posteriormente.

Tabela 13. Toxicidade aguda das amostras de *M. verrucosa* avaliada pelo ensaio com *A. salina*, expressa como LD₅₀ (µg/mL) e respectiva classificação toxicológica.

Amostra	LD ₅₀ (µg/mL)	Classificação toxicológica*
Dicromato de potássio (controle positivo)	~50	Alta toxicidade
Óleo Essencial	324,8	Toxicidade moderada
Extrato hexânico	125,9	Toxicidade moderada
Extrato clorofórmico	159,1	Toxicidade moderada
Extrato diclorometano	176,4	Toxicidade moderada
Extrato acetato de etila	207,5	Toxicidade moderada
Extrato metanólico	644,5	Baixa toxicidade

5.6 Avaliação da atividade antioxidante pelo método do radical DPPH

A atividade antioxidante do óleo essencial e dos extratos das folhas de *M. verrucosa* foi avaliada pelo método de sequestro do radical livre DPPH, e os resultados encontram-se apresentados na Figura 13. O ácido gálico, utilizado como padrão, apresentou elevada capacidade antioxidante, com valores de inibição superiores a 95% nas maiores concentrações testadas, confirmando a adequação do ensaio.

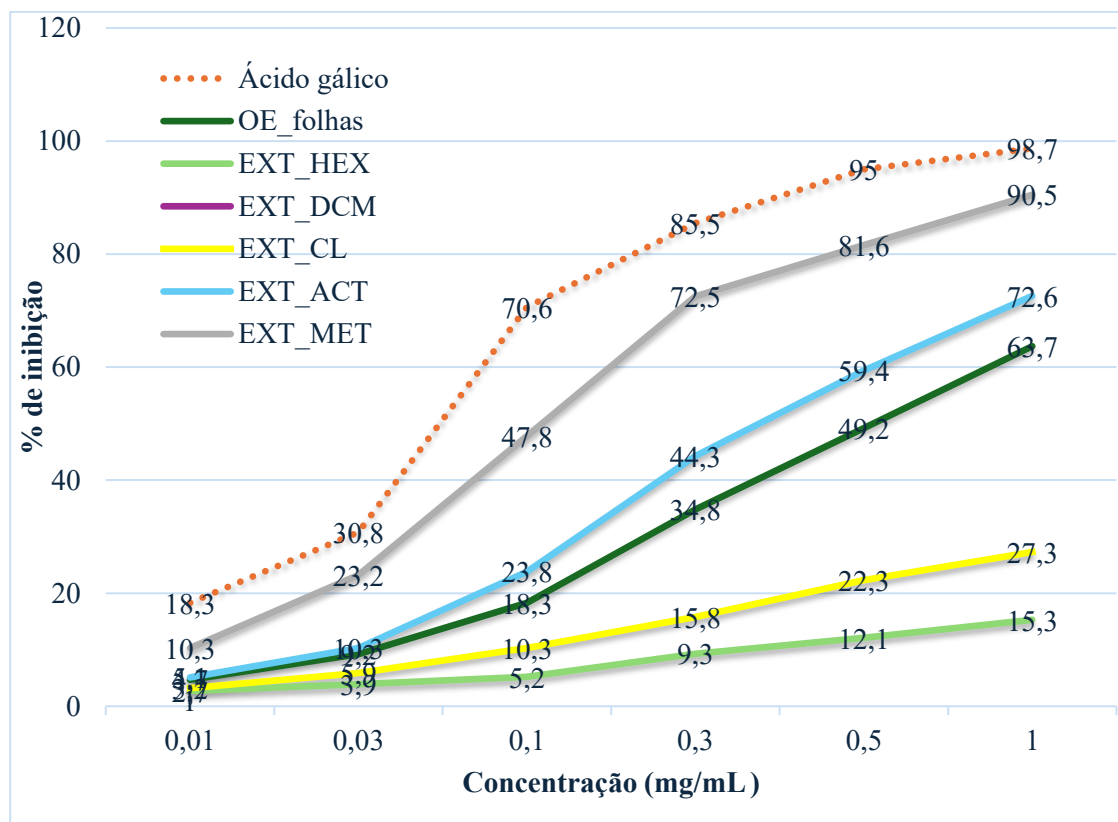


Figura 13. Atividade antioxidante avaliada pelo método do DPPH (% de inibição) para o óleo essencial das folhas (OE folhas) e extratos de *M. verrucosa* obtidos com diferentes solventes (hexano — EXT_HEX; diclorometano — EXT_DCM; clorofórmio — EXT_CL; acetato de etila — EXT_ACT; metanol — EXT_MET), em comparação ao ácido gálico (controle positivo), nas concentrações de 0,01 a 1,0 mg/mL.

Entre as amostras avaliadas, o extrato metanólico apresentou a maior atividade antioxidante, com valores de IC₅₀ estimados entre 0,11 e 0,13 mg/mL, indicando elevada capacidade de neutralização de radicais livres. O extrato de acetato de etila apresentou atividade intermediária, com IC₅₀ entre 0,35 e 0,40 mg mL⁻¹. Em contraste, os extratos de menor polaridade (hexano, diclorometano e clorofórmio) exibiram baixa atividade antioxidante, não atingindo 50% de inibição na concentração máxima testada (IC₅₀ > 1 mg/mL).

O óleo essencial apresentou atividade antioxidante intermediária, atingindo aproximadamente 64% de inibição na concentração de 1 mg/mL, com IC₅₀ estimado entre 0,48 e 0,52 mg/mL. Esse padrão evidencia uma clara relação entre a polaridade das frações e sua capacidade antioxidante, sendo as frações mais polares, especialmente o extrato metanólico, as mais eficazes no sequestro de radicais livres. Esse comportamento é coerente com os resultados da

triagem fitoquímica, que indicaram a presença de compostos fenólicos e flavonoides nessas frações, classes amplamente associadas à atividade antioxidante (TSIMOGIANNIS; BIMPILAS; OREOPOULOU, 2017).

Por outro lado, observa-se que as frações que apresentaram maior atividade antioxidante não coincidem com aquelas que exibiram maior atividade antibacteriana. Enquanto o extrato metanólico demonstrou elevada capacidade antioxidante, sua atividade frente a *S. aureus* foi limitada. Em contraste, o óleo essencial, que apresentou atividade antibacteriana mais pronunciada, exibiu apenas atividade antioxidante moderada.

Esse comportamento reforça a distinção funcional entre as classes de metabólitos presentes nas folhas de *M. verrucosa*, sugerindo que diferentes grupos químicos contribuem de maneira específica para diferentes tipos de atividade biológica. Assim, os resultados obtidos no ensaio de DPPH devem ser interpretados como complementares à caracterização química e biológica das amostras, não sendo diretamente associados ao efeito antibacteriano observado (FADDA et al., 2014).

Dessa forma, a avaliação da atividade antioxidante contribui para a compreensão do perfil funcional das diferentes frações da espécie, evidenciando a coexistência de propriedades biológicas distintas associadas a diferentes classes de metabólitos (KHAMENEH et al., 2019).

5.7 Análise *in silico* das interações entre constituintes do óleo essencial e alvos de *S. aureus*

A análise de docking molecular foi conduzida para avaliar as possíveis interações entre constituintes do óleo essencial das folhas de *M. verrucosa* e proteínas essenciais de *S. aureus* (SILVER, 2011). Foram selecionados cinco alvos proteicos associados a processos celulares fundamentais da bactéria: PBP2a (PDB ID: 1MWT), envolvida na biossíntese da parede celular; FtsZ (4DXD), proteína central na divisão celular; FabI (4FS3), enzima da via de biossíntese de ácidos graxos; DHFR (6P9Z), relacionada ao metabolismo do folato e à síntese de nucleotídeos; e ClpP (6TTZ), protease regulatória associada à homeostase proteica (AMBADE et al., 2023; KUSUMA et al., 2019; RANA et al., 2020; WEI et al., 2022).

O conjunto de ligantes avaliados foi composto por 36 constituintes majoritários do óleo essencial das folhas, incluindo monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos. Além desses compostos, três ácidos graxos identificados na análise FAME do extrato hexânico das folhas —

ácido oleico (C18:1), ácido linoleico (C18:2) e ácido tridecanóico (C13:0) — também foram incluídos na triagem molecular. Os valores de energia livre de ligação (ΔG) obtidos para os compostos avaliados frente às proteínas selecionadas encontram-se apresentados na Tabela 14.

De modo geral, os constituintes terpênicos do óleo essencial apresentaram energias de ligação mais favoráveis quando comparados aos ácidos graxos avaliados. Os sesquiterpenos exibiram predominantemente valores de ΔG na faixa de $-7,0$ a $-8,5$ kcal/mol para diferentes alvos proteicos, enquanto os ácidos graxos apresentaram energias menos favoráveis, variando entre $-2,17$ e $-3,96$ kcal/mol, além de valores positivos em alguns casos frente a DHFR e ClpP.

Entre os constituintes voláteis avaliados, seis sesquiterpenos destacaram-se pelos menores valores médios de energia de ligação: neointermedeol, copaeno, γ -muuroleno, óxido de cariofileno, 2-isopropenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidronaftaleno e cubeneno. Conforme apresentado na Tabela 15, esses compostos apresentaram valores médios de ΔG entre $-6,9$ e $-7,2$ kcal mol⁻¹, com maior afinidade observada principalmente frente às proteínas FabI (4FS3) e FtsZ (4DXD).

Entre os ligantes avaliados, o cubeneno apresentou um dos menores valores de energia de ligação para FabI ($-8,43$ kcal mol⁻¹), seguido por neointermedeol ($-8,48$ kcal/mol) e γ -muuroleno ($-8,22$ kcal/mol). A comparação entre as classes químicas avaliadas evidenciou diferenças consistentes nos valores de afinidade predita, com os sesquiterpenos apresentando, de modo geral, energias de ligação mais favoráveis que os ácidos graxos analisados.

As interações moleculares previstas podem ser visualizadas nas Figuras 3–5, que ilustram os modos de ligação representativos dos principais ligantes nos sítios ativos das proteínas-alvo. Os ligantes neointermedeol, óxido de cariofileno e cubeneno apresentaram padrões de interação envolvendo principalmente contatos hidrofóbicos e interações de van der Waals com resíduos presentes nos bolsões de ligação das proteínas avaliadas.

Em conjunto, as análises energéticas (Tabelas 4 e 5), as visualizações estruturais (Figuras 3–5) e as predições farmacocinéticas e toxicológicas apresentadas nas Tabelas 6 e 7 fornecem uma visão integrada do desempenho dos compostos avaliados frente aos alvos bacterianos selecionados.

Tabela 14. Energias livres de ligação (ΔG , kcal/mol) previstas para 36 constituintes do óleo essencial das folhas e 3 ácidos graxos *M. verrucosa* frente a cinco proteínas alvo essenciais de *S. aureus*.

	Lig_clean	1MWT	4DXD	4FS3	6P9Z	6TTZ
1	(-)-Spatulenol	-5.75	-6.86	-8.1	-6.55	-5.75
2	α -Muuroleno	-5.95	-6.37	-6.13	-5.9	-5.95
3	α -Pino	-4.47	-6.43	-7.68	-6.18	-4.47
4	Aromandendreno	-5.99	-6.93	-8.0	-7.34	-5.99
5	α -Selino	-5.92	-7.83	-8.14	-6.63	-5.92
6	β -Longipino	-6.28	-6.11	-8.08	-7.17	-6.28
7	β -Pino	-4.5	-6.14	-8.23	-7.17	-4.5
8	β -Selino	-6.22	-7.49	-6.97	-6.46	-6.22
9	Cadinol	-5.81	-7.01	-8.03	-6.05	-5.81
10	cis-Calameneno	-5.91	-7.36	-7.79	-6.57	-5.91
11	β -Calareno	-5.9	-6.56	-6.03	-5.2	-5.9
12	Cariofileno	-6.27	-6.74	-6.0	-5.62	-6.27
13	Copaeno	-6.15	-8.13	-7.74	-7.06	-6.15
14	Cubeneno	-5.95	-7.18	-8.43	-7.21	-5.95
15	Cubenol	-5.96	-8.06	-7.53	-6.55	-5.96
16	p-Cimeno	-3.95	-5.97	-6.0	-5.51	-3.95
17	(1R,5S)-1,8-Dimetil-4-(propan-2-ilideno)spiro[4.5]dec-7-eno	-6.11	-6.11	-7.99	-6.48	-6.11
18	Elemeno	-5.25	-6.47	-6.87	-6.4	-5.25
19	Epóxido Humuleno I	-6.69	-6.2	-7.67	-6.91	-6.69
20	Eucaliptol	-4.99	-6.0	-7.96	-6.55	-4.99
21	β -Felandreno	-4.31	-6.5	-7.93	-6.55	-4.31
22	β -Helmiscapeno	-6.11	-7.43	-7.68	-6.18	-6.11
23	Humuleno	-6.02	-6.42	-7.94	-7.25	-6.02
24	2-Isopropenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidronaftaleno	-5.92	-7.78	-8.24	-6.91	-5.92
25	Isovalencenol	-5.87	-7.17	-7.72	-6.79	-5.87
26	Ledol	-6.73	-5.63	-8.26	-6.82	-6.73
27	Neointermedeol	-6.41	-7.71	-8.48	-6.79	-6.41
28	Óxido de Cariofileno	-6.16	-7.13	-8.0	-7.42	-6.16
29	(-)- α -Panasinsen	-6.04	-6.9	-7.61	-6.1	-6.04
30	Sativeno	-6.18	-6.87	-8.01	-6.75	-6.18
31	Spatulenol	-5.75	-6.87	-7.49	-6.55	-5.75
32	γ -Muuroleno	-5.98	-7.86	-8.22	-6.86	-5.98
33	Acetato de Tau-Cadinol	-6.13	-6.78	-7.93	-6.82	-6.13
34	α -Terpineol	-4.87	-6.37	-5.62	-5.39	-4.87
35	teta-muuruleno	-5.81	-7.05	-8.05	-6.45	-5.81
36	10,10-Dimetil-2,6-dimetilenobíciclo[7.2.0]undecan-5 β -ol	-6.12	-7.41	-5.95	-5.16	-6.12
	Ácidos Graxos	1MWT	4DXD	4FS3	6P9Z	6TTZ
37	Ácido Oleico	-2,98	-3,21	-3,87	+3,74	+2,78
38	Ácido Linoleico	-3,02	-3,32	-3,80	+2,78	+1,74
39	Ácido Tridecanoico	-2,17	-3,40	-3,96	+2,55	+1,99

Tabela 15. Compostos selecionados e ΔG por alvo (kcal/mol). (Neointermedeol; Copaeno; γ -Muuroleno; Óxido de cariofileno; 2-Isopropenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidronaftaleno e Cubeneno.

