

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Mirella Chrispim Cerqueira de Oliveira**

**Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante e investigação do potencial antibacteriano de extratos etanólicos de folhas de *Vernonia polyanthes* Less. contra *Escherichia coli* uropatogênica**

Juiz de Fora

2025

**Mirella Chrispim Cerqueira de Oliveira**

**Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante e investigação do potencial antibacteriano de extratos etanólicos de folhas de *Vernonia polyanthes* Less. contra *Escherichia coli* uropatogênica**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do Título de Mestra em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos Ativos.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Silvana Alves

Coorientadoras: Profa. Dra. Elita Scio Fontes

Profa. Dra. Flávia Lúcia Piffano Costa Pellegrino

Juiz de Fora

2025

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Chrispim Cerqueira de Oliveira, Mirella.

Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante e investigação do potencial antibacteriano de extratos etanólicos de folhas de *Vernonia polyanthes* Less. contra *Escherichia coli* uropatogênica / Mirella Chrispim Cerqueira de Oliveira. -- 2025. 93 f. : il.

Orientadora: Maria Silvana Alves

Coorientadoras: Elita Scio Fontes, Flavia Lucia Piffano Costa Pellegrino

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2025.

1. *Vernonia polyanthes*. 2. Plantas medicinais. 3. *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC). 4. Antibacterianos. 5. Infecção do trato urinário (ITU).. I. Alves, Maria Silvana, orient. II. Scio Fontes, Elita, coorient. III. Piffano Costa Pellegrino, Flavia Lucia, coorient. IV. Título.

**Mirella Chripim Cerqueira de Oliveira****Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante e investigação do potencial antibacteriano de extratos etanólicos de folhas de *Vernonia polyanthes* Less. contra *Escherichia coli* uropatogênica**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos Ativos

Aprovada em 20 de março de 2025.

**BANCA EXAMINADORA**

**Dra. Maria Silvana Alves** - Orientadora

Universidade Federal de Juiz de Fora

**Dra. Fernanda Maria Pinto Vilela**

Universidade Federal de Juiz de Fora

**Dra. Martha Eunice de Bessa**

UniAcademia

Juiz de Fora, 12/03/2025.



Documento assinado eletronicamente por **Maria Silvana Alves, Professor(a)**, em 21/03/2025, às 10:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Maria Pinto Vilela, Professor(a)**, em 21/03/2025, às 11:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Martha Eunice de Bessa, Usuário Externo**, em 24/03/2025, às 13:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf ([www2.ufjf.br/SEI](http://www2.ufjf.br/SEI)) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **2287281** e o código CRC **DD49E1D4**.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar a vida, por mais essa oportunidade, ter me dado força e me guiado para chegar até o fim;

A minha amada mãe, Maria, pelo amor, carinho incondicional e por ser a melhor mãe do mundo!

Aos meus amados irmãos, Mari e Eli, por todo amor, amizade e companheirismo;

Ao meu pai (*in memoriam*), eternamente te amarei;

Aos meus cunhados, Cintia e Wagner, pela amizade, paciência e apoio;

A família Chrispim;

Ao amor da minha vida, meu sobrinho Teteu, quem me traz amor e alegria à vida.

À minha orientadora, Profa. Dra. Maria Silvana Alves, pela oportunidade, atenção, carinho, paciência, pelas palavras de incentivo e motivação. Gratidão pelos valiosos ensinamentos transmitidos;

À minha coorientadora, Profa. Dra. Elita Scio Fontes, pela generosidade, todos os valiosos ensinamentos e pela disponibilização do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Bioquímica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF);

À minha coorientadora, Profa. Dra. Flávia Lúcia Piffano Costa Pellegrino, pela parceria, dedicação e pelos conhecimentos transmitidos;

À toda equipe do Laboratório de Bioatividade Celular e Molecular (LBCM) da Faculdade de Farmácia (FF) da UFJF;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) e da FF da UFJF, pelos ensinamentos e contribuição científica;

Aos Técnicos Administrativos em Educação (TAEs) Jésus Sarmiento e Éder Tostes, pelo suporte na coleta do material vegetal e no preparo do extrato;

Aos TAEs e colegas do Centro de Pesquisas Farmacêuticas da FF da UFJF, em especial, Welder, Thamiris, Romário, Laura e Jucélia;

Aos secretários do PPGCF da UFJF, Arlem Martins de Rezende, Diogo Mendes Rodrigues e Sullivan Ramos Moreira Andrade, pelo atendimento de qualidade;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pelo suporte financeiro por meio do aporte de recursos no projeto coordenado pela Profa. Dra. Flávia Lúcia Piffano Pellegrino (E-26/010.002384/2019) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela bolsa concedida;

Ao PPGCF da UFJF, pela oportunidade e infraestrutura para realização dos experimentos propostos;

Ao estimado colega Ygor por dividir os seus conhecimentos e pela boa vontade;

Aos meus amigos Rodrigo, Maycon, Wenderson, Leandro, Mari, Monise, Bia, Arthur, Polly e Letícia: toda a minha gratidão e amor por terem me escutado várias vezes, até eu conseguir. Sei o quanto foi cansativo para vocês! E a todos os amigos que, direta ou indiretamente, deram sua colaboração e amizade, tornando o caminho mais fácil de percorrer.

A todos vocês, muito obrigada!

*"Uma vida sem desafios não vale a pena ser vivida".*

*Sócrates*

## RESUMO

A *Vernonia polyanthes* Less., conhecida popularmente como assa-peixe, é tradicionalmente utilizada no tratamento de diversas afecções, incluindo aquelas do sistema urinário. Com base nisso, surgiu a hipótese de que extratos dessa planta possam atuar sobre *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC), principal causadora de infecções do trato urinário (ITUs). Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antibacteriana de extratos etanólicos de folhas de *V. polyanthes* frente a cepas de *E. coli* de referência e clínicas uropatogênicas, além de caracterizar quimicamente esses extratos e avaliar sua atividade antioxidante, fornecendo dados científicos para o uso medicinal dessa planta no tratamento de ITUs. Os extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) foram obtidos por extração em banho ultrassônico utilizando etanol nas respectivas concentrações. A caracterização química foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), enquanto os teores de fenóis e flavonoides totais foram determinados pelos métodos de Folin-Ciocalteu e complexação com cloreto de alumínio, nesta ordem. A atividade antioxidante foi avaliada pelo método de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), e o potencial antibacteriano foi investigado pelo método de microdiluição em caldo, para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), seguido de subcultivo para determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e classificação do efeito antibacteriano frente a um painel contendo duas cepas de referência e oito clínicas de *E. coli*, perfazendo um total de dez. Os resultados indicaram rendimentos semelhantes para os três extratos. A caracterização por CLAE-DAD mostrou que o ácido 5-cafeoilquínico é o composto majoritário de EE-50, EE-70 e EE-100. A determinação dos fenóis totais revelou que EE-50 e EE-70 apresentaram quantidades estatisticamente iguais e superiores a EE-100 desses compostos. Quanto aos flavonoides totais, o EE-100 apresentou a maior concentração desses fitoconstituintes. A atividade antioxidante mostrou que todos os extratos inibem o radical livre DPPH, com destaque para EE-50, que apresentou a menor concentração inibitória 50% (CI<sub>50</sub>) de  $3,81 \pm 0,44 \mu\text{g/mL}$ . A avaliação do potencial antibacteriano demonstrou que os extratos inibiram o crescimento de oito das dez cepas de *E. coli* testadas, com CIM variando entre 625 e 5.000  $\mu\text{g/mL}$ . O EE-100 apresentou atividade moderada a fraca, com valores de CIM mais baixos do que os encontrados nos extratos EE-50 e EE-70. Esses resultados indicam que os extratos etanólicos de folhas de *V. polyanthes* possuem potenciais atividades antioxidante e antibacteriana, provavelmente relacionadas à presença de ácidos fenólicos e flavonoides, respectivamente. O campo de estudo continua aberto para novas

metodologias de extração, com o objetivo de otimizar a obtenção de extratos com características ainda mais promissoras, visando o desenvolvimento de derivados vegetais para o tratamento de distúrbios inflamatórios e infecciosos causados por UPEC.

**Palavras-chave:** *Vernonia polyanthes*; plantas medicinais; *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC); antibacterianos; infecção do trato urinário (ITU).

## ABSTRACT

*Vernonia polyanthes* Less., commonly known in Brazil as "assa-peixe", is traditionally used to treat various ailments, including those affecting the urinary system. Based on this, the hypothesis arose that extracts from this plant might act on uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC), the primary cause of urinary tract infections (UTIs). In this context, the aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of ethanolic extracts from *V. polyanthes* leaves against reference *E. coli* and clinical uropathogenic *E. coli* strains, as well as to chemically characterize these extracts and assess their antioxidant activity, providing scientific data to support the medicinal use of this plant in UTI treatment. Ethanolic extracts at concentrations of 50% (EE-50), 70% (EE-70), and 100% (EE-100) were obtained by ultrasonic bath extraction using ethanol at the respective concentrations. Chemical characterization was performed by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection (HPLC-DAD), while the total phenolic and flavonoid contents were determined by the Folin-Ciocalteu and aluminum chloride complexation methods, respectively. Antioxidant activity was assessed using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging method, and antibacterial potential was investigated using the broth microdilution method to determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC), followed by subculturing to determine the Minimal Bactericidal Concentration (MBC) and classify the antibacterial effect against a panel consisting of two reference strains and eight clinical *E. coli* strains, totaling ten strains. The results showed similar yields for all three extracts. HPLC-DAD characterization revealed that 5-caffeoylquinic acid is the major compound in EE-50, EE-70, and EE-100. The total phenolic determination indicated that EE-50 and EE-70 contained statistically similar and higher amounts of these compounds compared to EE-100. As for total flavonoids, EE-100 had the highest concentration of these phytoconstituents. The antioxidant activity showed that all extracts inhibited the DPPH free radical, with EE-50 standing out, showing the lowest 50% inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of  $3.81 \pm 0.44$  µg/mL. The evaluation of antibacterial potential demonstrated that the extracts inhibited the growth of eight out of the ten *E. coli* strains tested, with MIC values ranging from 625 to 5,000 µg/mL. EE-100 exhibited moderate to weak activity, with MIC values lower than those found in EE-50 and EE-70. These results suggest that ethanolic extracts from *V. polyanthes* leaves possess potential antioxidant and antibacterial activities, likely related to the presence of phenolic acids and flavonoids, respectively. The field remains open for the development of new extraction methodologies aimed at optimizing the

extraction of more promising extracts, with the goal of developing plant-derived products for the treatment of inflammatory and infectious disorders caused by UPEC.

**Keywords:** *Vernonia polyanthes*; medicinal plants; uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC); antibacterial agents; urinary tract infections (UTI).

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fotografia do espécime botânico de <i>Vernonia polyanthes</i> cultivada no Horto Medicinal da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora...	34
Figura 2 - Fotografia das flores de <i>Vernonia polyanthes</i> .....	35
Figura 3 - Fotografia das folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> selecionadas após o processo de secagem.....	43
Figura 4 - Esquema ilustrativo do processo de extração e obtenção dos extratos etanólicos de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> .....	44
Figura 5 - Representação esquemática do procedimento de diluição seriada em placa de microtitulação para determinação da Concentração Inibitória Mínima .....	51
Figura 6 - Esquema representativo dos controles utilizados no método de microdiluição em caldo.....	52
Figura 7 - Esquema ilustrativo das placas usadas para a determinação da Concentração Inibitória Mínima.....	53
Figura 8 - Esquema ilustrativo para determinação da Concentração Bactericida Mínima e classificação do efeito antibacteriano .....	55
Figura 9 - Perfil cromatográfico do extrato etanólico 50% (EE-50) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> obtido por CLAE-DAD a 330 nm .....	59
Figura 10 - Perfil cromatográfico do extrato etanólico 70% (EE-70) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> obtido por CLAE-DAD a 330 nm .....	60
Figura 11 - Perfil cromatográfico do extrato etanólico 100% (EE-100) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> obtido por CLAE-DAD a 330 nm .....	61
Figura 12 - Espectros no UV dos picos majoritários presentes no cromatograma do extrato etanólico 50% (EE-50) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> obtidos por CLAE-DAD a 330 nm .....	62
Figura 13 - Espectros no UV dos picos majoritários presentes no cromatograma do extrato etanólico 70% (EE-70) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> obtidos por CLAE-DAD a 330 nm .....	62
Figura 14 - Espectros no UV dos picos majoritários presentes no cromatograma do extrato etanólico 100% (EE-100) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> obtidos por CLAE-DAD a 330 nm.....	62
Figura 15 - Perfil cromatográfico do padrão de ácido 5-cafeoilquínico a 0,1 mg/mL obtido por CLAE-DAD a 330 nm.....	64

Figura 16 - Espectro no UV do pico referente ao padrão de ácido 5-cafeoilquínico obtido por CLAE-DAD a 330 nm .....	65
Figura 17 - Perfil cromatográfico da coeluição do extrato etanólico 50% (EE-50) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> com ácido 5-cafeoilquínico obtido por CLAE-DAD a 330 nm .....	66
Figura 18 - Perfil cromatográfico da coeluição do extrato etanólico 70% (EE-70) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> com ácido 5-cafeoilquínico obtido por CLAE-DAD a 330 nm .....	67
Figura 19 - Perfil cromatográfico da coeluição do extrato etanólico 100% (EE-100) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> com ácido 5-cafeoilquínico obtido por CLAE-DAD a 330 nm .....	68