Ligante	1MWT	4DXD	4FS3	6P9Z	6TTZ	ΔG média	ΔG pior	Contas ≤ -7.0	Alvo mais forte
Neointermedeol	-6.41	-7.71	-8.48	-6.79	-6.41	-7.16	-6.41	2	4FS3 (-8.48)
Copaeno	-6.15	-8.13	-7.74	-7.06	-6.15	-7.05	-6.15	3	4DXD (-8.13)
γ -Muuroleno	-5.98	-7.86	-8.22	-6.86	-5.98	-6.98	-5.98	2	4FS3 (-8.22)
Óxido de Cariofileno	-6.16	-7.13	-8.0	-6.56	-6.16	-6.97	-6.16	3	4FS3 (-8.00)
2-Isopropenil-4a*	-5.92	-7.78	-8.24	-6.91	-5.92	-6.95	-5.92	2	4FS3 (-8.24)
Cubeneno	-5.95	-7.18	-8.43	-7.21	-5.95	-6.94	-5.95	3	4FS3 (-8.43)

*2-Isopropenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidronaftaleno

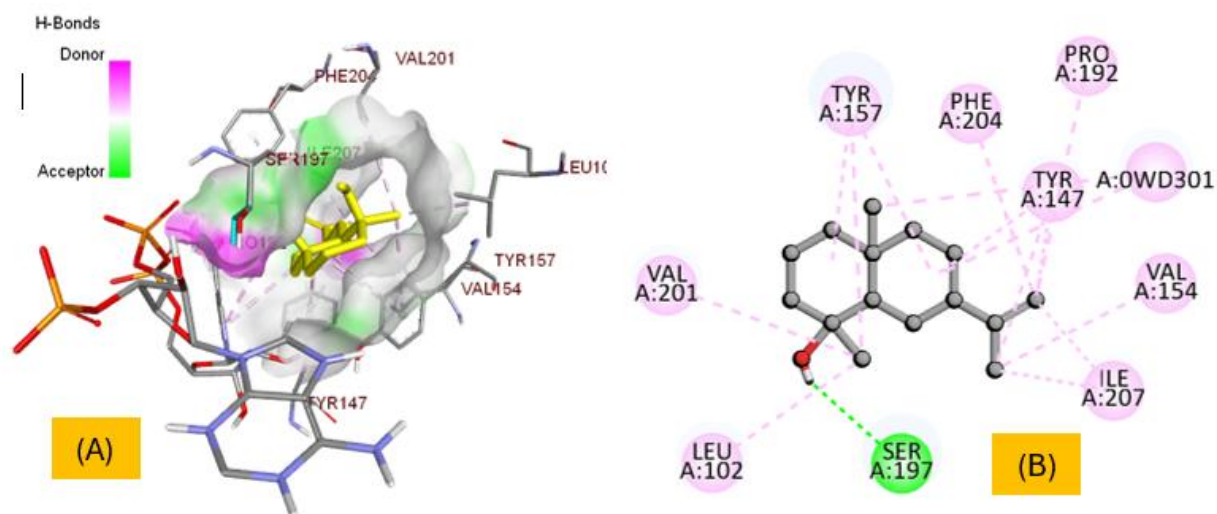


Figura 14. Comparação das interações no sítio de FabI (PDB 4FS3). (A) Vista 3D do neointermedeol (pose com melhor energia, $\Delta G = -8.48 \text{ kcal mol}^{-1}$) no sítio ativo; proteína em cartoon. (B) Mapa 2D correspondente: ponte de H do OH do ligante com Ser197 (verde) e contatos alkyl/ π -alkyl (lilás) com Tyr147, Tyr157, Phe204, Val154, Val201, Ile207, Leu102 e Pro192; molécula de água OWD 301 próxima à borda aromática.

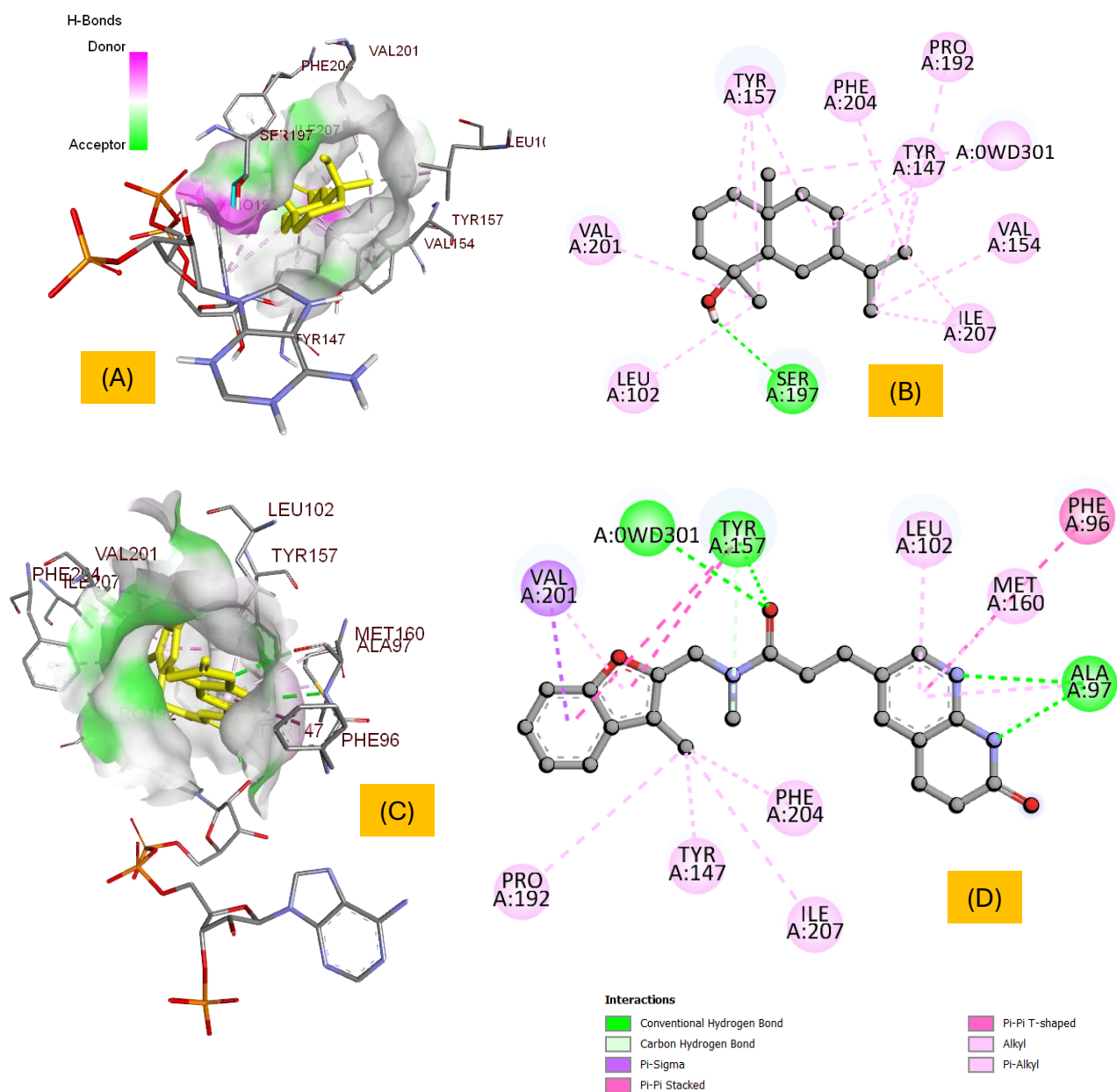


Figura 15. Comparação das interações no sítio de FabI (PDB 4FS3). **(A)** Vista 3D do neointermedeol (pose com melhor energia, $\Delta G = -8.48 \text{ kcal mol}^{-1}$) no sítio ativo; proteína em cartoon. **(B)** Mapa 2D correspondente: ponte de H do OH do ligante com Ser197 (verde) e contatos alkyl/ π -alkyl (lilás) com Tyr147, Tyr157, Phe204, Val154, Val201, Ile207, Leu102 e Pro192; molécula de água OWD 301 próxima à borda aromática. **(C)** Vista 3D do ligante co-cristalizado (novobiocina) em pose de redocking; RMSD = 1,21 Å em relação à pose cristalográfica; proteína na mesma orientação de (A). **(D)** Mapa 2D do ligante padrão destacando as âncoras polares típicas do bolso (ex.: região de Asp81 e vizinhança) e os contatos hidrofóbicos adjacentes.

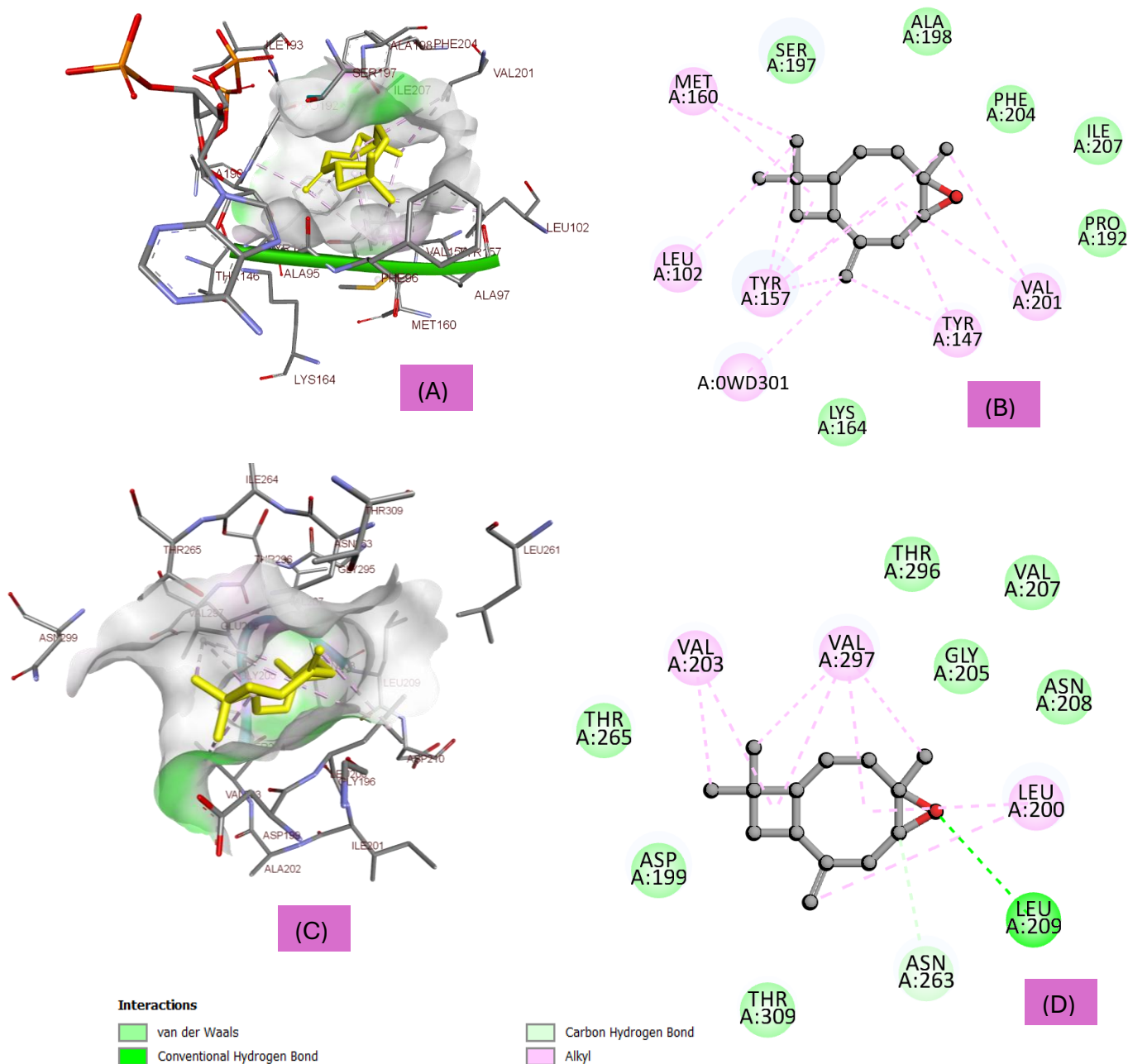


Figura 16. Interações do óxido de cariofileno em *FabI* (4FS3) e *FtsZ* (4DXD). (A) Vista 3D em 4FS3 (sítio de *FabI*), com a superfície do sítio em transparência; (B) Mapa 2D em 4FS3: π -alkyl/alkyl com Tyr147, Tyr157, Phe204, Val201, Leu102, Ile207 e Pro192; Ser197 e 0WD 301 próximos à borda aromática; (C) Vista 3D em 4DXD (sulco lateral hidrofóbico) na mesma orientação de (A); (D) Mapa 2D em 4DXD: ponte de H do epóxido com Leu209 (verde) e contatos alkyl/van der Waals com Leu200/Leu209, Val203/Val297, além da vizinhança de Asn263, Gly205, Thr296/Thr309.

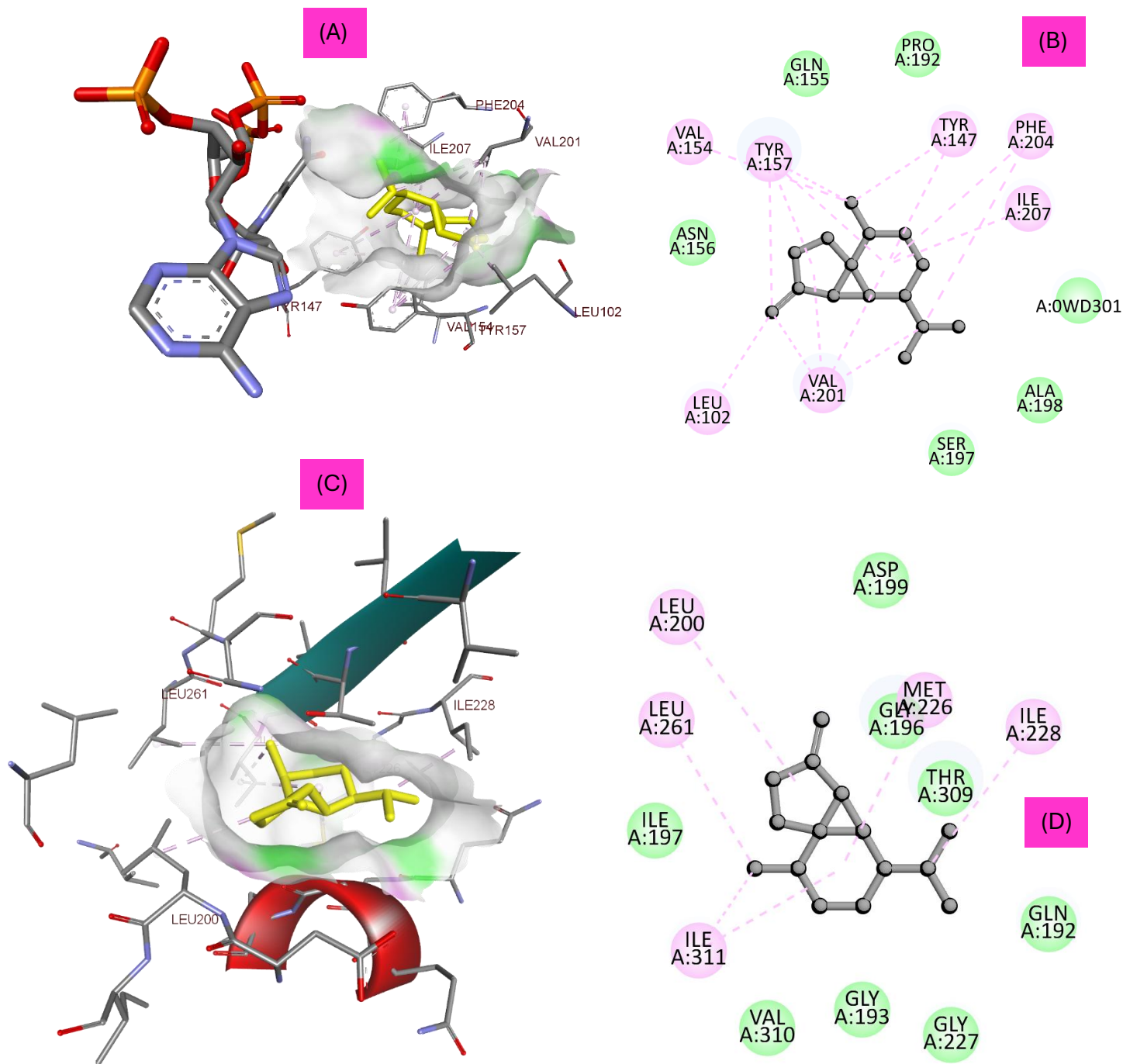


Figura 17. Interações do cubeneno em *FabI* (PDB 4FS3) e *FtsZ* (PDB 4DXD). **(A)** Vista 3D em 4FS3 sítio de *FabI*, com a superfície do sítio em transparência. **(B)** Mapa 2D em 4FS3: π -alkyl/alkyl com Tyr147, Tyr157, Phe204, Val201 e contatos hidrofóbicos com Leu102, Ile207; Ser197 e OWE301 na vizinhança, sem H-bond observado. **(C)** Vista 3D em 4DXD (sulco lateral hidrofóbico) na mesma orientação de (A). **(D)** Mapa 2D em 4DXD: alkyl com Leu200, Leu261, Ile197, Ile228, Ile311, Met226 e van der Waals com Gln192, Gly193, Gly196, Gly227, Thr309, Val310.

As propriedades farmacocinéticas e toxicológicas previstas dos compostos avaliados foram investigadas por análise *in silico*, com o objetivo de complementar os resultados obtidos nas simulações de docking molecular (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2019). As energias de ligação (ΔG) obtidas para os 36 constituintes do óleo essencial e para três ácidos graxos identificados nas folhas de *M. verrucosa* encontram-se apresentadas na Tabela 14. De modo geral, diversos sesquiterpenos exibiram valores de ΔG mais favoráveis em comparação com os ácidos graxos avaliados frente às proteínas de *S. aureus*.

A seleção dos compostos com melhor desempenho nas simulações de docking é apresentada na Tabela 15. Entre eles destacam-se neointermedeol, copaeno, γ -muuroleno, óxido de cariofileno, 2-isopropenil-4a,8-dimetil-octahidronaftaleno e cubeneno, que apresentaram os menores valores médios de energia livre de ligação entre os compostos avaliados.

As propriedades ADMET previstas para esses compostos, juntamente com a gentamicina utilizada como referência, encontram-se sumarizadas na Tabela 16. Os sesquiterpenos selecionados apresentaram predição positiva para absorção intestinal humana (HIA+) e permeabilidade em células Caco-2, além de baixa probabilidade de inibição das isoformas CYP3A4 e CYP2D6. Em contraste, a gentamicina apresentou predição de baixa absorção intestinal e ausência de permeabilidade através da barreira hematoencefálica.

Os parâmetros toxicológicos previstos indicaram ausência de mutagenicidade para os compostos terpênicos avaliados e baixa probabilidade de inibição significativa do canal hERG. A análise dos ácidos graxos identificados nas folhas — ácido linoleico, ácido oleico e ácido tridecanóico — também é apresentada na Tabela 16, evidenciando diferenças nos parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos previstos em comparação com os compostos terpênicos.

Em conjunto, os resultados das análises de docking molecular e das predições ADMET encontram-se resumidos nas Tabelas 16 e 17.

Tabela 16. Propriedades farmacocinéticas e toxicológicas preditas *in silico* (ADMET) para os principais sesquiterpenos do óleo essencial de *M. verrucosa* e para a gentamicina (controle positivo).

Molécula	(HIA)	Caco-2	BBB	Ames	hERG	CYP3A4/2D6
Copaeno	Alta	Moderada	Positiva	Negativa	Inibidor fraco	Não inibe
*2-Isopropenil-octaidronaftaleno	Alta	Moderada	Positiva	Negativa	Inibidor fraco	Não inibe
Muuroleno	Alta	Moderada	Positiva	Negativa	Inibidor fraco	Não inibe
Neointermedeol	Alta	Moderada	Positiva	Negativa	Inibidor fraco	Não inibe
Óxido de cariofileno	Alta	Boa	Positiva	Negativa	Inibidor fraco	Não inibe
Gentamicina (controle)	Baixa	Baixa	Negativa	Negativa	Não listado	Não inibe
Vancomicina (ligante cristalográfico)	Muito baixa	Muito baixa	Negativa	Negativa	Não bloqueia	Não inibe

*2-Isopropenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octaidronaftaleno. HIA = Human Intestinal Absorption; Caco-2 = permeabilidade em células Caco-2; BBB = permeabilidade na barreira hematoencefálica; AMES = teste de mutagenicidade; hERG = bloqueio predito do canal cardíaco hERG K⁺; CYP3A4/CYP2D6 = isoformas do citocromo P450 avaliadas quanto à inibição metabólica. As predições ADMET são qualitativas (alta/moderada/baixa; positiva/negativa; inibidor/não inibidor).

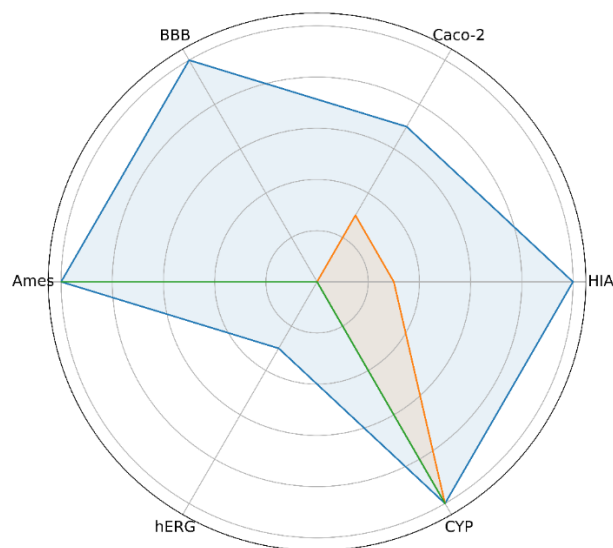


Figura 18. Gráfico de radar comparando as propriedades ADMET preditas para os principais sesquiterpenos de *M. verrucosa*, gentamicina e vancomicina. HIA: absorção intestinal humana; Caco-2: ensaio de permeabilidade de membrana; BBB: penetração na barreira hematoencefálica; Ames: mutagenicidade predita; hERG: inibição do canal cardíaco hERG K⁺; CYP: inibição das isoenzimas CYP3A4/2D6. Os valores foram normalizados de 0 a 1 para fins de visualização.

Tabela 17. Predição *in silico* de drug-likeness, bioatividade e parâmetros toxicológicos para ácidos graxos identificados nas folhas de *M. verrucosa* e gentamicina (C1a).

Molécula	DL	DS	Mu	Tum	LD50 (mg/kg)	MRTD (mg/kg)	SA
Ácido							
Linoleico	1 viol.	0.85	Negativo	Negativo	3000	1.15	3.1
Ácido Oleico							
Ácido Oleico	1 viol.	0.85	Negativo	Negativo	3200	1.22	2.96
Ácido							
Tridecanóico	0 viol.	0.56	Negativo	Negativo	1500	0.85	1.87
Gentamicina							
(C1a)	2 viol.	0.17	Negativo	Negativo	630	0.04	6.4

DL (Lipinski) — número de violações às regras de Lipinski; DS (Bioavail) — Bioavailability Score (SwissADME); Mu — mutagenicidade; Tum — tumorigenicidade; Rep — toxicidade reprodutiva; LD50 — dose letal oral predita (ProTox-II); MRTD — dose máxima tolerada; SA — Synthetic Accessibility (SwissADME). Valores ProTox/SwissADME são predições *in silico* e não substituem dados experimentais

5.9. Padrão global de atividade e coerência biológica

A análise integrada dos resultados obtidos neste estudo revela um padrão biológico consistente, no qual a atividade antibacteriana das folhas de *M. verrucosa* está predominantemente associada à fração volátil, representada pelo óleo essencial (AL-MARIRI; SAFI, 2014). A manutenção de valores de concentração inibitória mínima relativamente baixos para essa fração, em contraste com a baixa atividade observada para os extratos, indica que o efeito antibacteriano não está distribuído de forma homogênea entre as diferentes classes de metabólitos presentes na planta (PRABUSEENIVASAN; JAYAKUMAR; IGNACIMUTHU, 2006).

Esse comportamento evidencia uma dissociação funcional entre as frações químicas, sugerindo que a atividade biológica observada não decorre de um efeito generalizado da matriz vegetal, mas sim da contribuição específica de determinados grupos de compostos. Nesse contexto, os terpenoides presentes no óleo essencial emergem como os principais candidatos responsáveis pela atividade antibacteriana, enquanto os compostos presentes nos extratos, especialmente aqueles de natureza polar, demonstram contribuição limitada nesse aspecto (MUNTEAN; VULPIE, 2023).

A consistência desse padrão ao longo dos diferentes ensaios reforça a existência de uma relação estruturada entre composição química e atividade biológica, afastando a hipótese de efeitos aleatórios ou inespecíficos. Dessa forma, os resultados obtidos permitem estabelecer uma base sólida para a interpretação dos mecanismos subjacentes à atividade observada, a partir da análise integrada das diferentes abordagens empregadas neste estudo.

6.0 Dissociação funcional entre classes de metabólitos

A integração dos dados químicos e biológicos evidencia uma clara especialização funcional entre as diferentes classes de metabólitos identificadas nas folhas de *M. verrucosa*. Os compostos fenólicos e flavonoides, predominantemente presentes no extrato metanólico, mostraram-se mais associados à atividade antioxidante, enquanto apresentaram contribuição limitada para a atividade antibacteriana. Esse comportamento é consistente com a natureza química dessas moléculas, cuja capacidade de doação de elétrons e estabilização de espécies reativas favorece o sequestro de radicais livres, mas não necessariamente a interação direta com alvos bacterianos essenciais (ZHENG; DENG; ZHANG, 2022).

Em contraste, os terpenoides presentes no óleo essencial, especialmente os sesquiterpenos, apresentaram forte associação com a atividade antibacteriana observada (PIETTA, 2000). Essas moléculas, caracterizadas por elevada lipofilicidade e diversidade estrutural, possuem maior potencial de interação com sistemas biológicos complexos, incluindo membranas celulares e proteínas envolvidas em processos metabólicos essenciais (ES-SAFI; GHIDOUCE; DUCROT, 2007).

Os ácidos graxos identificados na análise FAME, por sua vez, apresentaram comportamento distinto, não demonstrando contribuição significativa para a atividade antibacteriana nas condições avaliadas. Apesar de sua natureza lipofílica, esses compostos apresentam estruturas mais lineares e menor diversidade conformacional, o que pode limitar sua capacidade de interação com alvos específicos (DESBOIS; SMITH, 2010; OBUKHOVA; MURZINA, 2024; ZHAO et al., 2015).

Esse conjunto de evidências indica que diferentes classes de metabólitos desempenham papéis biológicos distintos dentro da matriz vegetal, contribuindo de forma específica para diferentes tipos de atividade. Essa dissociação funcional reforça a complexidade química da espécie e destaca a importância de abordagens integradas para a compreensão de seu potencial biológico.

6.1 Papel interpretativo dos ensaios complementares

Os ensaios de atividade antioxidante e toxicidade frente a *A. salina* desempenham, neste contexto, um papel complementar na caracterização biológica das amostras, não sendo diretamente indicativos dos mecanismos responsáveis pela atividade antibacteriana observada (OLMEDO et al., 2024).

A atividade antioxidante mais pronunciada nos extratos polares, especialmente no extrato metanólico, reflete a presença de compostos fenólicos e flavonoides, conforme evidenciado na triagem fitoquímica preliminar. No entanto, a ausência de correlação entre essa atividade e a inibição do crescimento bacteriano indica que o sequestro de radicais livres não constitui o principal fator envolvido na atividade antibacteriana das folhas de *M. verrucosa* (HARTL; HUMPF, 2000).