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais atividades biológicas descritas na literatura científica para <i>Vernonia polyanthes</i> .....	36
Tabela 2 - Condições cromatográficas para as análises dos extratos etanólicos de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> .....	45
Tabela 3 - Cepas clínicas de <i>Escherichia coli</i> uropatogênica selecionadas para o estudo .....	48
Tabela 4 - Composição das soluções-estoque (SEs) dos extratos de <i>Vernonia polyanthes</i> utilizadas na determinação da Concentração Inibitória Mínima por meio do método de microdiluição em caldo.....	49
Tabela 5 - Composição das soluções-estoque (SEs) dos antibióticos (ANTs) utilizadas na determinação da Concentração Inibitória Mínima por meio do método de microdiluição em caldo.....	50
Tabela 6 - Valores das massas e dos rendimentos dos extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> .....	56
Tabela 7 - Teores de fenóis totais presentes nos extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> .....	70
Tabela 8 - Teores de flavonoides presentes nos extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> .....	72
Tabela 9 - Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> e da quercetina pelo método do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) .....	74
Tabela 10 - Valores de concentração inibitória 50% (CI <sub>50</sub> ) dos extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> e da quercetina frente ao radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) .....	75
Tabela 11 - Valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) obtidos com os extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> , ampicilina (AMP) e levofloxacina (LEV) frente às cepas bacterianas de referência e clínicas de <i>Escherichia coli</i> .....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
AMC	Amoxicilina/ácido clavulânico
AMH	Ágar Müeller-Hinton
AMP	Ampicilina
ANOVA	Análise de variância
ANTs	Antibióticos
APEC	do inglês <i>Avian Pathogenic Escherichia coli</i>
ATCC	do inglês <i>American Type Culture Collection</i>
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAZ	Ceftazidima
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CESJ	Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora
CFZ	Cefazolina
CI <sub>50</sub>	Concentração Inibitória 50%
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CIP	Ciprofloxacina
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLAE-DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Detector de Arranjo de Diodos
CLSI	do inglês <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CMH	Caldo Müeller-Hinton
CN	Controle negativo
CP	Controle positivo
CRO	Ceftriaxona
CTT	Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio
CXM	Cefuroxima
D.O.	Densidade Óptica
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio padrão
DPPH	Radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
EAT	Equivalente ao Ácido Tânico

EE-100	Extrato etanólico 100% de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i>
EE-50	Extrato etanólico 50% de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i>
EE-70	Extrato etanólico 70% de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i>
EQ	Equivalente à Quercetina
ESBL	do inglês <i>Extended-Spectrum Beta-Lactamase</i>
EtOH	Etanol
ExPEC	do inglês <i>Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli</i>
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
FAPERJ	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FEP	Cefepima
FF	Faculdade de Farmácia
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FOX	Cefoxitina
GEN	Gentamicina
H <sub>2</sub> O	Água
H <sub>2</sub> O <sub>d</sub>	Água destilada estéril
I	Sensível aumentando a exposição
IAM	Interferência das amostras sobre o meio de cultura
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
InPEC	do inglês <i>Intestinal Pathogenic Escherichia coli</i>
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
ISC	Interferência do sistema solvente/diluyente sobre o crescimento bacteriano
ISM	Interferência do sistema solvente/diluyente sobre o meio de cultura
ITU	Infecção do Trato Urinário
LBCM	Laboratório de Bioatividade Celular e Molecular
LEV	Levofloxacin
LILACS	Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde
MALDI-TOF/MS	do inglês <i>Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight</i>
MDR	Multidroga resistente
Min	Minuto
MRSA	do inglês <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
NaCl	Cloreto de sódio

NaOH	Hidróxido de Sódio
NLM	do inglês <i>U.S. National Library of Medicine</i>
NMEC	do inglês <i>Neonatal Meningitis Escherichia coli</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
P.A.	Para análise
pH	Potencial Hidrogeniônico
PNs	Produtos Naturais
PPGCF	Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
PTFE	Politetrafluoretileno
R	Resistente
RAM	Resistência Antimicrobiana
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
SAM	Ampicilina/sulbactam
SciELO	do inglês <i>Scientific Electronic Library Online</i>
SE	Solução-estoque
SEPEC	do inglês <i>Septicemia-associated Escherichia coli</i>
Serovar	Sorovariedade
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SXT	Sulfametoxazol/trimetoprim
TAE	Técnico Administrativo em Educação
$t_r$	Tempo de retenção
TSB	do inglês <i>Tryptic Soy Broth</i>
Tween 80	Polissorbato 80
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFF	Universidade Federal Fluminense
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
UPEC	do inglês <i>Uropathogenic Escherichia coli</i>
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
WFO	do inglês <i>World Flora Online</i>
WHO	do inglês <i>World Health Organization</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µm	Micrometro
A <sub>a</sub>	Absorbância da amostra
A <sub>b</sub>	Absorbância do branco do teste
g	Gramas
m	massa
M	Molar
<i>m/v</i>	Razão massa por volume
mg	Miligrama
mL	Mililitro
nm	Nanômetro
°C	Grau Celsius
r <sup>2</sup>	Coefficiente de correlação
<i>v</i>	Volume
<i>v/v</i>	Razão volume por volume

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>20</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>23</b>
2.1	ABORDAGEM COMPREENSIVA DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO (ITUs) .....	23
2.2	<i>Escherichia coli</i> UROPATOGÊNICA (UPEC): ASPECTOS RELEVANTES DO PRINCIPAL AGENTE ETIOLÓGICO DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO (ITUs).....	27
2.3	PRODUTOS NATURAIS COMO FONTE DE MOLÉCULAS PARA A DESCOBERTA E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS AGENTES ANTIMICROBIANOS .....	30
2.4	CONTEXTUALIZAÇÃO DA ESPÉCIE VEGETAL DO ESTUDO .....	33
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>41</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	41
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>42</b>
4.1	MATERIAL VEGETAL.....	42
4.2	PREPARO DO MATERIAL VEGETAL E PROCESSO DE EXTRAÇÃO .....	42
4.3	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA.....	44
4.3.1	<b>Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD)</b> .....	<b>44</b>
4.3.2	<b>Determinação do teor de fenóis totais</b> .....	<b>45</b>
4.3.3	<b>Determinação do teor de flavonoides</b> .....	<b>46</b>
4.4	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> DOS EXTRATOS DE <i>Vernonia polyanthes</i> .....	46
4.4.1	<b>Método do sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)</b> .....	<b>46</b>
4.5	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO <i>IN VITRO</i> DOS EXTRATOS DE <i>Vernonia polyanthes</i> .....	47

4.5.1	Cepas bacterianas e condições de cultura.....	47
4.5.2	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	49
4.5.3	Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e classificação do efeito antibacteriano.....	54
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	55
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	56
5.1	MASSAS E RENDIMENTOS DO PROCESSO EXTRATIVO.....	56
5.2	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA.....	57
5.2.1	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD).....	57
5.2.2	Determinação do teor de fenóis totais .....	69
5.2.3	Determinação do teor de flavonoides .....	71
5.3	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> DOS EXTRATOS DE <i>Vernonia polyanthes</i> .....	73
5.3.1	Método do sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH).....	73
5.4	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO <i>IN VITRO</i> DOS EXTRATOS DE <i>Vernonia polyanthes</i> .....	76
5.4.1	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e classificação do efeito antibacteriano .....	76
6	CONCLUSÃO .....	80
	REFERÊNCIAS .....	81

## 1 INTRODUÇÃO

---

As infecções do trato urinário (ITUs) são altamente prevalentes e podem afetar qualquer parte do sistema urinário, incluindo a uretra, a bexiga, os ureteres e os rins (Foxman, 2014; Mancuso et al., 2023). Essas infecções apresentam taxas elevadas de incidência, especialmente entre mulheres, crianças e idosos (Flores-Mireles et al., 2015). De fato, a incidência de ITUs é significativamente maior nas mulheres do que nos homens, devido a características fisiológicas e anatômicas, como a menor distância até a bexiga em comparação com os homens. Estima-se que entre 50 e 60% das mulheres adultas sofrerão pelo menos um episódio de ITU ao longo de suas vidas (Geerlings, 2016; Medina; Castillo-Pino, 2019).

Diante desse cenário, os impactos econômicos da morbidade associada às ITUs são expressivos, gerando um custo anual estimado em aproximadamente 3,5 bilhões de dólares apenas nos Estados Unidos (Flores-Mireles et al., 2015). No Brasil, entretanto, ainda há carência de dados robustos que permitam uma estimativa precisa dos custos decorrentes dessas infecções. As ITUs figuram entre as complicações infecciosas mais frequentes no contexto das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), anteriormente conhecidas como infecções hospitalares ou nosocomiais, representando uma ameaça significativa à saúde dos pacientes e um desafio substancial para os profissionais e instituições de saúde (Mengistu et al., 2023). A preocupação em torno dessas infecções se deve não apenas à sua alta prevalência, mas também à capacidade dos microrganismos envolvidos de compartilharem mecanismos de resistência, o que frequentemente resulta em falhas terapêuticas (Medina; Castillo-Pino, 2019).

No que se refere à etiologia, essas infecções podem ser causadas por diversos tipos de microrganismos, mas a maioria dos casos de bacteriúria assintomática, cistite, pielonefrite e ITU associada ao cateter é atribuída a bactérias, especialmente *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC), principal agente infeccioso tanto em ITUs não complicadas quanto complicadas (Flores-Mireles et al., 2015; Foxman, 2014; Geerlings, 2016; Medina; Castillo-Pino, 2019).

O tratamento das ITUs geralmente envolve o uso de antimicrobianos. No entanto, a emergência contínua da resistência a esses medicamentos, juntamente com a compreensão crescente dos efeitos prejudiciais dos antibióticos (ANTs) de amplo espectro na saúde da microbiota benéfica do hospedeiro, tem destacado as fragilidades no atual paradigma de tratamento (Klein; Hultgren, 2020). Investigações epidemiológicas apontam que cepas de UPEC apresentam taxas de resistência acima de 20% aos ANTs utilizados como primeira e segunda linhas de escolha para o tratamento dessas infecções (WHO, 2022). Portanto, é

evidente a necessidade de pesquisas voltadas para a descoberta e o desenvolvimento de novas opções terapêuticas.

Na busca por alternativas de tratamento, os metabólitos produzidos por produtos naturais (PNs) representam uma fonte valiosa de substâncias potenciais. O Brasil, detentor da maior biodiversidade do mundo, possui uma longa tradição no uso de plantas medicinais para o tratamento de diversas doenças. Essa prática tem suas raízes no conhecimento acumulado por povos indígenas, portugueses e africanos (Berlinck et al., 2017; Braga, 2011; Brasil, 2009; Dutra et al., 2016).

Inserida nessa biodiversidade, encontra-se a *Vernonia polyanthes* (Spreng.) Less. (Asteraceae Bercht. & Presl), conhecida popularmente como assa-peixe. Esta planta nativa silvestre é comumente encontrada no cerrado dos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e São Paulo (Alves; Neves, 2003). A *V. polyanthes* é amplamente utilizada na medicina tradicional para tratar disfunções renais, infecções, feridas, afecções da pele, distúrbios respiratórios, torções, fraturas, contusões, luxações, dores musculares e processos inflamatórios. Além disso, possui propriedades antimicobacteriana, cicatrizante, tônica, emenagoga, hipotensiva e diurética (Alves; Neves, 2003; Kiplimo, 2016; Lorenzi; Matos, 2008; Oliveira et al., 2007).

Desde 2010, nosso grupo de pesquisa tem explorado extratos, frações e compostos obtidos de flores, folhas e ramos de *V. polyanthes*, bem como substâncias adquiridas comercialmente que estão presentes nessa espécie vegetal, para investigar suas propriedades biológicas e/ou farmacológicas. Esses estudos abrangem atividades anti-inflamatória sistêmica (Temponi et al., 2012) e tópica (Minateli et al., 2017; Rodrigues et al., 2016), antinociceptiva (Temponi et al., 2012), cicatrizante (Sousa et al., 2016), antioxidante (Minateli et al., 2017) e antibacteriana (Gitirana de Santana et al., 2023).

Por exemplo, nossas pesquisas têm revelado o potencial antibacteriano de derivados vegetais de *V. polyanthes*, especialmente contra *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA) (Gitirana de Santana et al., 2023). Devido ao uso etnofarmacológico dessa espécie vegetal no tratamento de disfunções renais e infecções, surgiu a hipótese de que seus extratos também possam exercer efeitos sobre UPEC. Ademais, foi documentado que níveis elevados de espécies reativas de oxigênio modificam a sinalização celular de proteínas do hospedeiro, favorecendo infecções bacterianas e processos inflamatórios (Oliveira et al., 2018). Assim, pode-se inferir que a atividade antioxidante do extrato etanólico e frações dos ramos de *V. polyanthes*, observada por Minateli et al. (2017), também possa ser detectada nos extratos etanólicos de suas folhas. Isso pode contribuir para o tratamento de ITUs,

visto que o sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres e/ou espécies reativas não radicais (Barbosa et al., 2010).

Considerando o contexto apresentado, o objetivo deste estudo foi investigar o perfil químico, a atividade antioxidante e o potencial antibacteriano de extratos etanólicos obtidos de folhas de *V. polyanthes* contra UPEC.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

---

Esta revisão da literatura consistiu na busca e análise de referências bibliográficas principalmente relacionadas à definição, etiologia e tratamento das ITUs, bem como ao gênero, família, composição química e propriedades biológicas de *V. polyanthes*. A pesquisa foi realizada em bases de dados científicas consolidadas, incluindo PubMed/NLM (*U.S. National Library of Medicine*), *Web of Science*, *Science Direct*, *Scopus*, *Google Scholar*, Portal de Periódicos CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), SciELO (*Scientific Electronic Library Online*) e LILACS (Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde), no período de novembro de 2020 a fevereiro de 2025.