De forma semelhante, os resultados do ensaio com *Artemia salina* indicam um perfil de toxicidade moderada para o óleo essencial, sem que haja correspondência direta com a atividade

antibacteriana. Esse comportamento sugere que a atividade observada não está associada a efeitos citotóxicos generalizados, mas possivelmente a interações mais específicas com sistemas celulares bacterianos (LAGARTOPARRA, 2001).

Assim, esses ensaios contribuem para a compreensão do perfil funcional das diferentes frações, permitindo descartar interpretações simplificadas baseadas em mecanismos inespecíficos e reforçando a necessidade de abordagens direcionadas para a elucidação dos processos envolvidos.

6.2 Integração entre composição lipídica, docking molecular e propriedades ADMET: evidências para um modelo multialvo

A integração dos resultados obtidos a partir da análise do perfil lipídico (FAME), das simulações de docking molecular e das predições farmacocinéticas e toxicológicas permite avançar na interpretação dos possíveis mecanismos envolvidos na atividade antibacteriana observada para o óleo essencial das folhas de *M. verrucosa*.

Inicialmente, os dados obtidos por FAME indicam que os ácidos graxos presentes nas folhas, como ácido linoleico, ácido oleico e ácido tridecanoico, não apresentam contribuição significativa para a atividade antibacteriana nas condições avaliadas (IBEKWE; KENNEDY, 1999). Essa observação é corroborada pelos resultados de docking molecular, nos quais esses compostos exibiram energias de ligação menos favoráveis, além de valores positivos frente a alguns alvos, indicando baixa afinidade predita (ALVES; SIMOES; DOMINGUES, 2021; YOUSEF et al., 2012). Em conjunto, esses resultados permitem excluir, com razoável segurança, a participação direta dessas moléculas como principais responsáveis pela atividade biológica observada.

Em contraste, os constituintes terpênicos do óleo essencial, especialmente os sesquiterpenos, apresentaram desempenho significativamente superior nas análises *in silico*. Esses compostos exibiram energias de ligação mais negativas e maior recorrência de interações favoráveis entre diferentes proteínas-alvo de *S. aureus*, incluindo PBP2a, FtsZ, FabI, DHFR e ClpP (MELOTTI; DELERUE; GOMPERTS BONECA, 2025). Esse padrão sugere que esses metabólitos possuem capacidade de interação com múltiplos sistemas celulares essenciais, abrangendo processos como biossíntese da parede celular, divisão bacteriana, metabolismo lipídico e regulação proteica (IBRAHEEM et al., 2025).

A distribuição dessas interações entre diferentes alvos reforça a hipótese de um modelo de ação multialvo, no qual diferentes constituintes do óleo essencial atuam de forma complementar sobre múltiplas vias celulares. Esse tipo de comportamento é bem descrito na literatura e característico de sistemas químicos complexos, como óleos essenciais, nos quais a atividade biológica resulta da ação combinada de diversos compostos, em vez da atuação isolada de uma única molécula (AKERMI et al., 2022; RAMOS, C. et al., 2026).

Esse modelo interpretativo encontra respaldo em estudos que têm destacado produtos naturais como fontes relevantes na prospecção de novos agentes antibacterianos, especialmente frente ao aumento da resistência microbiana. Compostos de origem vegetal têm sido amplamente investigados pela sua diversidade estrutural e capacidade de interagir com múltiplos alvos bacterianos. Nesse contexto, proteínas como PBP2a, FtsZ e FabI têm sido recorrentes em estudos envolvendo compostos naturais. Flavonoides, por exemplo, já foram descritos como potenciais inibidores de PBP2a em *S. aureus* resistente à metilicina, com suporte de análises *in silico* e previsões farmacocinéticas (TOUATI et al., 2025).

De forma semelhante, compostos fenólicos como a curcumina e seus derivados têm sido associados à modulação da dinâmica de FtsZ e à interferência no processo de divisão celular bacteriana. Para FabI, há evidências consolidadas de que se trata de um alvo validado na biossíntese de ácidos graxos bacterianos, sendo descritos tanto inibidores sintéticos quanto compostos naturais com atividade direcionada a esse sistema. (ZHI et al., 2025)

Embora os constituintes terpênicos identificados em *M. verrucosa* não possam ser diretamente equiparados a essas classes de compostos já caracterizadas, o padrão observado neste estudo é coerente com a literatura ao indicar que metabólitos naturais podem atuar por meio de interações distribuídas, envolvendo múltiplos sistemas celulares (WANG et al., 2023). Nesse contexto, alvos como DHFR e ClpP podem ser interpretados como componentes adicionais dentro de uma rede de interações mais ampla, contribuindo para o efeito biológico observado sem necessariamente representar alvos primários isolados (CUI et al., 2019).

As previsões ADMET obtidas para os principais sesquiterpenos selecionados reforçam a plausibilidade biológica desse modelo. De modo geral, esses compostos apresentaram perfis favoráveis de absorção intestinal e permeabilidade celular, além de baixa probabilidade de efeitos toxicológicos relevantes, como mutagenicidade ou inibição significativa do canal hERG (QASEM, 2025). Esses parâmetros sugerem que as interações previstas nas análises de docking podem

ocorrer em condições biologicamente plausíveis, ainda que tais resultados devam ser interpretados com cautela, considerando seu caráter preditivo (MAJUMDAR; MANDAL, 2025; NOUMI et al., 2023).

Dessa forma, a convergência entre os dados experimentais e computacionais permite propor que a atividade antibacteriana do óleo essencial das folhas de *M. verrucosa* esteja associada à ação combinada de múltiplos constituintes terpênicos, atuando sobre diferentes alvos celulares de *S. aureus*. Esse modelo não implica a existência de um mecanismo único ou específico, mas sim um padrão de interação distribuída, no qual a perturbação simultânea de diferentes sistemas celulares pode contribuir para o efeito observado.

Essa interpretação integrada fornece uma base conceitual consistente para a compreensão da atividade biológica da espécie, destacando o potencial de metabólitos naturais complexos em abordagens multialvo frente a microrganismos de relevância clínica.

7.0 CONCLUSÃO GERAL, LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de investigar a variabilidade química e o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais de diferentes partes vegetais de *M. verrucosa*, integrando abordagens experimentais e análises *in silico*, com foco na identificação de padrões de interação biológica de caráter multialvo.

Os resultados obtidos demonstraram, de forma consistente, que os óleos essenciais provenientes de diferentes órgãos da espécie apresentam perfis químicos semelhantes, porém distintos em sua concentração. Esses perfis são caracterizados pela predominância de compostos terpênicos, especialmente sesquiterpenos, com variações relevantes na composição qualitativa e quantitativa entre folhas e frutos. Essa diferenciação química mostrou-se diretamente associada a diferenças no comportamento biológico das amostras avaliadas.

O óleo essencial dos frutos apresentou atividade antifúngica consistente frente a espécies do gênero *Candida*, com valores homogêneos de concentração inibitória mínima, sugerindo a atuação sobre estruturas celulares conservadas. Ensaio complementares indicaram um possível envolvimento da membrana celular como sítio de ação, hipótese posteriormente reforçada pelas análises de docking molecular, que evidenciaram afinidades de ligação favoráveis entre os principais constituintes e a enzima esterol 14 α -desmetilase (CYP51).

Em contraste, o óleo essencial das folhas apresentou atividade antibacteriana frente a *S. aureus*, acompanhada de um padrão distinto de interação molecular. As simulações de docking demonstraram que os sesquiterpenos exibiram maior afinidade de ligação e maior recorrência de interações com múltiplos alvos proteicos essenciais, incluindo PBP2a, FtsZ, FabI, DHFR e ClpP. A distribuição dessas interações entre diferentes sistemas celulares sugere a capacidade desses compostos de interferir simultaneamente em múltiplas vias metabólicas e estruturais.

A integração dos dados químicos, biológicos e computacionais permitiu estabelecer um padrão coerente de interpretação, no qual a atividade antimicrobiana observada não pode ser atribuída a um único composto ou a um mecanismo isolado. Em vez disso, os resultados sustentam a hipótese de que os óleos essenciais de *M. verrucosa* atuam como sistemas químicos complexos, cuja atividade emerge da ação combinada e complementar de seus constituintes.

Dessa forma, esta tese confirma a hipótese inicial de que a variabilidade química entre diferentes órgãos de *M. verrucosa* está diretamente associada a variações na atividade biológica e no padrão de interação com alvos moleculares, configurando um modelo de ação multialvo. Esse comportamento reforça a relevância de abordagens integrativas no estudo de produtos naturais e amplia a compreensão sobre os mecanismos envolvidos na atividade de misturas químicas complexas.

8.0 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Apesar da consistência dos resultados obtidos, algumas limitações devem ser consideradas. As análises de docking molecular apresentam caráter preditivo e não constituem evidência experimental direta de interação molecular *in vivo*. Adicionalmente, a complexidade química dos óleos essenciais dificulta a atribuição precisa de efeitos biológicos a compostos individuais, especialmente diante da possibilidade de interações sinérgicas ou aditivas (PINZI; RASTELLI, 2019; GUEDES; DE MAGALHÃES; DARDENNE, 2014).

Os ensaios biológicos realizados fornecem evidências relevantes sobre a atividade antimicrobiana, porém não permitem a elucidação completa dos mecanismos de ação em nível molecular. Dessa forma, as interpretações propostas devem ser compreendidas como hipóteses mecanísticas plausíveis, fundamentadas na integração entre diferentes níveis de evidência.

9.0 PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos neste estudo abrem novas possibilidades para a investigação do potencial biológico de *M. verrucosa* e de seus constituintes. Estudos futuros podem ser direcionados para o isolamento e avaliação individual dos principais compostos identificados, bem como para a validação experimental das interações moleculares sugeridas pelas análises *in silico*.

A aplicação de técnicas complementares, como ensaios enzimáticos, estudos de expressão gênica e análises de integridade celular, poderá contribuir para o aprofundamento da compreensão dos mecanismos de ação envolvidos. Além disso, a investigação de possíveis interações sinérgicas entre os constituintes dos óleos essenciais representa uma abordagem promissora para o desenvolvimento de estratégias antimicrobianas mais eficazes.

A continuidade dessas investigações poderá contribuir para a valorização de espécies nativas do bioma Caatinga como fontes de compostos bioativos, bem como para o avanço do conhecimento sobre sistemas químicos complexos e suas aplicações no enfrentamento da resistência microbiana.

REFERÊNCIAS

- ABD RASHED, A. et al. Antifungal properties of essential oils and their compounds for application in skin fungal infections: conventional and nonconventional approaches. **Molecules**, v. 26, n. 4, art. 1093, 2021.
- ADAMS, Robert P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007.
- ADASZYŃSKA-SKWIRZYŃSKA, M.; DZIĘCIOŁ, M.; SZCZERBIŃSKA, D. Lavandula angustifolia essential oils as effective enhancers of fluconazole antifungal activity against *Candida albicans*. **Molecules**, v. 28, n. 3, art. 1176, 2023.
- AGONI, C.; SOLIMAN, M. E. S. The binding of remdesivir to SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase may pave the way towards the design of potential drugs for COVID-19 treatment. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 22, n. 11, p. 1520–1537, 2021.
- AHMAD, A. et al. Antifungal activity of *Coriaria nepalensis* essential oil by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. **Yeast**, v. 28, n. 8, p. 611–617, 2011.
- AKERMI, S. et al. *Cupressus sempervirens* essential oil: exploring the antibacterial multialvo mechanisms, chemcomputational toxicity prediction, and safety assessment in zebrafish embryos. **Molecules**, v. 27, n. 9, art. 2630, 2022.
- ALIZADEH, F. et al. Analysis of ergosterol and gene expression profiles of sterol $\Delta 5,6$ -desaturase (ERG3) and lanosterol 14 α -demethylase (ERG11) in *Candida albicans* treated with carvacrol. **Journal of Herbmed Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 79–87, 2018.
- AL-MARIRI, A.; SAFI, M. *In vitro* antibacterial activity of several plant extracts and oils against some Gram-negative bacteria. **Iranian Journal of Medical Sciences**, v. 39, n. 1, p. 36–43, 2014.
- ALVES, E.; SIMOES, A.; DOMINGUES, M. R. Fruit seeds and their oils as promising sources of value-added lipids from agro-industrial byproducts: oil content, lipid composition, lipid analysis, biological activity and potential biotechnological applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 61, n. 8, p. 1305–1339, 2021.

AMBADE, Sagar S. et al. A review on five and six-membered heterocyclic compounds targeting the penicillin-binding protein 2a (PBP2a) of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Molecules**, v. 28, n. 20, art. 7008, 2023. DOI: 10.3390/molecules28207008.

AMORIM, L. D. M. de et al. Fabaceae na Floresta Nacional (FLONA) de Assú, semiárido potiguar, nordeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 67, p. 105–124, 2016.

ANDRANE-OCHOA, S. et al. Differential antimicrobial effect of essential oils and their main components: insights based on the cell membrane and external structure. **Membranes**, v. 11, n. 6, art. 405, 2021.

ANGANE, Manasweeta et al. Essential oils and their major components: an updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry. **Foods**, v. 11, n. 3, art. 464, 2022. DOI: 10.3390/foods11030464.

AOUF, A. et al. *In silico* study for Algerian essential oils as antimicrobial agents against multidrug-resistant bacteria isolated from pus samples. **Antibiotics**, v. 11, n. 10, art. 1317, 2022.

AQUINO, V. V. F. et al. Metabólitos secundários e ação antioxidante de *Croton heliotripiifolius* e *Croton blanchetianus*. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 3, p. 28–31, 2017.

ARAYA-CLOUTIER, C. et al. The position of prenylation of isoflavonoids and stilbenoids from legumes (Fabaceae) modulates the antimicrobial activity against Gram positive pathogens. **Food Chemistry**, v. 226, p. 193–201, 2017.

ARUNACHALAM, K.; SASIDHARAN, S. P. Experiments of antifungal activities. *In*: ARUNACHALAM, K.; SASIDHARAN, S. P. **Bioassays in Experimental and Preclinical Pharmacology**. New York: Springer US, 2021. p. 91–103. (Springer Protocols Handbooks).

ASSAGGAF, H. et al. GC-MS profiling, *in vitro* antidiabetic efficacy of *Origanum compactum* Benth. essential oil and *in silico* molecular docking of its major bioactive compounds. **Catalysts**, v. 13, n. 11, 2026.

AZEVEDO, L. S. et al. Larvicidal potential of ether extract, and its derivatives fatty acids, and fatty acid methyl esters from *Tecoma stans* seeds: bioprospecting for an effective insecticide. **Journal of Natural Pesticide Research**, v. 10, art. 100087, 2024.

BACHIR, R. G.; BENALI, M. Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 9, p. 739–742, 2012.

BAHR, T. et al. Cholesterol-lowering activity of natural mono- and sesquiterpenoid compounds in essential oils: a review and investigation of mechanisms using *in silico* protein–ligand docking. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 8, p. 4215–4245, 2021.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.

BANERJEE, Prosenjit et al. ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. **Nucleic Acids Research**, v. 52, n. W1, p. W513–W520, 2024. DOI: 10.1093/nar/gkae303.

BANJARE, P. et al. *In silico* strategy: a promising implement in the development of multialvo drugs against neurodegenerative diseases. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 29, p. 2765–2791, 2023.

BAŞER, Kemal Hüsnü Can; BUCHBAUER, Gerhard (ed.). **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2015. DOI: 10.1201/b19393.

BASSOLÉ, I. H. N.; JULIANI, H. R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 3989–4006, 2012.

BIERNASIUK, A.; BAJ, T.; MALM, A. Clove essential oil and its main constituent, eugenol, as potential natural antifungals against *Candida* spp. alone or in combination with other antimycotics due to synergistic interactions. **Molecules**, v. 28, n. 1, art. 215, 2022.

BITENCOURT, T. A. et al. Fungal extracellular vesicles are involved in intraspecies intracellular communication. **mBio**, v. 13, n. 1, art. e03272-21, 2022.

BOGARI, H. A. et al. Molecular and biological investigation of isolated marine fungal metabolites as anticancer agents: a multi-target approach. **Metabolites**, v. 13, n. 2, art. 162, 2023.

BONIFÁCIO, B. V. et al. Antimicrobial activity of natural products against *Helicobacter pylori*: a review. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 13, n. 1, art. 54, 2014.

BRAGUINI, W. L.; ALVES, B. B.; PIRES, N. V. Toxicity assessment of *Lavandula officinalis* extracts in brine shrimp (*Artemia salina*). **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 29, n. 6, p. 411–420, 2019.

BRAND-WILLIAMS, Wendy; CUVELIER, Marie Elisabeth; BERSET, Claude. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

BUHAESCU, I.; IZZEDINE, H. Mevalonate pathway: a review of clinical and therapeutical implications. **Clinical Biochemistry**, v. 40, n. 9–10, p. 575–584, 2007.

BURLEY, Stephen K. et al. RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D437-D451, 2021. DOI: 10.1093/nar/gkaa1038.

BURT, Sara. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.

CAMARGO-RICALDE, S. L. et al. Useful species of the genus *Mimosa* (Fabaceae-Mimosoideae) in Mexico. **Botanical Sciences**, n. 68, p. 33–44, 2001.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F. et al. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 3–4, p. 288–294, 2007.

CANSIAN, R. L. et al. Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, n. 1, p. 155–161, 2017.

CASCAES, M. M. et al. Exploring the chemical composition, *in vitro* and *in silico* study of the anticandidal properties of Annonaceae species essential oils from the Amazon. **PLOS ONE**, v. 18, n. 8, art. e0289991, 2023.

CASTELO BRANCO, C. D. F. R. D. A. et al. Comparative study of the antimicrobial activity of native and exotic plants from the Caatinga and Atlantic Forest selected through an ethnobotanical survey. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 2, p. 201–207, 2012.

CAVALEIRO, C. et al. Antifungal activity of *Juniperus* essential oils against dermatophyte, *Aspergillus* and *Candida* strains. **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, n. 6, p. 1333–1338, 2006.

CAVIGELLI, M. A.; ROBERTSON, G. P.; KLUG, M. J. Fatty acid methyl ester (FAME) profiles as measures of soil microbial community structure. **Plant and Soil**, v. 170, n. 1, p. 99–113, 1995.

CHEBBAC, K. et al. Chemical analysis and antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from *Artemisia negrei* L. against drug-resistant microbes. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, p. 1–9, 2021.

CHEN, L.; SHEN, Z.; WU, J. Expression, purification and *in vitro* antifungal activity of acidic mammalian chitinase against *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum* strains. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 34, n. 1, p. 55–60, 2009.

CHIU, Hsuan-Hung; KUO, Chin-Hui. Gas chromatography-mass spectrometry-based analytical strategies for fatty acid analysis in biological samples. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 28, n. 1, art. 4, p. 60-73, 2020. DOI: 10.1016/j.jfda.2019.10.003.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. **Medicines**, v. 4, n. 3, art. 58, 2017.

CHUA, J.; DERETIC, V. *Mycobacterium tuberculosis* reprograms waves of phosphatidylinositol 3-phosphate on phagosomal organelles. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 35, p. 36982–36992, 2004.

CLSI. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. 12. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2024. (CLSI standard M07).

CLSI. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi**. 3. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017b. (CLSI standard M38).

CLSI. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts**. 4. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017a. (CLSI standard M27).

- CÓRDOBA, S. et al. Antifungal activity of essential oils against *Candida* species isolated from clinical samples. **Mycopathologia**, v. 184, n. 5, p. 615–623, 2019.
- CÓRDULA, E.; MORIM, M. P.; ALVES, M. Morfologia de frutos e sementes de Fabaceae ocorrentes em uma área prioritária para a conservação da Caatinga em Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, p. 505–516, 2014.
- CORRÊA, P. D. R. et al. Caracterização fenotípica de leveduras isoladas da mucosa vaginal em mulheres adultas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 31, n. 4, 2026.
- CRUNKHORN, S. Allosteric histone methyltransferase modulators block tumour growth. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 16, n. 3, p. 165–165, 2017.
- CRUZ, A. et al. Phytoconstituents and ergosterol biosynthesis-targeting antimicrobial activity of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) against phytopathogens. **Molecules**, v. 29, n. 2, art. 471, 2024.
- CUSHNIE, T. P. T.; CUSHNIE, B.; LAMB, A. J. Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 44, n. 5, p. 377–386, 2005.
- CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 26, n. 5, p. 343–356, 2005.
- DA SILVA, J. K. R. et al. Essential oils as antiviral agents, potential of essential oils to treat SARS-CoV-2 infection: an in-silico investigation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 10, art. 3426, 2020.
- DAINA, Antoine; MICHIELIN, Olivier; ZOETE, Vincent. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v. 7, art. 42717, 2017. DOI: 10.1038/srep42717.
- DAS, S.; PRAKASH, B. Effect of environmental factors on essential oil biosynthesis, chemical stability, and yields. In: PRAKASH, B.; DUBEY, N. K.; FREITAS BRILHANTE DE SÃO JOSÉ, J. (org.). **Plant Essential Oils**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2024. p. 225–247.
- DE ARAÚJO, A. C. J. et al. *In vitro* and *in silico* inhibition of *Staphylococcus aureus* efflux pump NorA by α -pinene and limonene. **Current Microbiology**, v. 78, n. 9, p. 3388–3393, 2021.

DE MENEZES, C. et al. Evaluation of the antifungal activity and mode of action of citral against *Cladophialophora carrionii*. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 51, n. 3, 2026.

DE QUEIROZ, J. C. E.; LEITE, J. R. S. A.; VASCONCELOS, A. G. Prospecting plant extracts and bioactive molecules with antimicrobial activity in Brazilian biomes: a review. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, art. 427, 2023.

DE SOUSA, T. A. et al. Mucilage and phenolic-secreting cells in sensitive plants (*Mimosa*, Leguminosae): a comparative study across different plant organs. **Brazilian Journal of Botany**, v. 48, n. 1, p. 20, 2025.

DEMYTTENAERE, J. C. R. Antitumor-promoting and anti-inflammatory activities of triterpenoids and sterols from plants and fungi. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 25, p. 43–87, 2001.

DENG, Y.-H. et al. Multi-target screening and experimental validation of natural products from *Selaginella* plants against Alzheimer's disease. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, art. 539, 2017.

DESBOIS, A. P.; SMITH, V. J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 6, p. 1629–1642, 2010.

DHIFI, Wissal et al. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. **Medicines**, v. 3, n. 4, art. 25, 2016. DOI: 10.3390/medicines3040025.

DI SOTTO, A. et al. Chemopreventive potential of caryophyllane sesquiterpenes: an overview of preliminary evidence. **Cancers**, v. 12, n. 10, art. 3034, 2020.

DINIZ-NETO, H. et al. Antifungal activity of 2-chloro-N-phenylacetamide: a new molecule with fungicidal and antibiofilm activity against fluconazole-resistant *Candida* spp. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, art. e255080, 2024.

DOS SANTOS, J. F. S. et al. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. **Food Chemistry**, v. 261, p. 233–239, 2018.

EBERHARDT, Jerome et al. AutoDock Vina 1.2.0: new docking methods, expanded force field, and Python bindings. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 61, n. 8, p. 3891-3898, 2021. DOI: 10.1021/acs.jcim.1c00203.

EL HASSANI, F. Z. et al. Use of olive mill wastewater as an organic amendment for *Mentha spicata* L. **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 3, p. 343–348, 2010.

ELYEMNI, Majda et al. Extraction of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. by two different methods: hydrodistillation and microwave assisted hydrodistillation. **The Scientific World Journal**, v. 2019, art. 3659432, p. 1-6, 2019. DOI: 10.1155/2019/3659432.

ES-SAFI, N.-E.; GHIDOUCHE, S.; DUCROT, P. H. Flavonoids: hemisynthesis, reactivity, characterization and free radical scavenging activity. **Molecules**, v. 12, n. 9, p. 2228–2258, 2007.

ESSID, R. et al. 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.

FADDA, A. et al. Reaction time and DPPH concentration influence antioxidant activity and kinetic parameters of bioactive molecules and plant extracts in the reaction with the DPPH radical. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 35, n. 2, p. 112–119, 2014.

FAIR, R. J.; TOR, Y. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. **Perspectives in Medicinal Chemistry**, v. 6, p. PMC.S14459, 2014.

FALLEH, H. Demystifying the power of essential oils: a review of their antibacterial properties and potential as natural food preservatives. **EXCLI Journal**, v. 24, doc. 828, 2026.

FARIS SHALAYEL, M. H. et al. The computational interaction analyses of some vitamin D-related compounds with sterol 14-demethylase (CYP51) – could it be a glimmer of hope to find new anti-mucormycotic drugs extracted from plants-derived sterols? **Natural Product Communications**, v. 19, n. 1, art. 1934578X231222106, 2024.

FERREIRA, L. G. et al. Molecular docking and structure-based drug design strategies. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 13384–13421, 2015.

FERREIRA, Leonardo L. G.; ANDRICOPULO, Adriano D. ADMET modeling approaches in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 5, p. 1157-1165, 2019. DOI: 10.1016/j.drudis.2019.03.015.

FERREIRA, N. S. et al. Flavanone glycosides, triterpenes, volatile compounds and antimicrobial activity of *Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC. (Melastomataceae). **Molecules**, v. 27, n. 6, art. 2005, 2022.

FERREIRA, S. B. et al. *In silico* and *in vitro* investigation of the antifungal activity of isoeugenol against *Penicillium citrinum*. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 25, p. 2186–2196, 2015.

FIGUEROA, M.; ORTIZ, D.; HENNINGSEN, E. C. Tactics of host manipulation by intracellular effectors from plant pathogenic fungi. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 62, art. 102054, 2021.

FILIPE, Marcia Santos et al. Lethality bioassay using *Artemia salina* L. **Journal of Visualized Experiments**, n. 188, art. e64472, 2022. DOI: 10.3791/64472.

FONSECA GOMES, M. R. et al. Biological assessment (antiviral and antioxidant) and acute toxicity of essential oils from *Drimys angustifolia* and *D. brasiliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 2, p. 284–290, 2013.

FORLI, Stefano et al. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. **Nature Protocols**, v. 11, p. 905-919, 2016. DOI: 10.1038/nprot.2016.051.

FULK, W. K.; SHORB, M. S. Production of an artifact during methanolysis of lipids by boron trifluoride-methanol. **Journal of Lipid Research**, v. 11, n. 3, p. 276–277, 1970.

GALINDO-SOLÍS, J. M.; FERNÁNDEZ, F. J. Endophytic fungal terpenoids: natural role and bioactivities. **Microorganisms**, v. 10, n. 2, art. 339, 2022.

GAO, H. et al. Integrative virtual and empirical screening to identify multi-target flavonoid quercetin-3-O-glucuronide for reducing MRSA pathogenicity. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 67, n. 5, art. 107744, 2026.

GATTO, L. J. et al. Chemical composition, phytotoxic potential, biological activities and antioxidant properties of *Myrcia hatschbachii* D. Legrand essential oil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, art. e18402, 2020.

GIL, G. A. et al. Surfactant-driven effects on the antifungal activity of *Lippia organoides* Kunth essential oil encapsulated in lipid-based nanosystems. **ACS Omega**, v. 10, n. 8, p. 7876–7887, 2025.

GIORGI, A. et al. Effect of biotic and abiotic stresses on volatile emission of *Achillea collina* Becker ex Rchb. **Natural Product Research**, v. 29, n. 18, p. 1695–1702, 2015.

GODLEWSKA, Katarzyna; PACYGA, Paweł; NAJDA, Agnieszka; MICHALAK, Izabela. Investigation of chemical constituents and antioxidant activity of biologically active plant-derived natural products. **Molecules**, v. 28, n. 14, art. 5572, 2023. DOI: 10.3390/molecules28145572.

GOLCHHA, N. C. et al. Molecular docking, dynamics and *in vitro* analysis of multi-target inhibitors for *Clostridioides difficile*. **Bioinformation**, v. 20, n. 1, p. 39–48, 2024.

GÓMEZ-GAVIRIA, M.; RAMÍREZ-SOTELO, U.; MORA-MONTES, H. M. Non-*albicans* *Candida* species: immune response, evasion mechanisms, and new plant-derived alternative therapies. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 1, art. 11, 2022.