### 2.1 ABORDAGEM COMPREENSIVA DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO (ITUs)

As ITUs são predominantemente causadas por bactérias e geralmente caracterizadas pela presença desses patógenos em concentrações  $\geq 10^5$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/mL, dependendo do tipo de amostra de urina obtida (Xicohtencatl-Cortes et al., 2022), associadas a sinais e sintomas clínicos. Essas infecções podem afetar qualquer parte do sistema urinário, incluindo uretra, bexiga, ureteres e rins (Mancuso et al., 2023).

As ITUs são comuns em todos os indivíduos, independentemente da idade ou sexo, uma vez que a uretra funciona não apenas como um canal para a saída da urina, mas também como uma via de entrada para as bactérias no trato urinário (Kaur; Kaur, 2021).

A patogênese dessas infecções envolve a adesão inicial, com subsequente invasão e multiplicação de microrganismos nos tecidos afetados, desencadeando uma resposta inflamatória. Em geral, as ITUs têm início quando uropatógenos residentes no intestino colonizam a uretra e, posteriormente, a bexiga, utilizando adesinas específicas (Mancuso et al., 2023; Zhou et al., 2023).

Se a resposta inflamatória do hospedeiro não elimina completamente essas bactérias, elas se multiplicam, produzindo toxinas e enzimas que promovem sua sobrevivência. A colonização subsequente dos rins pode evoluir para bacteremia se os patógenos atravessarem a barreira epitelial renal (Mancuso et al., 2023).

A gravidade das infecções sintomáticas depende da localização afetada e da resposta imunológica do paciente. A cistite aguda, caracterizada por sintomas como disúria (sensação de dor, ardência ou desconforto ao urinar) e polaciúria (aumento da frequência urinária), geralmente está restrita ao trato urinário inferior (Klein; Hultgren, 2020).

Em contraste, a pielonefrite aguda, que afeta os rins e pode se disseminar para compartimentos sistêmicos, é mais grave. Nem toda bacteriúria resulta em resposta clínica ou doença, enfatizando a importância da distinção na patogênese das ITUs e na implementação de tratamento adequado (Klein; Hultgren, 2020).

Didaticamente, as ITUs podem ser classificadas em não complicadas e complicadas. As ITUs não complicadas ocorrem em pacientes sem disfunções ou anormalidades do trato urinário que predisponham à infecção, como é o caso de mulheres não grávidas e pré-menopáusicas, sem anormalidades urológicas relevantes ou comorbidades conhecidas. Essas infecções podem ser subdivididas em ITU baixa, que afeta a bexiga (cistite), ou ITU alta, que acomete os rins (pielonefrite) (Whelan; Lucey; Finn, 2023).

Por outro lado, as ITUs complicadas ocorrem em homens, mulheres grávidas, pacientes com anomalias anatômicas ou funcionais, doenças renais, cateteres urinários de demora e aqueles com certas comorbidades imunossupressoras ou exposição prévia a ANTs (Whelan; Lucey; Finn, 2023). Essas infecções requerem terapia prolongada e aumentam o risco de processos crônicos e/ou recorrentes (Kot, 2019).

A diferenciação entre ITUs não complicadas e complicadas é crucial para o tratamento, uma vez que os riscos de complicações e falha terapêutica são significativamente maiores em pacientes com ITU complicada. Essa distinção orienta a escolha do regime terapêutico mais adequado, visando melhorar os resultados clínicos e mitigar os riscos associados (Geerlings, 2016).

Segundo Bartoletti et al. (2016), as ITUs afetam mais de 30% da população mundial. Essa prevalência está em ascensão globalmente, impulsionada por uma interação complexa de fatores de risco sociais, comportamentais e relacionados ao estilo de vida.

Entre os fatores sociais, destacam-se o acesso limitado aos cuidados de saúde, condições socioeconômicas desfavoráveis e baixos níveis de educação e conscientização. Comportamentos de risco incluem práticas de higiene inadequadas, atividade sexual e uso de roupas íntimas apertadas. Além disso, estilos de vida caracterizados por hidratação inadequada, dietas insuficientes, uso de produtos de higiene íntima que alteram o pH vaginal e o uso prolongado de cateteres urinários também contribuem para o aumento da incidência de ITUs (Mititelu et al., 2024).

As ITUs estão entre as doenças infecciosas mais prevalentes globalmente, acometendo tanto indivíduos na comunidade quanto em ambientes hospitalares. Essa ampla distribuição evidencia a relevância clínica das ITUs e configura um sério desafio para a saúde pública (Flores-Mireles et al., 2015; Foxman, 2014; Zhou et al., 2023). Estimativas mundiais indicam

que, em 2019, aproximadamente 405 milhões de pessoas foram diagnosticadas com ITU, resultando em cerca de 237 mil mortes atribuídas à infecção (Zeng et al., 2022). No Brasil, entre os anos de 2018 e 2022, mais de 75 mil casos de cistite culminaram em internações hospitalares, com uma taxa de mortalidade de 3,45% entre os pacientes internados (Moura et al., 2024).

As ITUs são as infecções ambulatoriais mais frequentes, acarretando elevados custos médicos (Medina; Castilho-Pino, 2019). Em geral, estima-se que quase metade de todas as mulheres (50 a 60% das mulheres adultas) e 12% dos homens terão uma ITU ao longo de suas vidas. Aproximadamente um quarto dessas mulheres terá uma infecção recorrente dentro de 6 a 12 meses (Brumbaugh; Mobley, 2012; Medina; Castilho-Pino, 2019).

Essas infecções também são responsáveis por aproximadamente 40% de todas as infecções adquiridas em ambiente hospitalar e estão associadas a 50% dos casos de bacteremia, resultando em hospitalizações prolongadas e aumentando as taxas de morbidade e mortalidade dos pacientes (Karam et al., 2019). De fato, as ITUs causam morbidade significativa em lactentes do sexo masculino não circuncidados (em decorrência da colonização do prepúcio), homens idosos e mulheres de todas as idades (Flores-Mireles et al., 2015; Olson; Dudley; Rowe, 2022).

No contexto da etiologia das ITUs, as bactérias são os principais agentes causadores, embora fungos como espécies do gênero *Candida* e alguns vírus também possam ser responsáveis em casos mais raros (Mancuso et al., 2023; Xicohtencatl-Cortes et al., 2022). A bacteriúria assintomática, a cistite, a pielonefrite e a ITU associada ao cateter são predominantemente causadas por bactérias (Flores-Mireles et al., 2015; Foxman, 2014).

Bactérias Gram-negativas provenientes do trato intestinal, particularmente da ordem *Enterobacterales*, são causas comuns de ITUs (Adeolu et al., 2016; Al Lawati; Blair; Larnard, 2023; Bader et al., 2020). Os principais agentes etiológicos de ITUs não complicadas são *Escherichia coli*, pertencente a essa ordem e responsável por 70 a 95% dos casos, e *Staphylococcus saprophyticus*, que causa 5 a 10% dessas infecções. Ocasionalmente, outros membros da ordem *Enterobacterales*, como *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*, também podem ser isolados (Adeolu et al., 2016; Bartoletti et al., 2016; Flores-Mireles et al., 2015).

Embora *E. coli* seja o patógeno mais frequente também em ITUs complicadas, o espectro microbiológico inclui uma variedade de bactérias Gram-negativas, como *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Morganella morganii*, *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*, além de alguns microrganismos Gram-positivos, como *Enterococcus* spp., *Streptococcus*  $\beta$ -

hemolítico do grupo B e *Staphylococcus aureus* (Bartoletti et al., 2016; Flores-Mireles et al., 2015; Tibyangye et al., 2015).

Vale ressaltar que, entre os patótipos de *E. coli* descritos na literatura, a UPEC é o agente causador mais comum de ITUs tanto não complicadas quanto complicadas (Flores-Mireles et al., 2015; Pokharel; Dhakal; Dozois, 2023). Esse patótipo é responsável por 50 a 90% das ITUs não complicadas, que são as infecções bacterianas mais comuns em humanos em diferentes partes do mundo. A UPEC expressa uma multiplicidade de fatores de virulência que permitem à bactéria estabelecer a ITU (Shah et al., 2019).

No tratamento das ITUs, a antibioticoterapia empírica é comumente a primeira abordagem adotada, resultando em milhões de prescrições anuais de antimicrobianos. No entanto, o uso indiscriminado e excessivo desses medicamentos é amplamente reconhecido como um dos principais fatores que impulsionam a disseminação da resistência antimicrobiana (RAM) (Mancuso et al., 2023; Tandogdu; Wagenlehner, 2016). No Brasil, um estudo realizado por Lopes, Motter e Carvalho-Soares (2024) identificou um aumento expressivo no consumo de ANTs entre 2014 e 2019, destacando-se a amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, azitromicina, ciprofloxacina e cefalexina. Dentre esses, apenas a azitromicina não é indicada como opção terapêutica para ITUs, o que reforça a preocupação com o uso inadequado de antimicrobianos. Esse padrão de consumo reflete uma tendência alarmante, com implicações significativas para a saúde pública e impactos econômicos relevantes (Foxman, 2014; Mancuso et al., 2023).

O uso repetitivo de ANTs pode levar ao surgimento de cepas multidrogarresistentes (MDR) e aumentar drasticamente os custos de tratamento, especialmente em pacientes com comorbidades, infecções associadas a cateteres e choque séptico (Kim; Lee, 2023).

Por exemplo, estima-se que o custo econômico das ITUs recorrentes, definidas como dois episódios de cistite bacteriana aguda com sintomas associados nos últimos seis meses ou três episódios no ano anterior, seja de aproximadamente 3,5 bilhões de dólares por ano nos Estados Unidos (Aydin et al., 2015; Flores-Mireles et al., 2015).

Assim, é altamente recomendável a implementação criteriosa de ANTs no tratamento das ITUs, baseando-se nas informações locais de sensibilidade antimicrobiana, no contexto clínico e nos fatores de risco do paciente para desenvolvimento da RAM (Bader et al., 2020).

Embora a antibioticoterapia tenha sido historicamente eficaz no controle dessas infecções, as altas taxas de recorrência e o aumento contínuo da RAM entre bactérias Gram-negativas, especialmente a UPEC, representam uma ameaça significativa à eficácia das opções

terapêuticas disponíveis, tornando as ITUs cada vez mais desafiadoras de tratar (Klein; Hultgren, 2020; Mancuso et al., 2023).

## 2.2 *Escherichia coli* UROPATOGÊNICA (UPEC): ASPECTOS RELEVANTES DO PRINCIPAL AGENTE ETIOLÓGICO DAS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO (ITUs)

As bactérias uropatogênicas são a principal causa das ITUs, sendo a *E. coli* a mais frequentemente isolada. Esses microrganismos inicialmente infectam a região periuretral. Em seguida, colonizam a uretra e migram de forma ascendente para a bexiga. Nesse local, a dinâmica das interações complexas entre o hospedeiro e o microrganismo determinará se os uropatógenos conseguirão colonizar o ambiente ou serão eliminados (Flores-Mireles et al., 2015).

Dados emergentes sugerem que a disbiose — desequilíbrio na composição das comunidades microbianas associadas ao hospedeiro — na região vaginal pode resultar na colonização por *E. coli* e desencadear ITUs recorrentes. Além disso, perturbações no microbioma urinário podem preceder o desenvolvimento de ITUs e outras condições patológicas do sistema urinário (Meštrović et al., 2021; Tiffany; Bäumlner, 2019).

Sob a perspectiva microbiológica, *E. coli* é caracterizada como um bacilo Gram-negativo, fermentador de glicose, anaeróbico facultativo, capaz de reduzir nitrato a nitrito e pertencente à família *Enterobacteriaceae* da ordem *Enterobacterales*. Essa bactéria está amplamente presente no solo, em plantas e no trato intestinal de humanos e animais, sendo também considerada um patógeno oportunista (Adeolu et al., 2016; Procop et al., 2018).

*E. coli* é um dos organismos modelo mais intensivamente estudados na pesquisa em Microbiologia e Biologia Molecular em todo o mundo. Seu impacto variado na saúde humana, que inclui comensalismo (sendo essa bactéria um membro da microbiota intestinal), doenças gastrointestinais e patologias extraintestinais, levou à divisão dessa espécie em dois grupos: *E. coli* patogênica intestinal (InPEC) e *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC). Esses grupos compreendem 11 patotipos diferentes, também conhecidos como patovares ou variedades patogênicas (Geurtsen et al., 2022; Pokharel; Dhakal; Dozois, 2023).

O grupo geneticamente diverso de ExPEC é composto por quatro patotipos: (i) UPEC, principal agente etiológico de ITUs em todo o mundo; (ii) *E. coli* de meningite neonatal (NMEC), uma das principais causas de meningite neonatal; (iii) *E. coli* associada à septicemia (SEPEC), que pode causar bacteremia e sepse; e (iv) *E. coli* patogênica aviária (APEC), que pode causar infecções respiratórias e sistêmicas graves em aves. Cada patotipo é classificado

conforme os mecanismos de infecção, o tropismo tecidual, as interações com as células hospedeiras e os sintomas clínicos, e todos eles apresentam fatores de virulência específicos que promovem sua proliferação e causam doença em locais fora do trato intestinal (Pokharel; Dhakal; Dozois, 2023; Whelan; Lucey; Finn, 2023).

A transmissão de UPEC pode ocorrer por diversas vias, incluindo rotas fecal-oral, consumo de água e alimentos contaminados, contato sexual e falta de higiene íntima (Foxman, 2010). Este patotipo de *E. coli*, que normalmente faz parte da microbiota intestinal, pode desviar-se desse *status* e proliferar no trato urinário. Isso se deve à expressão de uma variedade de fatores de virulência e estratégias que permitem à UPEC escapar das defesas do hospedeiro, levando à infecção e ao desenvolvimento de doenças nesse sítio anatômico, estando consistentemente associada à patogenicidade (Firoozeh et al., 2022).

A plasticidade da UPEC permite a aquisição de diversos atributos bacterianos que facilitam a colonização do epitélio do trato urinário. Os principais fatores de virulência deste patotipo podem ser amplamente classificados em dois grupos: (i) fatores de virulência da superfície celular bacteriana e (ii) fatores de virulência secretados (Firoozeh et al., 2022).

Os fatores de virulência da superfície celular incluem, principalmente, adesinas e fimbrias, que são essenciais para a adesão das bactérias às células hospedeiras. Outros fatores de virulência de superfície incluem o flagelo, a cápsula, as proteínas da membrana externa e o lipopolissacarídeo (Shah et al., 2019).

Ademais, os sideróforos, que são sistemas de captação de ferro, e as toxinas são exemplos de fatores de virulência secretados que desempenham papéis cruciais na patogênese. Além disso, a invasão, a formação de biofilmes e a indução da produção de citocinas são fatores adicionais que contribuem significativamente para a virulência da UPEC (Shah et al., 2019).

De acordo com Terlizzi, Gribaudo e Maffei (2017), a patogênese da UPEC durante as ITUs inclui: (a) a colonização das áreas periuretral e vaginal, seguida pela colonização da uretra; (b) a ascensão para a luz da bexiga e o crescimento como células planctônicas na urina; (c) a adesão à superfície e a interação com o sistema de defesa do epitélio da bexiga; (d) a formação de biofilme; (e) a invasão e replicação, formando comunidades bacterianas intracelulares na bexiga, onde reservatórios intracelulares quiescentes se formam e permanecem no uroepitélio subjacente; e (f) a colonização dos rins e o dano aos tecidos do hospedeiro, o que aumenta o risco de bacteremia e sepse.

Dessa forma, a UPEC é o principal agente etiológico de ITUs em todo o mundo, sendo responsável por cerca de 75% das ITUs não complicadas e 65% das complicadas (Dhakal; Kulesus; Mulvey, 2008; Firoozeh; Zibaei; Khaledi, 2022; Medina; Castillo-Pino, 2019).

Segundo Dhakal, Kulesus e Mulvey (2008), este patotipo é responsável pela maioria das infecções adquiridas na comunidade (até 95%) e por cerca de metade das IRAS. Além disso, a UPEC contribui com mais de 80% das cistites adquiridas na comunidade, mais de 70% das pielonefrites agudas não hospitalares e está associada a 3,6% a 12% das ITUs complicadas com urosepse. A UPEC também é responsável por aproximadamente um terço das ITUs associadas a cateteres (Xicohtencatl-Cortes et al., 2022).

Sob a perspectiva terapêutica, os ANTs têm sido amplamente utilizados no tratamento das ITUs desde a introdução das sulfonamidas na década de 1940, sendo essas infecções uma das principais indicações para o uso desses medicamentos (Zhou et al., 2023). Até o momento, os ANTs continuam sendo a terapia mais recomendada para as ITUs bacterianas. No entanto, apesar de serem uma das indicações mais frequentes, há uma considerável variação nas práticas de tratamento (Zhou et al., 2023; Yassin; Kaye; Bhowmick, 2024). A escolha da terapia adequada para uma ITU, determinada com base nos sintomas do paciente, é influenciada por diversos fatores. Entre eles estão a classificação clínica e a complexidade da infecção (complicada ou não complicada), o patógeno suspeito e o risco de resistência, além de características específicas do paciente, como a gravidade da doença, alergias, custo dos medicamentos e comorbidades (Yassin; Kaye; Bhowmick, 2024).

ANTs frequentemente utilizados no tratamento de ITUs geralmente são eficazes. Contudo, o uso inadequado, excessivo e prolongado desses medicamentos pode resultar em efeitos adversos significativos. A utilização imprópria pode causar desequilíbrios na microbiota vaginal e intestinal, provocar danos ao fígado e aos rins, e favorecer a seleção de variantes uropatogênicas resistentes (Zalewska-Piątek; Piątek, 2019; Zhou et al., 2023).

Nos últimos anos, observou-se um aumento no espectro e na frequência das ITUs causadas por bactérias resistentes a antibióticos. Neste contexto, os elementos genéticos móveis, como transposons, plasmídeos e integrons, desempenham um papel fundamental na transferência horizontal de genes de resistência entre bactérias. *E. coli* pode apresentar resistência intrínseca a alguns ANTs e possui genes que conferem resistência a outros, como aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e beta-lactâmicos (Raeispour; Ranjbar, 2018). O surgimento de resistência aos beta-lactâmicos de amplo espectro, mediada por beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs) e, especialmente, por grupos clonais MDR entre cepas de UPEC, representa uma grave ameaça à saúde pública global (Tabasi et al., 2015).

A gravidade da resistência bacteriana é evidenciada pelos dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), que estimam aproximadamente 4,95 milhões de mortes relacionadas a essa condição em 2019, com a maioria dos casos ocorrendo em países de baixa e média renda

(Global AMR R&D Hub; WHO, 2023). Em 2024, a OMS publicou a segunda lista de patógenos bacterianos prioritários, categorizando-os em grupos de importância crítica, elevada e média para a saúde pública. Esta lista tem o objetivo de orientar a pesquisa, o desenvolvimento e as estratégias para prevenir e controlar a RAM. Entre os patógenos críticos estão *E. coli* resistente a cefalosporinas de terceira geração e/ou aos carbapenêmicos. Bactérias resistentes a ANTs de prioridade crítica são aquelas que representam a maior ameaça à saúde pública devido às opções de tratamento limitadas, alta carga de doença (mortalidade e morbidade) e tendências crescentes em RAM, com poucos ou nenhum candidato promissor em desenvolvimento. Infecções causadas por patógenos na categoria crítica podem ser especialmente difíceis de prevenir e altamente transmissíveis; esses patógenos possuem mecanismos globais de resistência e/ou cepas MDR em determinadas populações ou áreas geográficas (WHO, 2024).

Em resposta as infecções resistentes a medicamentos, os pesquisadores estão ativamente buscando novas substâncias antimicrobianas como potenciais soluções (Hossain, 2024). A descoberta de novos ANTs, capazes de eliminar bactérias resistentes, é crucial para preservar os avanços da medicina moderna e combater eficazmente essas infecções (Chapman, 2020).

Dada a crescente resistência dos uropatógenos aos medicamentos, é necessário explorar alternativas antimicrobianas eficazes. Embora não seja possível erradicar completamente o desenvolvimento da RAM, o uso adequado de ANTs mais eficazes, incluindo os de origem vegetal, pode contribuir para a redução da morbimortalidade e dos custos com cuidados de saúde. Neste contexto, a busca por antimicrobianos de origem vegetal tem sido principalmente estimulada pelo fato de que essa fonte contém múltiplos compostos aos quais os microrganismos não podem desenvolver resistência simultaneamente (Tibyangye et al., 2015).

### 2.3 PRODUTOS NATURAIS COMO FONTE DE MOLÉCULAS PARA A DESCOBERTA E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

Desde as civilizações antigas, as fontes naturais têm sido empregadas pelos seres humanos como recursos essenciais para alimentação, habitação e, principalmente, no tratamento de diversas condições patológicas (Mir et al., 2023). Exemplos notáveis dessa utilização terapêutica incluem o Papiro de Ebers e a Matéria Médica Chinesa, que documentam de maneira detalhada, o uso de PNs — especialmente plantas medicinais — no manejo de uma ampla gama de doenças e distúrbios do organismo humano (Dias; Urban; Roessner, 2012).

O emprego de espécies vegetais no tratamento de enfermidades está intimamente relacionado à presença e produção de compostos derivados de seu metabolismo secundário.

Estes metabólitos, sintetizados por meio de vias biossintéticas específicas, desempenham funções vitais para a sobrevivência das plantas, incluindo defesa contra herbívoros, patógenos, radiação ultravioleta e outros estresses ambientais. Além disso, muitos desses compostos atuam como promotores do crescimento vegetal e como atrativos para a polinização, desempenhando uma série de papéis ecológicos essenciais (Elshafie; Camele; Mohamed, 2023; Erb; Kliebenstein, 2020).

Os metabólitos secundários representam uma ampla gama de compostos que podem ser divididos em três grandes grupos: os terpenos, os compostos nitrogenados e os fenólicos (Elshafie; Camele; Mohamed, 2023; Erb; Kliebenstein, 2020).

Os terpenos compreendem um grupo de mais de 40 mil substâncias de baixa polaridade, presentes especialmente em óleos essenciais, cuja estrutura química básica apresenta um esqueleto formado por moléculas de isopreno ( $C_5H_8$ ). Quando contemplam átomos de oxigênio em sua estrutura, também podem ser chamados de terpenoides. Ademais, de acordo com o tamanho da cadeia carbônica, essa classe pode ser subdividida em hemiterpenos (5 carbonos), monoterpenos (10 carbonos), sesquiterpenos (15 carbonos), diterpenos (20 carbonos), triterpenos (30 carbonos) e tetraterpenos (40 carbonos) (Elshafie; Camele; Mohamed, 2023; Masyita et al., 2022).

Os compostos nitrogenados estão presentes em diversas plantas, amêndoas, frutas e no vinho, perfazendo mais de 12 mil substâncias descritas e subdivididas em alcaloides, glicosinolatos e glicosídeos cianogênicos. São moléculas formadas no metabolismo secundário vegetal a partir de aminoácidos como triptofano, lisina e tirosina. Por esta razão, possuem ao menos um átomo de nitrogênio em sua estrutura química (Elshafie; Camele; Mohamed, 2023; Reshi et al., 2023).

Os compostos fenólicos são substâncias cuja estrutura química básica apresenta um anel aromático ligado a um grupamento hidroxila, organizados na forma de  $C_6-C_3-C_6$  ou  $C_6-C_1$ . Conforme a organização da estrutura, podem ser subdivididos em ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, lignanas e estilbenos. Os mais de 8 mil fenólicos descritos podem ser encontrados em inúmeras fontes, como vegetais, frutas, bagas e no vinho (da Silva et al., 2022; Elshafie; Camele; Mohamed, 2023; Zhang et al., 2022).

Devido à diversidade de moléculas do metabolismo secundário vegetal, quando administradas a organismos humanos ou animais, esses compostos podem demonstrar uma variedade de atividades biológicas benéficas, como propriedades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena, entre outras (da Silva et al., 2022; Elshafie; Camele; Mohamed, 2023; Masyita et al., 2022; Reshi et al., 2023). Neste contexto, são atribuídas

propriedades antibacterianas a terpenos como (+)- $\alpha$ -pineno, (+)- $\beta$ -pineno (da Silva et al., 2012) e linalol (Guo et al., 2021); a compostos nitrogenados como piperina (Murase et al., 2023), queleritrina e sanguinarina (Yan et al., 2021); e a fenólicos como quercetina (Frent et al., 2024; Tan et al., 2022), ácido clorogênico (Chen et al., 2022; Feng et al., 2023; Le et al., 2022) e rutina (Ganeshpurkar; Saluja, 2017).

De fato, os PNs, sejam eles derivados de plantas, organismos marinhos ou microrganismos, são de extremo interesse para a indústria farmacêutica. Inúmeros fármacos utilizados na medicina contemporânea são derivados de PNs (Katz; Baltz, 2016; Newman; Cragg, 2020), como o antibiótico Penicilina, obtido inicialmente de fungos do gênero *Penicillium* (Gaynes, 2017); o analgésico Morfina, obtido do ópio de *Papaver somniferum* (Wicks; Hudlicky; Rinner, 2021); e os antitumorais Vincristina e Vimblastina, obtidos de *Catharanthus roseus* (Taub et al., 2024). Neste contexto, Newman e Cragg (2020) demonstram que cerca de 40% (787/1.881) dos medicamentos aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) e/ou agências similares ao redor do mundo, entre 1981 e 2019, são produtos biológicos, naturais ou derivados de origem natural.

Sob a ótica do tratamento de processos infecciosos, conforme dito anteriormente, os derivados de PNs são valiosas fontes de compostos para os quais os microrganismos não conseguem desenvolver resistência simultaneamente (Tibyangye et al., 2015). Por esta razão, estudos envolvendo a avaliação da atividade antimicrobiana de extratos, frações e outros derivados de plantas tornam-se cada vez mais comuns e promissores (da Costa et al., 2023; Fernandes et al., 2021; Gitirana de Santana et al., 2023; Mayorga et al., 2019). Corroborando essas informações, Newman e Cragg (2020) também demonstram que dos 162 fármacos aprovados para o tratamento antibacteriano nas últimas quatro décadas, 93 (57,4%) são derivados de origem natural, PNs ou biológicos. Esta lista compreende antibióticos como Teicoplanina, Daptomicina e Mupirocina (Newman; Cragg, 2020).

Neste cenário, o Brasil se destaca por ser detentor da maior diversidade biológica do planeta, com cerca de 45 mil espécies vegetais (Dutra et al., 2016), apresentando amplo potencial para a pesquisa e aplicação nas mais diversas áreas. Associado a isso, a influência de diversas culturas, como a indígena, africana e europeia, proporcionou forte conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais, sendo transmitido através das gerações (Rocha et al., 2021). Desta forma, o Brasil mostra-se como um local propício para a pesquisa e descoberta de novas moléculas e o desenvolvimento de novos fármacos a partir de PNs.

## 2.4 CONTEXTUALIZAÇÃO DA ESPÉCIE VEGETAL DO ESTUDO

*V. polyanthes* Less. (Asteraceae Bercht. & J. Presl), popularmente conhecida como assa-peixe, assa-peixe-branco, cambará, cambará-guaçu, tramanhém, entre outros, é uma espécie silvestre e nativa do Brasil, sendo encontrada nas regiões de Mata Atlântica e Cerrado. Geograficamente está presente nos estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo (Alves; Neves, 2003; Brasil, 2014; Grandi, 2014; Lorenzi; Matos, 2008).