GONÇALVES, S.; MANSINHOS, I.; ROMANO, A. Influence of biotic and abiotic factors on the production and composition of essential oils. **Essential Oils**, p. 69–97, 2023.

GORNI, P. H.; PACHECO, A. C.; SPERA, K. D. Elicitation and their significance on essential oil production. In: MISHRA, S.; SRIVASTAVA, V.; MEHROTRA, S. (org.). **Elicitation Methods for Improvement in Plant Secondary Metabolites**. Singapore: Springer Nature, 2025. p. 309–339.

GRAY, D. A.; WENZEL, M. Multialvo approaches against multiresistant superbugs. **ACS Infectious Diseases**, v. 6, n. 6, p. 1346–1365, 2020.

GRISONI, F. et al. Design of natural-product-inspired multialvo ligands by machine learning. **ChemMedChem**, v. 14, n. 12, p. 1129–1134, 2019.

GUEDES, Isabella A.; DE MAGALHÃES, Camila S.; DARDENNE, Laurent E. Receptor-ligand molecular docking. **Biophysical Reviews**, v. 6, n. 1, p. 75-87, 2014. DOI: 10.1007/s12551-013-0130-2.

GUILLÍN, Y. et al. Effect of essential oils on the inhibition of biofilm and quorum sensing in *Salmonella enteritidis* 13076 and *Salmonella typhimurium* 14028. **Antibiotics**, v. 10, n. 10, art. 1191, 2021.

GUIMARÃES, A. C. et al. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. **Molecules**, v. 24, n. 13, art. 2471, 2019.

GUL, Rahman et al. Preliminary phytochemical screening, quantitative analysis of alkaloids, and antioxidant activity of crude plant extracts from *Ephedra intermedia* indigenous to Balochistan. **The Scientific World Journal**, v. 2017, art. 5873648, p. 1-7, 2017. DOI: 10.1155/2017/5873648.

GÜLÇİN, İlhami; ALWASEL, Saleh H. DPPH radical scavenging assay. **Processes**, v. 11, n. 8, art. 2248, 2023. DOI: 10.3390/pr11082248.

GURGEL, E. S. C. et al. Morfologia de plântulas de Leguminosae e o potencial sistemático. **Rodriguésia**, v. 63, p. 065–073, 2012.

GUTIÉRREZ-DURÁN, P. R. et al. Phytochemical diversity and antimicrobial potential of Fabaceae species occurring in Tamaulipas, Mexico: a systematic review. **Plants**, v. 15, n. 2, art. 278, 2026.

HAFIDH, R. R. et al. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. **The Open Microbiology Journal**, v. 5, p. 96–106, 2011.

HANWELL, Marcus D. et al. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. **Journal of Cheminformatics**, v. 4, art. 17, 2012. DOI: 10.1186/1758-2946-4-17.

HARBORNE, Jeffrey B. **Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis**. 3. ed. London: Chapman & Hall, 1998.

HARTL, M.; HUMPF, H.-U. Toxicity assessment of fumonisins using the brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 12, p. 1097–1102, 2000.

HASAN, A. H. et al. *In silico* discovery of multi-targeting inhibitors for the COVID-19 treatment by molecular docking, molecular dynamics simulation studies, and ADMET predictions. **Structural Chemistry**, v. 33, n. 5, p. 1645–1665, 2022.

HLEBOVÁ, Miroslava et al. The *in vitro* antifungal and synergistic activity of selected plant extracts and essential oils against *Candida* spp. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 12, n. 6, art. e10167, 2023. DOI: 10.55251/jmbfs.10167.

HYLDGAARD, Morten; MYGIND, Tina; MEYER, Rikke L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, art. 12, 2012. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00012.

IBEKWE, A. M.; KENNEDY, A. C. Fatty acid methyl ester (FAME) profiles as a tool to investigate community structure of two agricultural soils. **Plant and Soil**, v. 206, n. 2, p. 151–161, 1999.

IBRAHEEM, I. B. M. et al. Algal metabolites as novel therapeutics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a review. **Pharmaceutics**, v. 17, n. 8, art. 989, 2025.

ICHIHARA, Ken'ichi; FUKUBAYASHI, Yumeto. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. **Journal of Lipid Research**, v. 51, n. 3, p. 635-640, 2010. DOI: 10.1194/jlr.D001065.

INTORASOOT, A. et al. Bactericidal activity of herbal volatile oil extracts against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, v. 6, n. 2, p. 1, 2017.

IQBAL, D. et al. Pharmacophore-based screening, molecular docking, and dynamic simulation of fungal metabolites as inhibitors of multi-targets in neurodegenerative disorders. **Biomolecules**, v. 13, n. 11, art. 1613, 2023.

ISKANDAR, K. et al. Essential oils as antimicrobial agents against WHO priority bacterial pathogens: a strategic review of *in vitro* clinical efficacy, innovations and research gaps. **Antibiotics**, v. 14, n. 12, art. 1250, 2025.

IWAZAKI, M. de C. **Frutos, sementes e plântulas de três espécies de *Mimosa* Linnaeus (Fabaceae: Mimosoideae): aspectos morfoanatômicos e considerações ecológico-**

filogenéticas. 2026. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), [S. l.], 2026.

JANOTTO, L. D. S. et al. Exploring the efficacy of antibiotic-essential oil combinations: implications for combating antimicrobial resistance. **Bioresource Technology Reports**, v. 24, art. 101679, 2023.

JAOUI, M. et al. Secondary organic aerosol formation from the oxidation of a series of sesquiterpenes: α -cedrene, β -caryophyllene, α -humulene and α -farnesene with O₃, OH and NO₃ radicals. **Environmental Chemistry**, v. 10, n. 3, p. 178–193, 2013.

JONES, K. E. et al. Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, n. 7181, p. 990–993, 2008.

JUNIOR, O.; DE, J. Q. **Estudo de associação entre bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares associados a leguminosas do grupo das piptadenias**. 2026.

JUNIOR, P.; ALEXSANDER. **Análises anatômicas em folhas jovens de oito espécies de leguminosas do Cerrado**. Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2026.

KABIER, M. et al. MzDOCK: a free ready-to-use GUI-based pipeline for molecular docking simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 45, n. 23, p. 1980–1986, 1986.

KARAKOTI, H. et al. Phytochemical profile, *in vitro* bioactivity evaluation, *in silico* molecular docking and ADMET study of essential oils of three *Vitex* species grown in Tarai region of Uttarakhand. **Antioxidants**, v. 11, n. 10, art. 1911, 2022.

KHAN, A. et al. Antifungal screening and molecular docking simulation of silica supported synthesized sitosteryl hydrogen phthalate using microwave irradiation. **Hemijiska Industrija**, v. 74, n. 6, p. 377–388, 2025.

KHAN, A. et al. Plant secondary metabolites—central regulators against abiotic and biotic stresses. **Metabolites**, v. 15, n. 4, 2026.

KHMIL, N. V.; SHESTOPALOVA, A. V.; KOLESNIKOV, V. G. *In silico* analysis of binding sites for potential inhibitors targeting the complex of furin protease. **Biophysical Bulletin**, p. 9, 2025.

KOEBERLE, A.; WERZ, O. Multi-target approach for natural products in inflammation. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 12, p. 1871–1882, 2014.

KOWALCZYK, A. Essential oils against *Candida auris*—a promising approach for antifungal activity. **Antibiotics**, v. 13, n. 6, art. 568, 2024.

KOZICS, K. et al. The effect of ten essential oils on several cutaneous drug-resistant microorganisms and their cyto/genotoxic and antioxidant properties. **Molecules**, v. 24, n. 24, art. 4570, 2019.

KUMAR, S. G. et al. Antimicrobial resistance in India: a review. **Journal of Natural Science, Biology, and Medicine**, v. 4, n. 2, p. 286–291, 2013.

KUSUMA, Kumud D. et al. FtsZ as an antibacterial target: status and guidelines for progressing this avenue. **ACS Infectious Diseases**, v. 5, n. 8, p. 1279-1294, 2019. DOI: 10.1021/acsinfecdis.9b00055.

LAGARTOPARRA, A. Comparative study of the assay of and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 395–400, 2001.

LAHLOU, Youssef et al. Experimental and molecular docking analyses of antibacterial activity in Moroccan *Rosmarinus officinalis* essential oil. **Scientific Reports**, v. 16, art. 7850, 2026. DOI: 10.1038/s41598-026-38203-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-026-38203-5>. Acesso em: 30 jun. 2026.

LÁSCARIS, M. P. S. et al. Sinergismo microbiano entre óleos essenciais e conservantes sintéticos utilizados na indústria de alimentos. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, art. e32011326535, 2022.

LAVECCHIA, A.; CERCHIA, C. *In silico* methods to address polypharmacology: current status, applications and future perspectives. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 2, p. 288–298, 2016.

LEITE, M. C. A. et al. Investigating the antifungal activity and mechanism(s) of geraniol against *Candida albicans* strains. **Medical Mycology**, v. 53, n. 3, p. 275–284, 2015.

- LEIVA-MORA, M. et al. Antifungal mechanisms of plant essential oils: a comprehensive literature review for biofungicide development. **Agriculture**, v. 15, n. 21, art. 2303, 2025.
- LEPESHEVA, G. I.; VILLALTA, F.; WATERMAN, M. R. Targeting *Trypanosoma cruzi* sterol 14 α -demethylase (CYP51). **Advances in Parasitology**, v. 75, p. 65–87, 2011.
- LEPORE, L. et al. Isolation and structural characterization of glycosides from an anti-angiogenic extract of *Monnina obtusifolia* H. B. K. **Fitoterapia**, v. 82, n. 2, p. 178–183, 2011.
- LIMA, I. O. et al. Anti-*Candida albicans* effectiveness of citral and investigation of mode of action. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 12, p. 1536–1541, 2018.
- LIMA, M. N.; SANTOS, V. N. C.; LA PORTA, F. A. Chemodiversity, bioactivity and chemosystematics of the genus *Inga* (FABACEAE): a brief review. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 3, p. 459–473, 2018.
- LIN, S. et al. Evaluation of multi-target iridium(iii)-based metallodrugs in combating antimicrobial resistance and infections caused by *Staphylococcus aureus*. **RSC Advances**, v. 14, n. 23, p. 16194–16206, 2024.
- LIPINSKI, Christopher A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, n. 1-3, p. 3-26, 2001. DOI: 10.1016/S0169-409X(00)00129-0.
- LIU, W.; WANG, T.; SU, E. Insights into the antifungal activity and mechanisms of cinnamon components against *Aspergillus flavus* and *Penicillium citrinum*. **Food Research International**, v. 197, art. 115291, 2024.
- LOMBARD, J.; MOREIRA, D. Origins and early evolution of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis in the three domains of life. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, n. 1, p. 87–99, 2011.
- LÓPEZ-VALVERDE, N. et al. Antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activity of natural products in periodontal disease: a comprehensive review. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 11, art. 1226907, 2023.

MA, Zhiwei; AJIBADE, A.; ZOU, X. Docking strategies for predicting protein-ligand interactions and their application to structure-based drug design. **Communications in Information and Systems**, v. 24, n. 3, p. 199–230, 2024.

MA, Zhonghua et al. Overexpression of the 14 α -demethylase target gene (CYP51) mediates fungicide resistance in *Blumeriella jaapii*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 4, p. 2581–2585, 2006.

MAJUMDAR, G.; MANDAL, S. Multi-target inhibition property of *Persicaria hydropiper* phytochemicals against Gram-positive and Gram-negative bacteria via molecular docking, dynamics simulation, and ADMET analysis. **Digital Chinese Medicine**, v. 8, n. 1, p. 76–89, 2025.

MANDAL, A. K. et al. *In vitro* antioxidant and antimicrobial potency of *Mimosa pudica* of Nepalese Terai region: insight into L-mimosine as an antibacterial agent. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2022, p. 1–11, 2022.

MANDRAS, N. et al. Liquid and vapour-phase antifungal activities of essential oils against *Candida albicans* and non-*albicans Candida*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, art. 330, 2016.

MANI-LÓPEZ, Eva; GARCÍA, Heriberto S.; LÓPEZ-MALO, Aurelio. A review of the methods used to determine the target site or the mechanism of action of essential oils against fungi. **SN Applied Sciences**, v. 3, art. 44, 2021. DOI: 10.1007/s42452-020-04102-1.

MARCHYSHYN, S. et al. Comparative analysis of essential oil containing raw materials of honeyherb (*Lippia dulcis* Trevir.) under different growing conditions. **ScienceRise: Pharmaceutical Science**, n. 6(46), p. 41–46, 2023.

MARUCA, A. et al. Chemoinformatic database building and *in silico* hit-identification of potential multi-targeting bioactive compounds extracted from mushroom species. **Molecules**, v. 22, n. 9, art. 1571, 2017.

MATOS, Francisco José de Abreu. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009.

MAYR, F. et al. Finding new molecular targets of familiar natural products using *in silico* target prediction. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, art. 7102, 2020.

MBAVENG, A. T. et al. Antimicrobial activities of the methanol extract and compounds from the twigs of *Dorstenia mannii* (Moraceae). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, n. 1, art. 83, 2012.

MEDEIROS, C. I. S. et al. 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, art. e11831, 2018.

MEDEIROS, D. de S. **Atividade biológica do isoeugenol e acetaminas híbridos frente a leveduras do gênero *Candida***. 2018. Dissertação (Mestrado) – [S. l.], 2018.

MELETIADIS, Joseph et al. Defining fractional inhibitory concentration index cutoffs for additive interactions based on self-drug additive combinations, Monte Carlo simulation analysis, and *in vitro-in vivo* correlation data for antifungal drug combinations against *Aspergillus fumigatus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 2, p. 602-609, 2010. DOI: 10.1128/AAC.00999-09.

MELO, R. S. et al. Chemical composition and antimicrobial effectiveness of *Ocimum gratissimum* L. essential oil against multidrug-resistant isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Molecules**, v. 24, n. 21, art. 3864, 2019.

MELOTTI, E.; DELERUE, T.; GOMPERTS BONECA, I. Understanding how bacterial cell wall peptidoglycan metabolism can be used to develop antimicrobial strategies. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 29, n. 11–12, p. 793–810, 2025.