As espécies do gênero *Vernonia* possuem uma classificação taxonômica complexa e ainda não completamente elucidada, o que proporcionou algumas reclassificações ao longo dos anos (Almeida et al., 2021; Martucci et al., 2014). Por esta razão, alguns autores aceitam que *V. polyanthes* Less. é sinônimo de *Eupatorium polyanthes* Spreng, *Vernonia patens* Less., *Vernonanthura patens* (Kunth) H. Rob., *Vernonia polyanthes* var. *polyanthes*, *Vernonia corcovadensis* Gardner, *Vernonia psittacorum* DC, *Vernonia brasiliensis* Mart. ex DC, *Chrysocoma arborea* Vell., *Chrysocoma phosphorica* Vell., *Cacalia polyanthes* (Less.) Kuntze e *Vernonanthura phosphorica* (Vell.) H. Rob (Brasil, 2014; Grandi, 2014; Martucci et al., 2014; WFO, 2024).

Botanicamente, *V. polyanthes* apresenta-se como um arbusto ou árvore de pequeno porte, altamente ramificado e com tamanho entre um e três metros de altura, conforme ilustrado na Figura 1. Suas folhas são curto-pecioladas, medindo aproximadamente 3 cm de largura e 13 cm de comprimento, lanceoladas, de base estreita, ápice agudo e com bordas serrilhadas. A face superior das folhas é áspera e com pontos rugosos. A face inferior pode ocorrer de forma pubescente, em lugares úmidos e abertos, ou glabra, nas matas (Alves; Neves; 2003; Grandi, 2014).

Figura 1 - Fotografia do espécime botânico de *Vernonia polyanthes* cultivada no Horto Medicinal da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Suas inflorescências são brancas ou rosadas, dispostas em panícula escorpioide ampla presente no ápice dos ramos, de capítulos pequenos contendo de 10 a 15 flores reunidas, não possui brácteas e são curtamente pedunculadas (Figura 2). Suas flores são consideradas como boa fonte de pólen e néctar para a produção de mel pelas abelhas. Ademais, possui um involúcro duro, quase glabro, lanceolado, obtuso, imbricado, campanulado e escamoso. Seu fruto é aquênio, pálido, denso, glabro e glanduloso (Alves; Neves; 2003; Grandi, 2014).

Figura 2 - Fotografia das flores de *Vernonia polyanthes*



Fonte: Fernandes (2019).

Na medicinal tradicional e complementar, esta espécie vegetal é utilizada para o tratamento de distúrbios do trato respiratório, como gripes, resfriados, pneumonias, bronquites e tosse. Além disso, possui propriedades antimicobacteriana, cicatrizante, tônica, emenagoga, hipotensiva, diurética, excitante e carminativa. Essa planta medicinal também é utilizada em casos de febre, malária, reumatismo, problemas renais, feridas, fraturas, contusões, luxações, dores musculares e processos inflamatórios, com descrição na literatura científica de sua utilização há mais de 40 anos (Alves; Neves, 2003; Braga, 1976; Brasil, 2014; Grandi, 2014; Kiplimo, 2016; Lorenzi; Matos, 2008; Oliveira et al., 2007). Por estas razões, encontra-se inserida no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2011) e na 70ª posição da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) (Brasil, 2009). Os principais relatos presentes na literatura científica sobre as atividades biológicas de *V. polyanthes* são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Principais atividades biológicas descritas na literatura científica para *Vernonia polyanthes*

Atividade biológica	Parte da planta utilizada	Tipo de extrato produzido	Nível de comprovação científica	Descrição da atividade	Referência
Antibacteriana	Folhas	Lavado foliar com diclorometano	Experimental	Atividade contra <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538 e 29213), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536 e 25922), <i>Salmonella enterica</i> subsp <i>enterica</i> serovar Choleraesuis (ATCC 10708), <i>Salmonella enterica</i> subsp <i>enterica</i> serovar Typhimurium (ATCC 13311) e MRSA (1485279, 1605677, 1664534, 1688441, 1830406)	Gitirana de Santana et al., 2023
	Folhas	Extrato hidroalcolico	Experimental	Atividade contra <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 11778), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739), <i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 25933), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538), <i>Salmonella</i> Typhimurium (ATCC 14028) e <i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC 19615)	Jorgetto et al., 2011
	Sem descrição	Extrato metanólico e óleo essencial	Experimental	Ativo contra <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>	Silva et al., 2012

Tabela 1 (Continuação) - Principais atividades biológicas descritas na literatura científica para *Vernonia polyanthes*

<b>Atividade biológica</b>	<b>Parte da planta utilizada</b>	<b>Tipo de extrato produzido</b>	<b>Nível de comprovação científica</b>	<b>Descrição da atividade</b>	<b>Referência</b>
Antibacteriana	Flores	Fração em acetato de etila dos extratos etanólico e aquoso	Experimental	Atividade contra <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 27853)	Waltrich, Hoscheid, Prochnau, 2015
Antifúngica	Folhas	Extrato aquoso	Experimental	Inativo contra <i>Candida albicans</i> (ATCC 28367) e <i>Candida parapsilosis</i> (ATCC 22019)	Guerra-Santos et al., 2016
Antigenotóxica	Folhas	Extrato aquoso	Experimental	Não apresentou potencial mutagênico em células somáticas de <i>Drosophila melanogaster</i> , mas aumentou a genotoxicidade da doxorrubicina	Guerra-Santos et al., 2016
Anti-hipertensiva	Folha	Extrato hidroalcolólico	Experimental	Redução da pressão arterial e aumento na taxa de filtração glomerular <i>in vivo</i>	da Silveira et al., 2003
Anti-inflamatória	Ramos	Extrato etanólico e fração em acetato de etila	Experimental	Ação tópica pela redução do edema de orelha induzido por óleo de cróton, indometacina e fenol em modelo <i>in vivo</i>	Minateli et al., 2017

Tabela 1 (Continuação) - Principais atividades biológicas descritas na literatura científica para *Vernonia polyanthes*

<b>Atividade biológica</b>	<b>Parte da planta utilizada</b>	<b>Tipo de extrato produzido</b>	<b>Nível de comprovação científica</b>	<b>Descrição da atividade</b>	<b>Referência</b>
Anti-inflamatória	Folhas	Extrato etanólico	Experimental	Efeito anti-inflamatório <i>in vivo</i>	Temponi et al., 2012
Antimicobacteriana	Raízes	Extrato hidroalcolólico	Experimental	Atividade contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> cepa H37Rv (ATCC 27294)	Oliveira et al., 2007
Antinociceptiva	Folhas	Extrato etanólico	Experimental	Efeito antinociceptivo <i>in vivo</i>	Temponi et al., 2012
Antitumoral	Sem informação	Extratos hexânico, em acetato de etila e etanólico	Experimental	Inibição da proliferação de células tumorais das linhagens celulares HTC-11, OVCAR8 e SF-295	de Carvalho et al., 2013
Antiulcerogênica	Partes aéreas	Extratos metanólico e clorofórmico	Experimental	Efeito gastroprotetor dose dependente ( <i>in vivo</i> ) contra lesões gástricas induzidas por etanol e piroxicam	Barbastefano et al., 2007
Bronquite	Folhas e raízes	Sem informação	Uso popular	Sem informação	Braga et al., 2007
Distúrbios gastrointestinais	Sem informação	Sem informação	Uso popular	Sem informação	Braga, 1976

Tabela 1 (Continuação) - Principais atividades biológicas descritas na literatura científica para *Vernonia polyanthes*

Atividade biológica	Parte da planta utilizada	Tipo de extrato produzido	Nível de comprovação científica	Descrição da atividade	Referência
Leishmanicida	Folhas	Extrato metanólico	Experimental	Atividade contra <i>Leishmania amazonenses</i> (CI <sub>50</sub> = 4 µg/mL)	Braga et al., 2007
	Folhas	Óleo essencial	Experimental	Atividade contra <i>Leishmania infantum</i> (CI <sub>50</sub> = 19,4 µg/mL)	Moreira et al., 2017
Reumatismo	Folhas e raízes	Sem informação	Uso popular	Sem informação	Braga et al., 2007
Tosse	Folhas e raízes	Sem informação	Uso popular	Sem informação	Braga et al., 2007

MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina; CI<sub>50</sub>: concentração inibitória 50%.

Fonte: Adaptado de Fernandes (2019).

Sob a ótica fitoquímica, Grandi (2014) descreve que *V. polyanthes* possui flavonoides, alcaloides, glicosídeos, lactonas sesquiterpênicas, além de óleos essenciais e o fenilpropanoide dilapiol. Corroborando essas informações, estudos relacionados à caracterização química dessa espécie vegetal, como os de Martucci et al. (2014) descrevem a presença de derivados do ácido cafeoilquínico, eriodictiol-glicuronil, luteolina-7-*O*-glicuronil, isoquercetrina, apigenina-7-*O*-glicuronil, crisoeriol-7-*O*-glicuronil, acacetina-7-*O*-glicuronil, glaucolídeo A, piptocarфинаA, piptocarфина B e 3',4'-dimetoxiluteolina. Da mesma forma, Igual et al. (2013) demonstraram a ocorrência de isoramnetina, 3,7-dimetoxi-5,3',4'-trihidroxi-flavona, piptocarфина A, glaucolídeo A, 3',4'-dimetoxiluteolina, apigenina, quercetina, luteolina, quercetina-3-*O*- $\beta$ -glicosídeo e dos ácidos protocatecuico, 3,5-di-*O*-(*E*)-cafeoilquínico e 4,5-di-*O*-(*E*)-cafeoilquínico.

Conforme previamente mencionado, desde 2010, nosso grupo de pesquisa tem explorado extratos, frações e compostos obtidos de flores, folhas e ramos de *V. polyanthes*, bem como substâncias adquiridas comercialmente que estão presentes nessa espécie vegetal, para investigar suas propriedades biológicas e/ou farmacológicas. Esses estudos abrangem atividades anti-inflamatória sistêmica (Temponi et al., 2012) e tópica (Minateli et al., 2017; Rodrigues et al., 2016), antinociceptiva (Temponi et al., 2012), cicatrizante (Sousa et al., 2016), antioxidante (Minateli et al., 2017) e antibacteriana (Gitirana de Santana et al., 2023).

Embora existam relatos na literatura sobre algumas atividades biológicas e farmacológicas de extratos de *V. polyanthes*, conforme demonstrado, a comprovação científica de sua atividade antibacteriana ainda carece de sustentação robusta. Desta forma, o campo permanece em aberto para que novas pesquisas sejam realizadas visando corroborar seu uso popular, bem como propor novas aplicações, como, por exemplo, sua utilização para o tratamento de ITUs.

### 3 OBJETIVOS

---

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar a atividade antibacteriana de extratos etanólicos de folhas de *V. polyanthes* frente a cepas de *E. coli* de referência e clínicas uropatogênicas, além de caracterizar quimicamente esses extratos e avaliar sua atividade antioxidante, visando fornecer subsídio científico para o uso dessa planta medicinal no tratamento de ITUs.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Seguem os objetivos específicos com base na proposta geral acima mencionada:

- a) Obter os extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) das folhas de *V. polyanthes*;
- b) Caracterizar quimicamente os extratos por meio de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD);
- c) Determinar os teores de fenóis e flavonoides totais dos extratos;
- d) Avaliar a atividade antioxidante dos extratos por meio do método de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH);
- e) Avaliar a atividade antibacteriana dos extratos através da determinação das concentrações inibitória mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM) e da classificação do efeito antibacteriano.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

---

### 4.1 MATERIAL VEGETAL

Em conformidade com a Lei nº 13.123/2015 (Brasil, 2015) e seus regulamentos, a atividade de acesso ao patrimônio genético das folhas de *V. polyanthes* foi devidamente registrada na plataforma do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob o número de cadastro AB6A4DD.

As folhas desta planta foram coletadas do espécime botânico cultivado no Horto Medicinal da FF da UFJF, localizado a 21°46' S e 43°22' W, entre 08:00 e 09:30 horas, do dia 28 de outubro de 2022.

Adicionalmente, uma exsicata encontra-se depositada no Herbário Leopoldo Krieger (CESJ), pertencente ao Instituto de Ciências Biológicas da UFJF, sob registro CESJ nº 10.329. A identificação taxonômica mais recente e aceita pela literatura científica internacional de *V. polyanthes* Less. foi confirmada no portal eletrônico *World Flora Online* (WFO, 2024), sendo sinônimo de *Eupatorium polyanthes* Spreng e *Vernonia polyanthes* var. *polyanthes*.

### 4.2 PREPARO DO MATERIAL VEGETAL E PROCESSO DE EXTRAÇÃO

As folhas de *V. polyanthes* coletadas foram submetidas a um rigoroso processo de seleção, no qual foram descartadas aquelas que apresentavam sinais de deterioração ou estavam contaminadas por materiais estranhos. As folhas íntegras foram então secas em estufa com ventilação forçada a 30 °C até que perdessem de 90 a 95% de sua umidade, conforme descrito por Simões et al. (2004) e ilustrado na Figura 3. O processo de secagem é uma etapa crucial após a coleta do material vegetal, pois reduz a atividade de água, dificultando o crescimento de fungos e bactérias, e previne a degradação de metabólitos por ação de enzimas hidrolíticas, conforme relatado por Corrêa et al. (2004).

Figura 3 - Fotografia das folhas de *Vernonia polyanthes* selecionadas após o processo de secagem



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

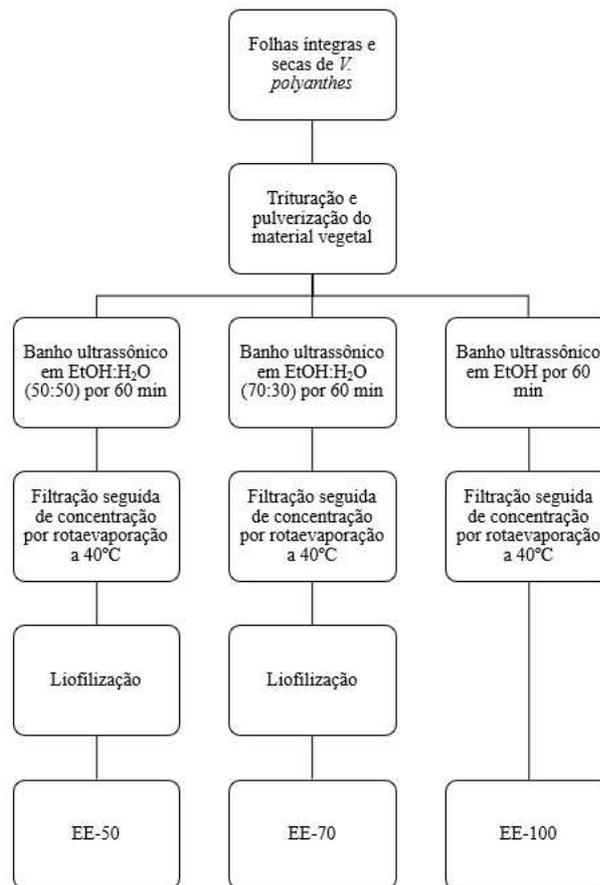
O material vegetal seco foi inicialmente triturado em moinho de facas industrial e, em seguida, pulverizado em tamis (nº 20). A partir desse material pulverizado, procedeu-se à extração em banho ultrassônico por 60 minutos, à temperatura ambiente ( $\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), utilizando etanol nas graduações de 50%, 70% e 100%, na proporção de 1:10 (massa de material vegetal/volume de solvente extrator [ $m/v$ ]). Após a extração, o processo seguiu com filtração em papel de filtro simples de  $11\text{ }\mu\text{m}$  e a concentração do extrato em evaporador rotativo a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  para remoção do solvente orgânico. A etapa final consistiu na liofilização para remoção do solvente aquoso.

Para a preparação dos extratos etanólicos 50%, 70% e 100%, os seguintes procedimentos foram adotados:

- Extrato etanólico 50% (EE-50): 50,02 g de material vegetal foram macerados com 500 mL de solução extratora composta por etanol e água (EtOH:H<sub>2</sub>O) na proporção 50:50 (v/v).
- Extrato etanólico 70% (EE-70): 50,07 g de material vegetal foram macerados com 500 mL de solução extratora de EtOH:H<sub>2</sub>O na proporção 70:30 (v/v).
- Extrato etanólico 100% (EE-100): 50,14 g de material vegetal foram macerados com 500 mL de EtOH P.A.

As etapas detalhadas para a obtenção dos extratos EE-50, EE-70 e EE-100 estão ilustradas na Figura 4.

Figura 4 - Esquema ilustrativo do processo de extração e obtenção dos extratos etanólicos de folhas de *Vernonia polyanthes*



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

#### 4.3.1 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD)

Inicialmente, a caracterização química de EE-50, EE-70 e EE-100 foi realizada por CLAE-DAD, utilizando um cromatógrafo Agilent® Technologies 1200 Series com injetor automático e detector de arranjo de diodos G1315B. Aproximadamente 0,2 mg das amostras foram solubilizados em 100 µL de água previamente acidificada com ácido fosfórico e 1.900 µL de acetonitrila. Para aumento da solubilidade, os extratos foram colocados em banho

ultrassônico aquecido a 30 °C por 30 minutos. Posteriormente, as soluções foram filtradas em filtro politetrafluoretileno (PTFE) de 0,45 µm (Agilent®, Santa Clara, Califórnia, EUA) com auxílio de uma seringa de vidro e transferidas para seus respectivos *vials*. Na CLAE, foi empregada uma coluna de fase reversa (Sun Fire C<sub>18</sub>; 4,6 x 250 mm; 5 µm), junto com duas pré-colunas [(1): Sun Fire C<sub>18</sub>; 4,6 x 20 mm; 5 µm; (2): SunFire C<sub>18</sub> 10 x 20 mm, 5 µm]. A análise de dados foi realizada por meio do *Software Empower 3*. O volume de injeção foi de 20 µL e a taxa de fluxo foi mantida constante a 1 mL/min, com uma concentração de amostra de 0,2 mg/mL. A detecção ocorreu na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) e foi ajustada aos comprimentos de onda de 210, 230, 254, 280 e 330 nm e os espectros de UV-Vis foram obtidos por varredura na faixa de 190 a 400 nm.

A presença de diferentes classes de metabólitos secundários foi inferida com base nos espectros de absorção na região UV obtidos por CLAE-DAD, sendo comparados com dados da literatura. As condições experimentais da cromatografia estão detalhadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Condições cromatográficas para as análises dos extratos etanólicos de folhas de *Vernonia polyanthes*

Tempo (minuto)	ACN (%)	H <sub>2</sub> O (%)
0	5	95
3	15	85
30	70	30

ACN: Acetonitrila; H<sub>2</sub>O: Água.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

#### 4.3.2 Determinação do teor de fenóis totais

O conteúdo de fenóis totais nas amostras (EE-50, EE-70 e EE-100) foi determinado pelo método de Folin e Ciocalteu (1927), com algumas modificações. Em placas de microtitulação de 96 poços, foram adicionados 120 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (20% [v/v] em água destilada), 30 µL das amostras (1 mg/mL em etanol e água [95:5 (v/v)]) e 100 µL de solução de carbonato de sódio (4% [m/v] em água destilada). Poços contendo os mesmos volumes dos reagentes e etanol foram preparados como branco do teste. Uma curva analítica do padrão de ácido tânico foi construída nas mesmas condições das amostras, com concentrações variando de 0,9 a 60 µg/mL. Todas as determinações foram realizadas em triplicata. Após 30 minutos em repouso, ao abrigo da luz, a absorbância foi medida em leitor automático de placas de

microtitulação (Thermo Fisher, Massachusetts, EUA) a 750 nm. Os resultados foram expressos em mg/g de amostra equivalentes ao ácido tânico (EAT)  $\pm$  desvio padrão, utilizando regressão linear no Excel.

### 4.3.3 Determinação do teor de flavonoides

Para a determinação do teor de flavonoides nas amostras EE-50, EE-70 e EE-100, foi utilizado o método de complexação com cloreto de alumínio, com algumas adaptações (Challice; Markham, 1984). Em placas de microtitulação de 96 poços, foram adicionados 40  $\mu$ L das amostras (2 mg/mL em metanol e água [95:5 (v/v)]), 40  $\mu$ L de cloreto de alumínio (2% em metanol e ácido acético glacial [95:5 (v/v)]) e 120  $\mu$ L de metanol. Para o branco do teste, foram utilizados os mesmos reagentes e volumes, com exceção das amostras, que foram substituídas por 40  $\mu$ L de metanol. Uma curva padrão de quercetina foi confeccionada nas mesmas condições, com concentrações variando de 0,25 a 100  $\mu$ g/mL. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Após 30 minutos em repouso, ao abrigo da luz, a absorbância foi medida em leitor automático de placas de microtitulação (Thermo Fisher, Massachusetts, EUA) a 415 nm. Os resultados foram expressos em mg/g de amostra equivalentes à quercetina (EQ)  $\pm$  desvio padrão, utilizando regressão linear no Excel.

## 4.4 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DOS EXTRATOS DE *Vernonia polyanthes*

### 4.4.1 Método do sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)

O método de sequestro do radical livre DPPH é amplamente utilizado na literatura científica por sua simplicidade, rapidez de execução e baixo custo operacional. Trata-se uma técnica de triagem eficaz para avaliar a capacidade antioxidante de substâncias, seja por meio do sequestro direto do radical livre DPPH ou pela doação de átomos hidrogênio pelas amostras analisadas (Baliyan et al., 2022). Com base neste método, a atividade antioxidante dos extratos (EE-50, EE-70 e EE-100) foi determinada por meio do ensaio de redução do radical DPPH, conforme o protocolo descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Para a execução do ensaio, as amostras foram solubilizadas em etanol e água (95:5 [v/v]), obtendo-se uma solução estoque (SE) a 2 mg/mL. Alíquotas da SE das amostras foram retiradas e utilizadas no

preparo de nove soluções com concentrações variando de 0,98 a 250 µg/mL. A quercetina foi utilizada como substância de referência, nas mesmas condições e concentrações das amostras. Aliquotas de 100 µL de cada solução preparada foram transferidas para uma placa de microtitulação de 96 poços. Foi preparado um branco do teste contendo todos os reagentes, com exceção das amostras, que foram substituídas por etanol. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de DPPH (20 µg/mL em etanol) a cada poço. A absorbância foi medida a 517 nm utilizando um leitor automático de placas de microtitulação (Thermo Fisher, Massachusetts, EUA). O procedimento foi realizado em triplicata. A atividade antioxidante foi expressa como o percentual de inibição do radical DPPH, calculado a partir das absorbâncias da amostra ( $A_a$ ) e do branco do teste ( $A_b$ ), de acordo com a Equação 1.

Equação 1 - Fórmula para o cálculo do percentual de inibição do radical livre DPPH

$$\% \text{ de inibição das amostras} = \left( \frac{A_a - A_b}{A_b} \right) \times 100$$

#### 4.5 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DOS EXTRATOS DE *Vernonia polyanthes*

O potencial antibacteriano *in vitro* dos extratos EE-50, EE-70 e EE-100 foi avaliado pela determinação da CIM pelo método de microdiluição em caldo, conforme as diretrizes estabelecidas pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) no documento M07-A10 (CLSI, 2015). Posteriormente, foi determinada a CBM e o efeito antibacteriano foi classificado como bactericida ou bacteriostático, conforme os critérios descritos por Andrews (2001), com pequenas adaptações ao protocolo.

##### 4.5.1 Cepas bacterianas e condições de cultura

Este estudo utilizou oito cepas clínicas de *E. coli* isoladas de amostras de urina de pacientes com diagnóstico de ITU, atendidos no ambulatório do Hospital Universitário Antônio Pedro da Universidade Federal Fluminense (UFF). Estas cepas fazem parte da coleção bacteriana de um projeto de pesquisa intitulado "Caracterização fenotípica e molecular de bactérias Gram-negativas de importância médica com perfis de multirresistência aos antimicrobianos, isoladas no Hospital Universitário Antônio Pedro", coordenado pelo Prof. Dr.

Thiago Pavoni Gomes Chagas, e recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Medicina da UFF, em Niterói, conforme o parecer do Comitê de Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) 95984018.6.0000.5243, com o número de parecer 6646100. O estudo não envolveu riscos para os participantes, e suas identidades foram preservadas. As cepas foram inicialmente identificadas pelo sistema automatizado Phoenix™ BD e tiveram suas identificações confirmadas como UPEC por MALDI-TOF/MS (do inglês *matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight*). As cepas clínicas selecionadas encontravam-se na terceira passagem e tiveram sua identificação detalhada na Tabela 3.

Tabela 3 - Cepas clínicas de *Escherichia coli* uropatogênica selecionadas para o estudo

<b>Cepa bacteriana</b>	<b>Perfil de sensibilidade</b>
354	<b>R:</b> AMP, SXT
355	<b>R:</b> AMP, CFZ, FEP, CAZ, CRO, CIP, LEV, AMC, CXM; <b>I:</b> FOX
359	<b>R:</b> AMP, SXT
363	<b>R:</b> SXT
368	<b>R:</b> CIP, LEV, SXT
399	<b>R:</b> AMP, CFZ, CIP, GEN, LEV, SXT; <b>I:</b> FOX, SAM
422	<b>R:</b> AMP
423	Sensível a todos os antibióticos testados*

I: Sensível aumentando a exposição; R: Resistente; AMC: Amoxicilina/ácido clavulânico; AMP: Ampicilina; CAZ: Ceftazidima; CFZ: Cefazolina; CIP: Ciprofloxacina; CRO: Ceftriaxona; CXM: Cefuroxima; FEP: Cefepima; FOX: Cefoxitina; GEN: Gentamicina; LEV: Levofloxacina; SAM: Ampicilina/sulbactam; SXT: Sulfametoxazol/trimetoprim; \*: cepa não apresenta perfil de resistência, sendo, portanto, sensível a todos os antibióticos testados.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Com o objetivo de assegurar a qualidade dos ensaios microbiológicos realizados, foram utilizadas duas cepas de referência da *American Type Culture Collection* (ATCC). As cepas de *E. coli* (ATCC 10536 e ATCC 25922) foram obtidas previamente do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil. Essas cepas também se encontravam na terceira passagem.

As matrizes bacterianas foram armazenadas em freezer como suspensões em uma solução composta por TSB (do inglês *Tryptic Soy Broth*) acrescido de 10% (v/v) de glicerol.

Para a preparação de cada matriz, as cepas bacterianas foram cultivadas em meio de cultura sólido por 24 horas, a  $37 \pm 2$  °C, em condições aeróbicas. Após o cultivo, UFCs foram transferidas para tubos plásticos com tampa de rosca, apropriados para congelamento (Inlab, São Paulo, Brasil), contendo 1,0 mL da solução de armazenamento, formando uma suspensão densa. Os tubos foram então armazenados a -80 °C até a realização dos ensaios microbiológicos.

#### 4.5.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da CIM de EE-50, EE-70 e EE-100 foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, conforme os procedimentos descritos no documento M07-A10 do CLSI (CLSI, 2015). As SEs dos extratos e ANTs foram preparadas nas concentrações de 10 mg/mL e 1 mg/mL, respectivamente. Os solventes e diluentes utilizados para o preparo das SEs dos ANTs seguiram as orientações do documento M100-S30 (CLSI, 2020).