MESQUITA, K. et al. Chemical composition and preliminary toxicity evaluation of the essential oil from *Peperomia circinnata* Link var. *circinnata* (Piperaceae) in *Artemia salina* Leach. **Molecules**, v. 26, n. 23, art. 7359, 2021.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 5, p. 31-34, 1982. DOI: 10.1055/s-2007-971236.

- MOHAJERI, F. A. et al. The effect of *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the growth and citrinin production of *Penicillium citrinum* in culture media and cheese. **Food and Chemical Toxicology**, v. 118, p. 691–694, 2018.
- MONÇÃO, N. B. N. et al. Chemical constituents and toxicological studies of leaves from *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth., a Brazilian honey plant. **Pharmacognosy Magazine**, v. 10, n. Suppl 3, p. S456-462, 2014.
- MONÇÃO, Nayana Bruna Nery; ARAÚJO, Bruno Quirino; CITÓ, Antonia Maria das Graças Lopes. Explorando a química de produtos naturais e propriedades biológicas do gênero *Mimosa* Linnaeus (Fabaceae-Mimosoideae). **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, p. 970-1010, 2019.
- MOO, C.-L. et al. Antimicrobial activity and mode of action of 1,8-cineol against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, art. 20824, 2021.
- MORAES, G. V. et al. Potencial antioxidante dos flavonoides e aplicações terapêuticas. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, art. e238111436225, 2022.
- MORRISON, W. R.; SMITH, L. M. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride–methanol. **Journal of Lipid Research**, v. 5, n. 4, p. 600–608, 1964.
- MUNDHE, A. K.; RAJKUMARI, R. Overcoming antifungal resistance in *Candida albicans* via RNA interference: a therapeutic perspective. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 15, art. 1675921, 2025.
- MUNTEAN, D.; VULPIE, S. Antioxidant and antibacterial activity of plant extracts. **Antibiotics**, v. 12, n. 7, art. 1176, 2023.
- MUNTEANU, Irina Georgiana; APETREI, Constantin. Analytical methods used in determining antioxidant activity: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, art. 3380, 2021. DOI: 10.1194/jlr.D001065.
- MURUGAN, N. A. et al. Searching for target-specific and multi-targeting organics for Covid-19 in the Drugbank database with a double scoring approach. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, art. 19125, 2020.

MUSLIKH, F. A. et al. *In silico* molecular docking and ADMET analysis for drug development of phytoestrogens compound with its evaluation of neurodegenerative diseases. **Borneo Journal of Pharmacy**, v. 5, n. 4, p. 357–366, 2022.

MUZAYINAH, M.; WUTSQA, Y. U.; FAUZI, F. M. Kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol *Angiopteris evecta* (G. Forst.) Hoffm. dengan metode ABTS: total flavonoid content and antioxidant activity of ethanolic extract of *Angiopteris evecta* (G. Forst.) Hoffm. using the ABTS method. **Journal of Pharmacy and Nutrition Research**, v. 1, n. 02, p. 100–108, 2025.

NAIMA, J. et al. Phytochemical and pharmacological investigation on hypoglycemia, sedation, antianxiety, free-radical scavenging, and cytotoxicity actions of *Mimosa diplotricha* C. Wright (Nila grass). **Clinical Phytoscience**, v. 11, n. 1, art. 13, 2025.

NANA, F. et al. A new fatty aldol ester from the aerial part of *Mimosa invisa* (Mimosaceae). **Natural Product Research**, v. 26, n. 19, p. 1831–1836, 2012.

NAZZARO, F. et al. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, v. 6, n. 12, p. 1451–1474, 2013.

NAZZARO, Filomena et al. Essential oils and antifungal activity. **Pharmaceuticals**, v. 10, n. 4, art. 86, 2017. DOI: 10.3390/ph10040086.

N'CHO, A. G.-R. et al. Phytochemical characterization, antioxidant potential and anthelmintic activity of *Desmodium triflorum* (L.) DC. (Fabaceae) from Côte d'Ivoire. **International Journal of Biochemistry Research & Review**, v. 34, n. 3, p. 45–58, 2025.

NENOFF, P.; HAUSTEIN, U.-F.; BRANDT, W. Antifungal activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) against pathogenic fungi *in vitro*. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 9, n. 6, p. 388–394, 1996.

NIKONOVA, E. Yu. et al. Specificity of human trans-sialidase as probed with gangliosides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 20, p. 5161–5164, 2004.

NOUMI, E. et al. GC-MS profiling, antibacterial, anti-quorum sensing, and antibiofilm properties of *Anethum graveolens* L. essential oil: molecular docking study and in-silico ADME profiling. **Plants**, v. 12, n. 10, art. 1997, 2023.

NTUNGWE N, E. et al. Artemia species: an important tool to screen general toxicity samples. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 24, p. 2892–2908, 2020.

NUNES, J. D. O. et al. Policy and strategies addressing prevention and control of antimicrobial resistance in Brazil: a scoping review protocol. **PLOS ONE**, v. 17, n. 1, art. e0263305, 2022.

OBISTIOIU, D. et al. Phytochemical profile and microbiological activity of some plants belonging to the Fabaceae family. **Antibiotics**, v. 10, n. 6, art. 662, 2021.

O'BOYLE, Noel M. et al. Open Babel: an open chemical toolbox. **Journal of Cheminformatics**, v. 3, art. 33, 2011. DOI: 10.1186/1758-2946-3-33.

OBUKHOVA, E. S.; MURZINA, S. A. Mechanisms of the antimicrobial action of fatty acids: a review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 60, n. 6, p. 1035–1043, 2024.

ODDS, Frank C. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, n. 1, p. 1, 2003. DOI: 10.1093/jac/dkg301.

OLIVEIRA, J. R. de. **Avaliação de atividades biológicas dos extratos de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) e *Thymus vulgaris* L. (tomilho)**. 2026. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), [S. l.], 2026.

OLIVEIRA, Y. R. et al. Potencial alelopático de espécies da família Fabaceae Lindl. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 24, n. 1, p. 65–74, 2020.

OLMEDO, D. A. et al. Understanding the *Artemia salina* (brine shrimp) test: pharmacological significance and global impact. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 27, n. 4, p. 545–554, 2024.

OUYANG, Qi et al. Citronellal exerts its antifungal activity by targeting ergosterol biosynthesis in *Penicillium digitatum*. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 6, art. 432, 2021. DOI: 10.3390/jof7060432.

PAULO, P. F. M. de. **Caracterização fenotípica e molecular de isolados de nódulos de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) cultivada em solos de áreas de Caatinga**. 2016. Tese (Doutorado) – [S. l.], 2016.

PEÑA, C. et al. Synthesis and characterization of phenolic novolacs modified by chestnut and *Mimosa* tannin extracts. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 100, n. 6, p. 4412–4419, 2006.

PEREIRA, A. V. et al. Atividade anti-fúngica do neem e jurema-preta sobre cepas de *Candida* spp. isolados de vacas com mastite subclínica no estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 818–822, 2009.

PEREIRA, R. et al. Diversidade estrutural e potencial biológico dos metabólitos secundários de espécies do gênero *Myroxylon* L. f. (Fabaceae): uma revisão da literatura. **Hoehnea**, v. 46, art. e582017, 2019.

PERRIOT, R. et al. Chemical composition of French *Mimosa* absolute oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 3, p. 1844–1849, 2010.

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

PINZI, Luca; RASTELLI, Giulio. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, art. 4331, 2019. DOI: 10.3390/ijms20184331.

PRABUSEENIVASAN, S.; JAYAKUMAR, M.; IGNACIMUTHU, S. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 6, n. 1, art. 39, 2006.

PRAET, T. et al. Flavor activity of sesquiterpene oxidation products, formed upon lab-scale boiling of a hop essential oil–derived sesquiterpene hydrocarbon fraction (cv. Saaz). **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 74, n. 1, p. 65–76, 2016.

QASEM, A. GC-MS analysis, antimicrobial activity, and genotoxicity of *Pimpinella anisum* essential oil: *in vitro*, ADMET and molecular docking investigations. **Phyton**, v. 94, n. 3, p. 809–824, 2025.

- QURESHI, K. A. et al. Isolation, characterization, anti-MRSA evaluation, and in-silico multi-target anti-microbial validations of actinomycin X2 and actinomycin D produced by novel *Streptomyces smyrnaeus* UKAQ_23. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, art. 14539, 2021.
- RABELLO, R. F. et al. Antimicrobial resistance in farm animals in Brazil: an update overview. **Animals**, v. 10, n. 4, art. 552, 2020.
- RABELO, V. W. et al. Targeting CYP51 for drug design by the contributions of molecular modeling. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 31, n. 1, p. 37–53, 2017.
- RAHAMOUZ-HAGHIGHI, S. et al. Phytochemical screening and cytotoxicity assessment of *Plantago lanceolata* L. root extracts on colorectal cancer cell lines and brine shrimp larvae and determination of the median lethal dose in mice. **South African Journal of Botany**, v. 149, p. 740–747, 2022.
- RAJ, U.; VARADWAJ, P. K. Flavonoids as multi-target inhibitors for proteins associated with Ebola virus: *in silico* discovery using virtual screening and molecular docking studies. **Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences**, v. 8, n. 2, p. 132–141, 2016.
- RAJABI, Sara; RAMAZANI, Ali; HAMIDI, Mohsen; NAJI, Tahereh. Artemia salina as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, art. 20, 2015. DOI: 10.1186/s40199-015-0105-x.
- RAJPUT, S. B.; KARUPPAYIL, S. M. Small molecules inhibit growth, viability and ergosterol biosynthesis in *Candida albicans*. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, art. 26, 2013.
- RAMOS, C. et al. A comprehensive review of the multitarget effects of subinhibitory concentrations of essential oils against *Salmonella*. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 25, n. 2, art. e70418, 2026. DOI: 10.1111/1541-4337.70418.
- RAMOS, S. C. S. et al. Antibacterial and cytotoxic properties of some plant crude extracts used in northeastern folk medicine. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2a, 2026.
- RAN, D. et al. Melatonin attenuates hLRRK2-induced long-term memory deficit in a *Drosophila* model of Parkinson's disease. **Biomedical Reports**, v. 9, n. 3, p. 221–226, 2018.

RANA, Preeti et al. FabI (enoyl acyl carrier protein reductase): a potential broad spectrum therapeutic target and its inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 208, art. 112757, 2020. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112757.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250–264, 2014.

RIAZ, S. et al. Antibacterial and cytotoxic activities of *Acacia nilotica* Lam (Mimosaceae) methanol extracts against extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 6, p. 785–791, 2011.

RIGBY, Sean P. Uses of molecular docking simulations in elucidating synergistic, additive, and/or multi-target (SAM) effects of herbal medicines. **Molecules**, v. 29, n. 22, art. 5406, 2024.

RIZWAN, K. et al. Phytochemistry and diverse pharmacology of genus *Mimosa*: a review. **Biomolecules**, v. 12, n. 1, art. 83, 2022.

ROCHA, Adriana Barbosa da et al. Antimicrobial activity of essential oil from *Mimosa verrucosa* Benth. and *Illicium verum* Hook.f. against planktonic and biomass bacterial cells. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 26, n. 1, p. 35-44, 2024. DOI: 10.70151/1vw7fj54.

ROCHA, W. R. V. D. et al. Gênero *Candida* - fatores de virulência, epidemiologia, candidíase e mecanismos de resistência. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, art. e43910414283, 2021.

RODRIGUES, G. L. et al. Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella* isolates from human and swine sources in Brazil: a systematic review of the past three decades. **Microbial Drug Resistance**, v. 26, n. 10, p. 1260–1270, 2020.

ROSSI, F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 9, p. 1138–1143, 2011.

RUMA, Y. N. et al. Characterisation of *Candida parapsilosis* CYP51 as a drug target using *Saccharomyces cerevisiae* as host. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 1, art. 69, 2022.

RUTALA, W. A. et al. Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 21, n. 1, p. 33–38, 2000.

SAAD, N. Y.; MULLER, C. D.; LOBSTEIN, A. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 28, n. 5, p. 269–279, 2013.

SABT, A. et al. Investigation of novel Mucorales fungal inhibitors: synthesis, in-silico study and anti-fungal potency of novel class of coumarin-6-sulfonamides-thiazole and thiadiazole hybrids. **ChemistrySelect**, v. 7, n. 17, art. e202200691, 2022.

SADEGHIAN, S. et al. 1,2,4-Triazole derivatives as novel and potent antifungal agents: design, synthesis and biological evaluation. **Journal of Molecular Structure**, v. 1271, art. 134039, 2023.

SAĞSÖZ, N. P. et al. Different essential oils can inhibit *Candida albicans* biofilm formation on acrylic resin by suppressing aspartic proteinase: *in vitro* and *in silico* approaches. **Clinical Oral Investigations**, v. 29, n. 2, art. 94, 2025.

SAKITA, K. M. et al. Structure-based drug design of multi-targeting inhibitors of human pathogen fungi. **Journal of Molecular Structure**, v. 1287, art. 135693, 2023.

SALIE, F.; EAGLES, P. F. K.; LENG, H. M. J. Preliminary antimicrobial screening of four South African Asteraceae species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 52, n. 1, p. 27–33, 1996.

SANA, S. et al. Distribution, molecular characterization, and treatment options for dermatophyte and non-dermatophyte fungi isolated from human and animal samples: an integrated computational and experimental approach. **Allergologia et Immunopathologia**, v. 54, n. 1, p. 196–211, 2026.

SANTIAGO, R. F. et al. Novel chemical constituents identified by UPLC-QTOF-MS/MS and biological activities attributed to extracts from three species of *Mimosa*. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 88, n. 18, p. 710–726, 2025.

SANTOS, E. L. et al. Enhanced antibacterial effect of antibiotics by the essential oil of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. and its major constituent beta-caryophyllene. **Phytomedicine Plus**, v. 1, n. 4, art. 100100, 2021.

SARMA, M. et al. Multi-target molecular dynamic simulations reveal glutathione-S-transferase as the most favorable drug target of knipholone in *Plasmodium falciparum*. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 41, n. 22, p. 12808–12824, 2023.

SARRAZIN, S. L. F. et al. Antifungal chemosensitization through induction of oxidative stress: a model for control of candidiasis based on the *Lippia origanoides* essential oil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, n. 1, art. e20230532, 2024.