Os extratos foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO), respeitando o limite máximo de 1% de DMSO no primeiro poço da placa de microtitulação, conforme as recomendações estabelecidas no documento M100-S30 (CLSI, 2020). De acordo com Langfield et al. (2004), as SEs não devem ultrapassar 5% de DMSO antes da diluição, de modo que as concentrações finais desse diluente nos poços permaneçam, geralmente, abaixo de 1%. Além disso, Tween 80 foi adicionado ao sistema como agente emulsificante visando a melhora da solubilidade das amostras (Mazur et al., 2015), conforme detalhado na Tabela 4. Após o preparo, as SEs dos extratos foram submetidas à banho ultrassônico (Limp Sonic, São Paulo, Brasil) por 60 minutos, sem aquecimento.

Tabela 4 - Composição das soluções-estoque (SEs) dos extratos de *Vernonia polyanthes* utilizadas na determinação da Concentração Inibitória Mínima por meio do método de microdiluição em caldo

Amostra	Massa (mg)	Solvente	Diluente	Concentração Final SE (mg/mL)
EE-50; EE-70 e EE-100	10	20 µL DMSO + 20 µL Tween 80 + 100 µL EtOH	860 µL H <sub>2</sub> O <sub>d</sub>	10

EE-50: extrato etanólico 50%; EE-70: extrato etanólico 70%; EE-100: extrato etanólico 100%; DMSO: dimetilsulfóxido; EtOH: álcool etílico absoluto 99,8% P.A.; H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>: água destilada estéril.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

A Ampicilina (AMP) e a levofloxacina (LEV) foram selecionadas como ANTs de controle devido aos diferentes mecanismos de ação e à sua inclusão como ANTs a serem testados em laboratórios clínicos para isolados de *E. coli* (CLSI, 2020). As SEs dos ANTs foram preparadas utilizando os sistemas de solvente/diluyente recomendados pelo documento M100-S30 (CLSI, 2020), conforme descrito anteriormente, com as respectivas composições apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Composição das soluções-estoque (SEs) dos antibióticos (ANTs) utilizadas na determinação da Concentração Inibitória Mínima por meio do método de microdiluição em caldo

ANTs	Massa (mg)	Solvente	Diluyente	Concentração Final SE (mg/mL)
AMP	1,0	50 µL Tampão fostato 0,1 M pH 8,0	950 µL Tampão fostato 0,1 M pH 6,0	1,0
LEV	1,0	50 µL NaOH 0,1 M	950 µL H <sub>2</sub> O <sub>d</sub>	1,0

AMP: ampicilina; LEV: levofloxacina; NaOH: hidróxido de sódio; H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>: água destilada estéril.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

As cepas bacterianas foram inicialmente descongeladas e aclimatadas à temperatura ambiente (~ 25 °C). Em seguida, 10 µL da suspensão bacteriana das matrizes foram inoculados em placas de Petri contendo Ágar Müeller-Hinton (AMH), utilizando uma alça bacteriológica calibrada de 10 µL, estéril e descartável. As placas foram incubadas por 18 a 24 horas, em estufa bacteriológica, em condições aeróbicas a  $37 \pm 2$  °C.

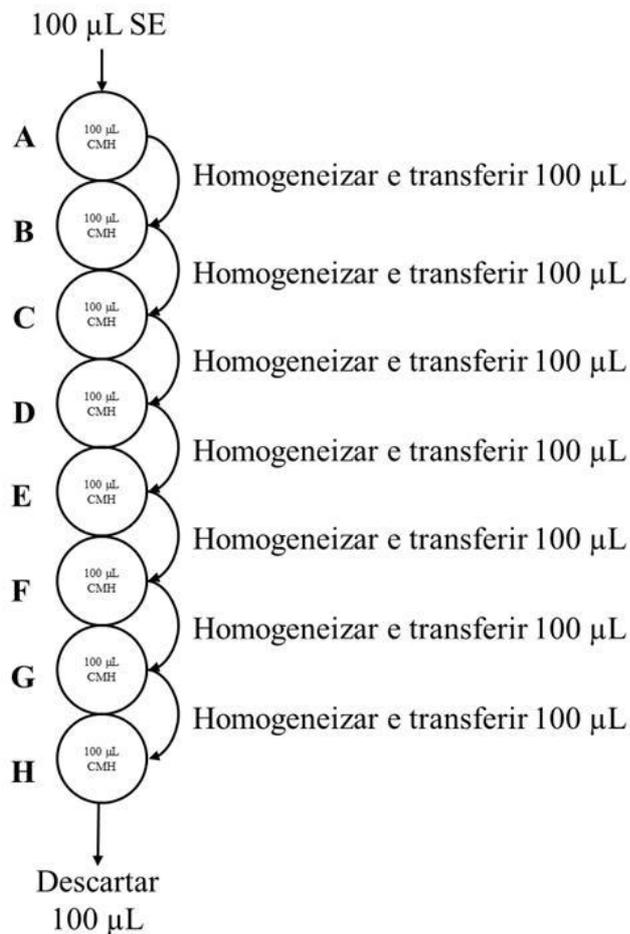
Para o preparo das suspensões bacterianas, 3 a 5 UFCs foram retiradas das placas de AMH e transferidas para um tubo de ensaio contendo solução salina estéril (NaCl 0,9% [*p/v*]). As suspensões bacterianas foram então ajustadas de acordo com a escala 0,5 de McFarland. A padronização foi realizada pela aferição da densidade óptica (DO) do inóculo bacteriano em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 625 nm. Valores de DO entre 0,08 e 0,13 são equivalentes à escala 0,5 de McFarland, conforme especificado pelo CLSI (2015).

Os ensaios para a determinação da CIM foram conduzidos em placas de microtitulação de 96 poços de fundo chato, utilizando duas placas para cada cepa bacteriana. As diluições seriadas dos extratos e ANTs foram preparadas diretamente nas placas de microtitulação. Inicialmente, 100 µL de caldo Müeller-Hinton (CMH) foram adicionados aos poços das placas. Em seguida, 100 µL das SEs das amostras ou ANTs foram adicionados aos poços da fileira A.

Após a homogeneização, 100  $\mu\text{L}$  da fileira A foram transferidos para a fileira B e esse processo foi repetido até a fileira H. Dos poços da fileira H foram descartados 100  $\mu\text{L}$ , mantendo-se o mesmo volume restante, conforme ilustrado na Figura 5. Dessa maneira, obteve-se um gradiente de concentração variando de 40 a 5.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para os extratos e de 4 a 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para os ANTs.

Após a realização das diluições seriadas, foram inoculados 10  $\mu\text{L}$  da suspensão bacteriana previamente padronizada em todos os poços, exceto naqueles destinados ao controle de interferência das amostras e solventes/diluentes sobre o meio, bem como no controle negativo, onde foram adicionados 10  $\mu\text{L}$  de solução salina estéril 0,9%. Os ensaios foram realizados em quadruplicata para as amostras e em triplicata para os ANTs.

Figura 5 - Representação esquemática do procedimento de diluição seriada em placa de microtitulação para determinação da Concentração Inibitória Mínima

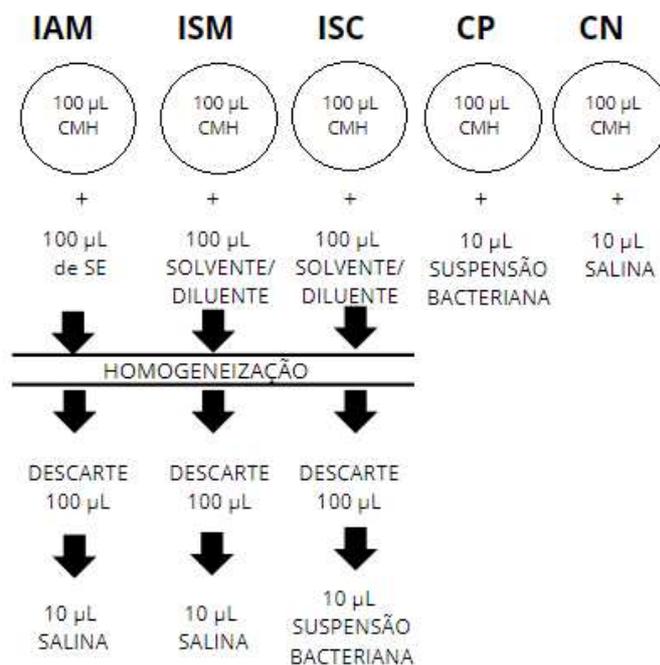


SE: solução-estoque; CMH: caldo Müller-Hinton.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Para validar o teste, foram avaliadas as possíveis interferências dos extratos e dos ANTs sobre o meio de cultura (IAM), a interferência dos sistemas de solvente/diluyente sobre o meio de cultura (ISM), bem como o efeito desses fatores sobre o crescimento bacteriano (ISC). Adicionalmente, foram incluídos os controles positivo (CP) e negativo (CN), conforme ilustrado na Figura 6.

Figura 6 - Esquema representativo dos controles utilizados no método de microdiluição em caldo

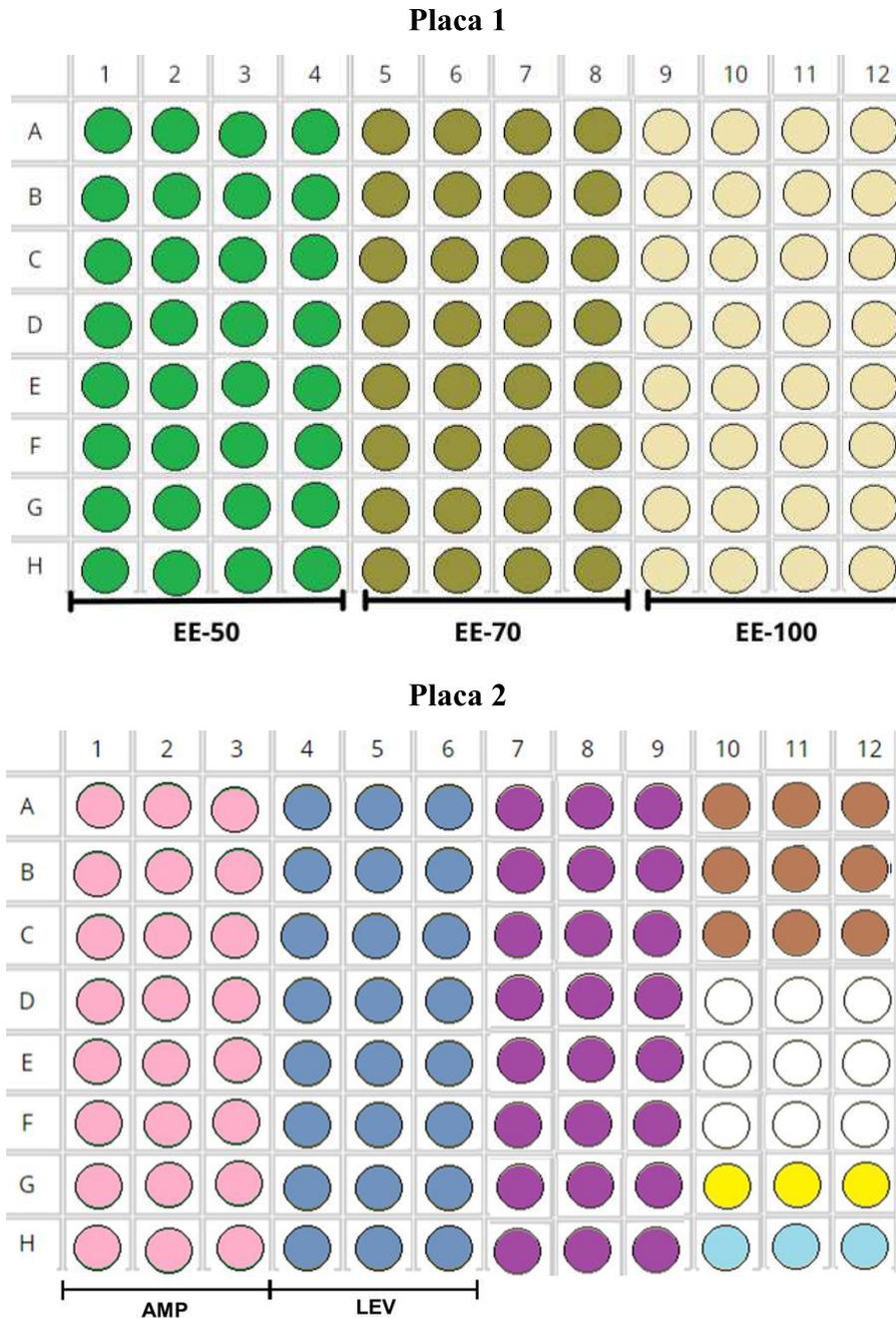


IAM: interferência da amostra sobre o meio; ISM: interferência do sistema de solvente/diluyente sobre o meio; ISC: interferência do sistema de solvente/diluyente sobre o crescimento bacteriano; CP: controle positivo; CN: controle negativo; SE: solução-estoque; CMH: caldo Müeller-Hinton.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

O ensaio com os ANTs, extratos e demais controles foi realizado simultaneamente para cada cepa bacteriana. Após a incubação a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , em condições aeróbicas, por um período de 16 a 20 horas, procedeu-se a leitura das placas e a determinação das CIMs por meio da observação da presença ou ausência de turbidez, indicativa de crescimento bacteriano. Para facilitar este processo, foram adicionados 20 µL de uma solução de cloreto de trifeniltetrazólio (CTT) na concentração de 1 mg/mL em todos os poços, exceto na coluna correspondente à quadruplicata das amostras, conforme ilustrado na Figura 7. Esta coluna foi posteriormente utilizada para o estabelecimento da CBM e para a classificação do efeito antibacteriano.