SCALAS, D. et al. Use of *Pinus sylvestris* L. (Pinaceae), *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae), and *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) essential oils and their main components to enhance itraconazole activity against azole susceptible/not-susceptible *Cryptococcus neoformans* strains. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, n. 1, art. 143, 2018.

SCHWINDL, S.; KRAUS, B.; HEILMANN, J. Phytochemical study of *Juglans regia* L. leaves. **Phytochemistry**, v. 144, p. 58–70, 2017.

SELESTINO NETA, M. C. et al. Effects of β -caryophyllene and *Murraya paniculata* essential oil in the murine hepatoma cells and in the bacteria and fungi 24-h time–kill curve studies. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 190–197, 2017.

SELL, C. Chemistry of essential oils. **Handbook of Essential Oils**. 3. ed. [S. l.]: CRC Press, 2020.

ŠERÁ, B. et al. Effects of non-thermal plasma treatment on seed germination and early growth of leguminous plants—a review. **Plants**, v. 10, n. 8, 2021.

SHAHIDI, Fereidoon; ZHONG, Ying. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757-781, 2015. DOI: 10.1016/j.jff.2015.01.047.

SHAIKH, Junaid R.; PATIL, Matsyagandha K. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: an overview. **International Journal of Chemical Studies**, v. 8, n. 2, p. 603-608, 2020. DOI: 10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834.

SHARMA, A. D.; KAUR, I. Aroma profile and in-silico molecular docking studies of essential oil against “Aspergillois” from *Eucalyptus polybractea*. **South African Journal of Botany**, v. 147, p. 754–763, 2022.

SHARMA, M. et al. *In vitro* and *in silico* analysis of broad-spectrum bio-activity of essential oils derived from medicinal and aromatic plants against microbial phytopathogens. **European Journal of Plant Pathology**, v. 170, n. 4, p. 955–971, 2024. DOI: 10.1007/s10658-024-02906-0.

SHARMA, V. et al. In-silico molecular docking and molecular dynamic simulation of γ -elemene and caryophyllene identified from the essential oil of *Kaempferia galanga* L. against biofilm forming proteins, CrtM and SarA of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 43, n. 15, p. 8357–8369, 2025.

SHARMA, Y.; KHAN, L. A.; MANZOOR, N. Anti-*Candida* activity of geraniol involves disruption of cell membrane integrity and function. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 26, n. 3, p. 244–254, 2016.

SHOKRI, H. Evaluation of inhibitory effects of citric and tartaric acids and their combination on the growth of *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, and *Malassezia furfur*. **Comparative Clinical Pathology**, v. 20, n. 5, p. 543–545, 2011.

SILVA, A. B. D. et al. Bioatividade do óleo essencial de *Croton blanchetianus* Baill (Euphorbiaceae) sobre *Callosobruchus maculatus* Fabricius, 1775 (Coleoptera: Chrysomelidae). **Nativa**, v. 8, n. 4, p. 450–455, 2020.

SILVA, A. de J. **Desenvolvimento de leguminosas florestais (*Acacia mangium*, *Mimosa caesalpiniiifolia* e *Enterolobium contortisiliquum*) com fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio em área degradada por mineração no estado de Sergipe**. 2026.

SILVA, B. et al. Improved strategy based on QuEChERS method followed by HPLC/DAD for the quantification of phenolic compounds from *Mimosa scabrella* Benth honeydew honeys. **LWT**, v. 116, art. 108471, 2019.

SILVA, J. T. da C. et al. *In vitro* and *in silico* biological evaluation of the essential oil from *Syzygium cumini* leaves as a source of novel antifungal and trichomonacidal agents. **Future Pharmacology**, v. 4, n. 2, p. 380–394, 2024.

SILVA, L. B. da et al. Estudo comparativo da madeira de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth e *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (Fabaceae-Mimosoideae) na caatinga nordestina. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, p. 301–314, 2011.

SILVA, S. A. D. N. M. et al. Phytochemical and biological prospection of *Mimosa* genus plants extracts from Brazilian Northeast. **Phytochemistry Letters**, v. 39, p. 173–181, 2011.

SILVEIRA, F. S. **Estudos taxonômicos em *Mimosa* L. seção *Mimosa* (Fabaceae, Mimosoideae) no Rio Grande do Sul**. 2026.

SIMBU, S.; ORCHARD, A.; VUUREN, S. V. Essential oil compounds in combination with conventional antibiotics for dermatology. **Molecules**, v. 29, n. 6, art. 1225, 2024.

SIMON, Marcelo F. et al. The evolutionary history of *Mimosa* (Leguminosae): toward a phylogeny of the sensitive plants. **American Journal of Botany**, v. 98, n. 7, p. 1201-1221, 2011. DOI: 10.3732/ajb.1000520.

SINGH, A. et al. Recent advances in antifungal drug development targeting lanosterol 14 α -demethylase (CYP51): a comprehensive review with structural and molecular insights. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 102, n. 3, p. 606–639, 2023.

SISWINA, T. et al. Phytochemical profiling of *Piper crocatum* and its antifungal mechanism action as lanosterol 14 alpha demethylase CYP51 inhibitor: a review. **F1000Research**, v. 11, art. 1115, 2023.

SOULAIMANI, B. Comprehensive review of the combined antimicrobial activity of essential oil mixtures and synergism with conventional antimicrobials. **Natural Product Communications**, v. 20, n. 3, art. 1934578X251328241, 2025.

SOUZA, Livia B. F. C. et al. Mechanism of action and synergistic effect of *Eugenia uniflora* extract in *Candida* spp. **PLoS ONE**, v. 19, n. 8, art. e0303878, 2024. DOI: 10.1371/journal.pone.0303878.

SOUZA, N. A. B. et al. Efficacy of *Origanum* essential oils for inhibition of potentially pathogenic fungi. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 3, p. 499–508, 2024.

SOUZA, Z. N.; CÓRDULA, C. R.; CAVALCANTI, I. M. F. The potential usage of Caatinga natural products against multi-drug-resistant bacteria. **Fitoterapia**, v. 172, art. 105752, 2024.

SPECK-PLANCHE, A.; KLEANDROVA, V. V.; SCOTTI, M. T. Fragment-based approach for the *in silico* discovery of multi-target insecticides. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 111, n. 1, p. 39–45, 2012.

SQUIRES, R. W. et al. Transtelephonic electrocardiographic monitoring of cardiac rehabilitation exercise sessions in coronary artery disease. **The American Journal of Cardiology**, v. 67, n. 11, p. 962–964, 1991.

SRINIVASAN, R. et al. Bioassay guided isolation of mosquito larvicidal compound from acetone leaf extract of *Elaeagnus indica* Servett Bull and its in-silico study. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 394–401, 2015.

STUCKEY, P. V.; SANTIAGO-TIRADO, F. H. Fungal mechanisms of intracellular survival: what can we learn from bacterial pathogens? **Infection and Immunity**, v. 91, n. 9, art. e00434-22, 2023.

SUN, C.; JIANG, X.; WANG, C. An analytic potential energy function for the amide–amide and amide–water intermolecular hydrogen bonds in peptides. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 15, p. 2567–2575, 2009.

SWAIN, A. et al. Molecular docking, dynamics simulation and pharmacokinetic studies of *Cyperus articulatus* essential oil metabolites as inhibitors of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 41, n. 19, p. 9245–9255, 2023.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIAH, U. R. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, art. 3012462, 2016.

TANVEER, F. et al. Evaluation of anti-EGFR potential of quinazoline derivatives using molecular docking: an *in silico* approach. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 69, n. 3, p. 1226–1237, 2022.

TCHINANG, Flore Tatiana Kemegni et al. *In vitro* anti-yeast activity, kinetics and mechanism of action of essential oils from two Cameroonian medicinal plants. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 23, art. 115, 2023. DOI: 10.1186/s12906-022-03827-3.

TEIXEIRA, A. P. D. C. et al. Antifungal activity study of the monoterpene thymol against *Cryptococcus neoformans*. **Natural Product Research**, v. 34, n. 18, p. 2630–2633, 2020.

TOSCO, P.; STIEFL, N.; LANDRUM, G. Bringing the MMFF force field to the RDKit: implementation and validation. **Journal of Cheminformatics**, v. 6, n. 1, art. 37, 2014.

- TOUATI, A. et al. Essential oils for biofilm control: mechanisms, synergies, and translational challenges in the era of antimicrobial resistance. **Antibiotics**, v. 14, n. 5, art. 503, 2025.
- TRAN, H. N. H.; GRAHAM, L.; ADUKWU, E. C. *In vitro* antifungal activity of *Cinnamomum zeylanicum* bark and leaf essential oils against *Candida albicans* and *Candida auris*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 20, p. 8911–8924, 2020.
- TRÖSKEN, E. R. et al. Comparison of lanosterol-14 α -demethylase (CYP51) of human and *Candida albicans* for inhibition by different antifungal azoles. **Toxicology**, v. 228, n. 1, p. 24–32, 2006.
- TSIMOGIANNIS, D.; BIMPILAS, A.; OREOPOULOU, V. DPPH radical scavenging and mixture effects of plant o-diphenols and essential oil constituents. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 119, n. 9, art. 16003473, 2017.
- ULTEE, A.; KETS, E. P. W.; SMID, E. J. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 10, p. 4606–4610, 1999.
- UNGUREANU, D. et al. Antimicrobial and antibiofilm activities of some antioxidant 3,4-dihydroxyphenyl-thiazole-coumarin hybrid compounds: *in silico* and *in vitro* evaluation. **Antibiotics**, v. 14, n. 9, art. 943, 2025.
- VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. Dec. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463–471, 1963. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)80947-X.
- VAN VUUREN, S. F.; SULIMAN, S.; VILJOEN, A. M. The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. **Letters in Applied Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 440–446, 2009.
- VILLECCO, M. B. et al. Synthesis and antibacterial activity of highly oxygenated 1,8-cineole derivatives. **Natural Product Communications**, v. 3, n. 3, art. 1934578X0800300301, 2008.

WANG, H. et al. Multi-target mode of action of silver against *Staphylococcus aureus* endows it with capability to combat antibiotic resistance. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, art. 3331, 2021.

WANG, K.-P. et al. Inhibitory effect of polysaccharides isolated from *Angelica sinensis* on hepcidin expression. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, n. 3, p. 944–948, 2021.

WANG, X. et al. Flourishing antibacterial strategies for osteomyelitis therapy. **Advanced Science**, v. 10, n. 11, art. 2206154, 2023.

WARREN, Gregory L. et al. A critical assessment of docking programs and scoring functions. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 20, p. 5912-5931, 2006. DOI: 10.1021/jm050362n.

WARUDE, B. J. et al. Design, docking, MD simulation and *in-silico* ADMET prediction studies of novel indole-based benzamides targeting estrogen receptor alfa positive for effective breast cancer therapy. **Pharmacia**, v. 70, n. 2, p. 307–316, 2023.

WEI, Bingyan et al. Anti-infective therapy using species-specific activators of *Staphylococcus aureus* ClpP. **Nature Communications**, v. 13, art. 6909, 2022. DOI: 10.1038/s41467-022-34753-0.

WIEGAND, Irith; HILPERT, Kai; HANCOCK, Robert E. W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. **Nature Protocols**, v. 3, n. 2, p. 163-175, 2008. DOI: 10.1038/nprot.2007.521.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 21, p. 8093–8105, 2005.

XIONG, Guoli et al. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. W1, p. W5-W14, 2021. DOI: 10.1093/nar/gkab255.

YELBOĞA, B.; KARAKUŞ, S. A study on antifungal activity of thymol, eugenol, and 1,8-cineole against *Botrytis cinerea* Persoon isolated from grapevine (*Vitis vinifera* Linné). **Journal of Central European Agriculture**, v. 24, n. 4, p. 888–898, 2023.

YOUSEF, L. F. et al. Lipid profiling of the soybean pathogen *Phytophthora sojae* using fatty acid methyl esters (FAMES). **Fungal Biology**, v. 116, n. 5, p. 613–619, 2012.

YOUSUF, Z. et al. Structure-based virtual screening and molecular docking for the identification of potential multi-targeted inhibitors against breast cancer. **Breast Cancer: Targets and Therapy**, v. 9, p. 447–459, 2017.

YU, Jie et al. Chemical composition of essential oils and their potential applications: a review. **Molecules**, v. 30, n. 3, art. 683, 2025. DOI: 10.3390/molecules30030683.

YUNIATI, Y. et al. Antibacterial activity of *Dracontomelon dao* extracts on methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) and *E. coli* multiple drug resistance (MDR). **African Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 1 Suppl, p. 62–67, 2018.

ZHANG, J. et al. Studies on the active components and antioxidant activities of the extracts of *Mimosa pudica* Linn. from southern China. **Pharmacognosy Magazine**, v. 7, n. 25, p. 35–39, 2011.

ZHAO, L. et al. *In vitro* antibacterial activities and mechanism of sugar fatty acid esters against five food-related bacteria. **Food Chemistry**, v. 187, p. 370–377, 2015.

ZHENG, C. et al. System-level multi-target drug discovery from natural products with applications to cardiovascular diseases. **Molecular Diversity**, v. 18, n. 3, p. 621–635, 2014.

ZHENG, Y. et al. Antifungal activities of cis-trans citral isomers against *Trichophyton rubrum* with ERG6 as a potential target. **Molecules**, v. 26, n. 14, art. 4263, 2021.

ZHENG, Y.-Z.; DENG, G.; ZHANG, Y.-C. Multiple free radical scavenging reactions of flavonoids. **Dyes and Pigments**, v. 198, art. 109877, 2022.

ZHI, Z. et al. Study of the antimicrobial activity of carvacrol and its mechanism of action against drug-resistant bacteria. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 757, art. 151643, 2025.

ZHU, Y. et al. A dual-platform analytical workflow for the in-depth qualitative characterization of the essential oil of *Nardostachys jatamansi*. **Microchemical Journal**, v. 224, art. 117453, 2026.

ZIA UR REHMAN. Assessing the inhibitory potential of natural compounds for targeting the CrtM proteins in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* through machine learning-based QSAR

modeling and structural dynamics analysis. **Current Medicinal Chemistry**, v. 32, n. 41, p. 9344–9366, 2025.

ZUZARTE, M.; SALGUEIRO, L. Essential oils chemistry. *In*: DE SOUSA, D. P. (org.). **Bioactive Essential Oils and Cancer**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 19–61.