Figura 7 - Esquema ilustrativo das placas usadas para a determinação da Concentração Inibitória Mínima



EE-50: extrato etanólico 50%; EE-70: extrato etanólico 70%; EE-100: extrato etanólico 100% AMP: ampicilina; LEV: levofloxacina; poços na coloração roxa indicam controles de interferência da amostra sobre o meio (IAM) e interferência do solvente/diluyente sobre o meio (ISM); poços na coloração marrom indicam controles de interferência do solvente/diluyente sobre o crescimento bacteriano (ISC); poços na coloração amarela indicam controle de positivo de crescimento bacteriano (CP); poços na cor azul ciano indicam controle negativo de crescimento (CN); poços na coloração branca indicam poços vazios.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Em seguida, as placas de microtitulação foram incubadas por mais 30 minutos sob as mesmas condições descritas anteriormente. Após esse período, os poços que apresentaram coloração avermelhada indicaram crescimento bacteriano, enquanto aqueles que mantiveram a coloração original sinalizaram a ausência de crescimento.

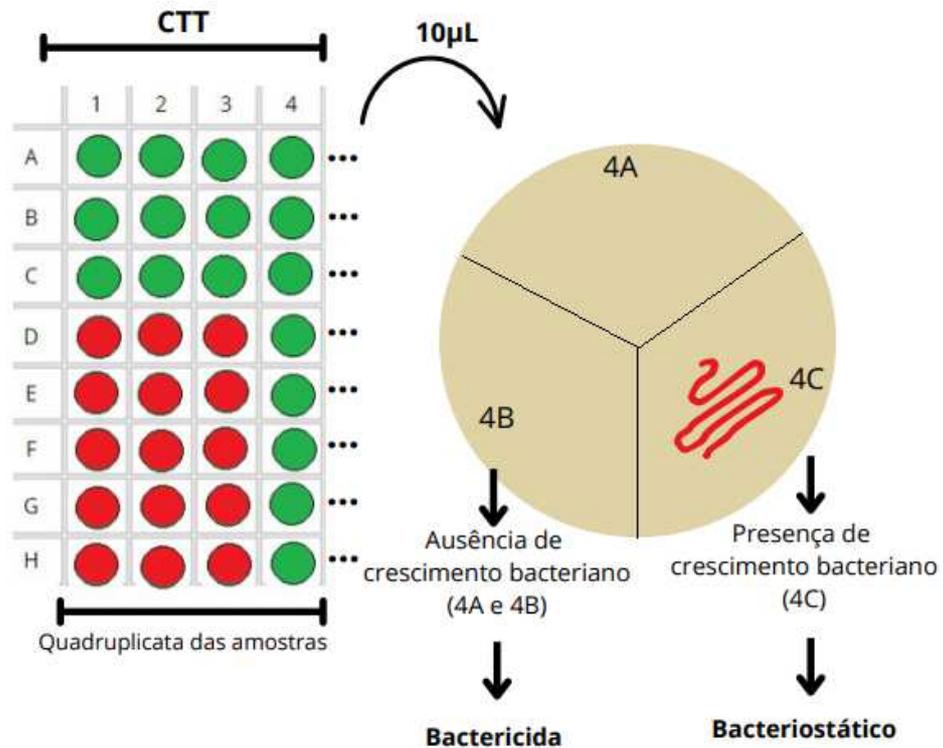
De acordo com o conceito descrito no documento M07-A10 do CLSI (CLSI, 2015), a CIM foi definida como "a menor concentração de um agente antimicrobiano capaz de inibir o crescimento visível de um microrganismo em um teste de sensibilidade em caldo".

Após estes procedimentos, o potencial antibacteriano dos extratos foi classificado em significativo ( $CIM < 100 \mu\text{g/mL}$ ), moderado ( $100 < CIM \leq 625 \mu\text{g/mL}$ ) ou fraco ( $CIM > 625 \mu\text{g/mL}$ ), de acordo com os critérios estabelecidos por Kuete (2010).

#### **4.5.3 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e classificação do efeito antibacteriano**

Para a determinação da CBM seguiu-se o procedimento descrito por Andrews (2001), com pequenos ajustes. A partir das colunas das placas de microtitulação que não receberam solução de CTT e dos poços onde não foi observado crescimento bacteriano (ausência de turbidez e ausência de mudança na coloração), um volume de  $10 \mu\text{L}$  daquele poço foi retirado e semeado em placas de Petri contendo AMH, previamente identificadas com os poços de origem. Após a incubação destas placas em estufa a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , em condições aeróbicas, por 18 a 20 horas, foi analisada a presença ou não de colônias bacterianas. Assim, as concentrações dos extratos testados que permitiram o crescimento de UFCs bacterianas em meio AMH após estes procedimentos foram classificadas como bacteriostáticas, enquanto as concentrações que inibiram completamente o crescimento bacteriano e nenhuma UFC foi visualizada no meio foram consideradas bactericidas, conforme ilustra a Figura 8. Desta forma, foi possível estabelecer a CBM que consiste na menor concentração da amostra capaz de impedir o crescimento bacteriano após os procedimentos de subcultivo no AMH.

Figura 8 - Esquema ilustrativo para determinação da Concentração Bactericida Mínima e classificação do efeito antibacteriano



CTT: Cloreto de trifeniltetrazólio (revelador biológico). Neste exemplo, a coloração vermelha observada nas colunas 1, 2 e 3 indica a viragem do CTT, resultante do crescimento bacteriano. Por outro lado, a coloração verde nessas mesmas colunas indica ausência de viragem do CTT, sugerindo inibição do crescimento bacteriano. A coluna 4 não recebeu a solução de CTT, pois foi destinada à determinação da CBM. Assim, neste exemplo, a CIM foi identificada como a concentração 4C, caracterizando um efeito bacteriostático, enquanto a CBM foi representada pela concentração 4B.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos teores totais de fenóis e flavonoides foi realizada utilizando o *software GraphPad Prism 7.0*. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey, a fim de avaliar o grau de significância, considerando um valor de  $p < 0,05$ . Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão (DP).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

### 5.1 MASSAS E RENDIMENTOS DO PROCESSO EXTRATIVO

A Tabela 6 apresenta os valores das massas (g) e rendimentos (%) obtidos no processo de extração de EE-50, EE-70 e EE-100, utilizando o método de banho ultrassônico. A análise dessa Tabela revela que o extrato EE-50 obteve o maior rendimento (5,0 %), enquanto o EE-70 apresentou o menor (4,2 %). No entanto, os rendimentos dos três extratos foram semelhantes, sugerindo que a alteração na composição do sistema de solventes teve impacto limitado sobre a massa total dos produtos gerados.

Tabela 6 - Valores das massas e dos rendimentos dos extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de *Vernonia polyanthes*

<b>Extrato</b>	<b>Massa (g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
EE-50	2,5	5,0
EE-70	2,1	4,2
EE-100	2,3	4,6

Fonte: Elaborado pela própria autora (2025).

A eficiência do processo extrativo na obtenção de fitoconstituíntes pode ser influenciada por diversos fatores, tanto relacionados à planta, como as condições de cultivo, quanto ao processo em si, incluindo o método de extração, o solvente utilizado, a temperatura, entre outros (Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Nawaz et al., 2020). Em consonância com nossos resultados, Fernandes (2019), ao realizar a extração das folhas de *V. polyanthes* pelo método de maceração estática, obteve um rendimento de 6,3% no extrato etanólico 70%, valor ligeiramente superior ao encontrado no presente estudo.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

### 5.2.1 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD)

Devido à complexidade dos extratos vegetais, que geralmente contêm uma combinação de compostos bioativos com diferentes polaridades, a separação e identificação dessas substâncias ainda representam um desafio significativo (Sasidharan et al., 2011). Nesse cenário, a caracterização química emerge como uma etapa fundamental, pois permite uma análise detalhada da composição dos extratos, facilitando a identificação dos compostos majoritários e proporcionando uma compreensão mais precisa de suas contribuições para as propriedades biológicas observadas. Nesse sentido, a caracterização do EE-50, EE-70 e EE-100 foi conduzida com o objetivo de identificar esses compostos e estabelecer correlações com os resultados dos ensaios antioxidante e antibacteriano, que serão discutidos a seguir. Além de revelar a composição dos extratos, essa análise possibilita a associação dos principais fitoconstituintes às atividades biológicas observadas, o que é crucial para a padronização e a garantia da qualidade dos extratos, essenciais para assegurar sua eficácia em aplicações futuras.

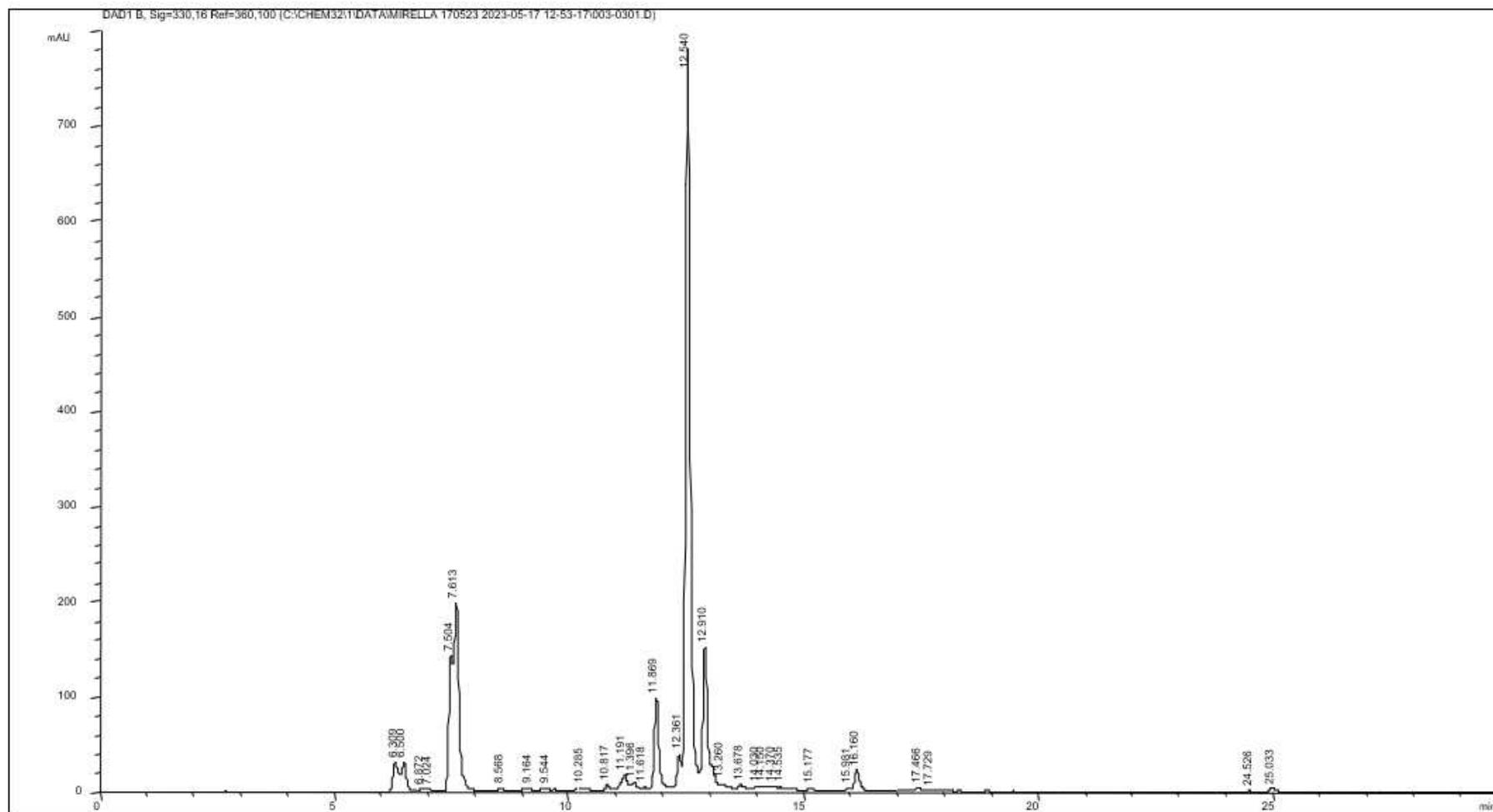
As análises cromatográficas iniciais foram efetuadas com as amostras na concentração de 1 mg/mL. No entanto, devido à alta concentração de compostos presentes, foi necessário ajustar as condições experimentais para melhorar a resolução dos cromatogramas. Para tanto, novas análises foram realizadas, modificando apenas a concentração das amostras. Como resultado, os cromatogramas mais nítidos foram obtidos nas condições descritas na seção 4.3.1 (pág. 43), com a concentração ajustada para 0,2 mg/mL e a análise conduzida no comprimento de onda de 330 nm, conforme ilustrado nas Figuras 9, 10 e 11.

A partir das condições otimizadas, foi possível identificar diferentes classes de metabólitos secundários, com base nos espectros de absorção na região UV obtidos por CLAE-DAD. Esses dados foram comparados com informações da literatura especializada, permitindo uma caracterização mais precisa dos compostos presentes nas amostras.

A análise dos cromatogramas apresentados nas Figuras 9, 10 e 11 revelou a presença de dois picos majoritários, localizados nos tempos de retenção ( $t_r$ ) de aproximadamente 7,6 min e 12,5 min, observados em EE-50, EE-70 e EE-100. A avaliação dos espectros UV correspondentes a esses picos, com  $t_r$  de 7,613 min e 12,540 min em EE-50; 7,615 min e 12,484 min em EE-70; e 7,625 min e 12,534 min em EE-100 (Figuras 12, 13 e 14, respectivamente), sugeriu a presença de ácidos fenólicos. A identificação de picos íngremes no espectro UV, com

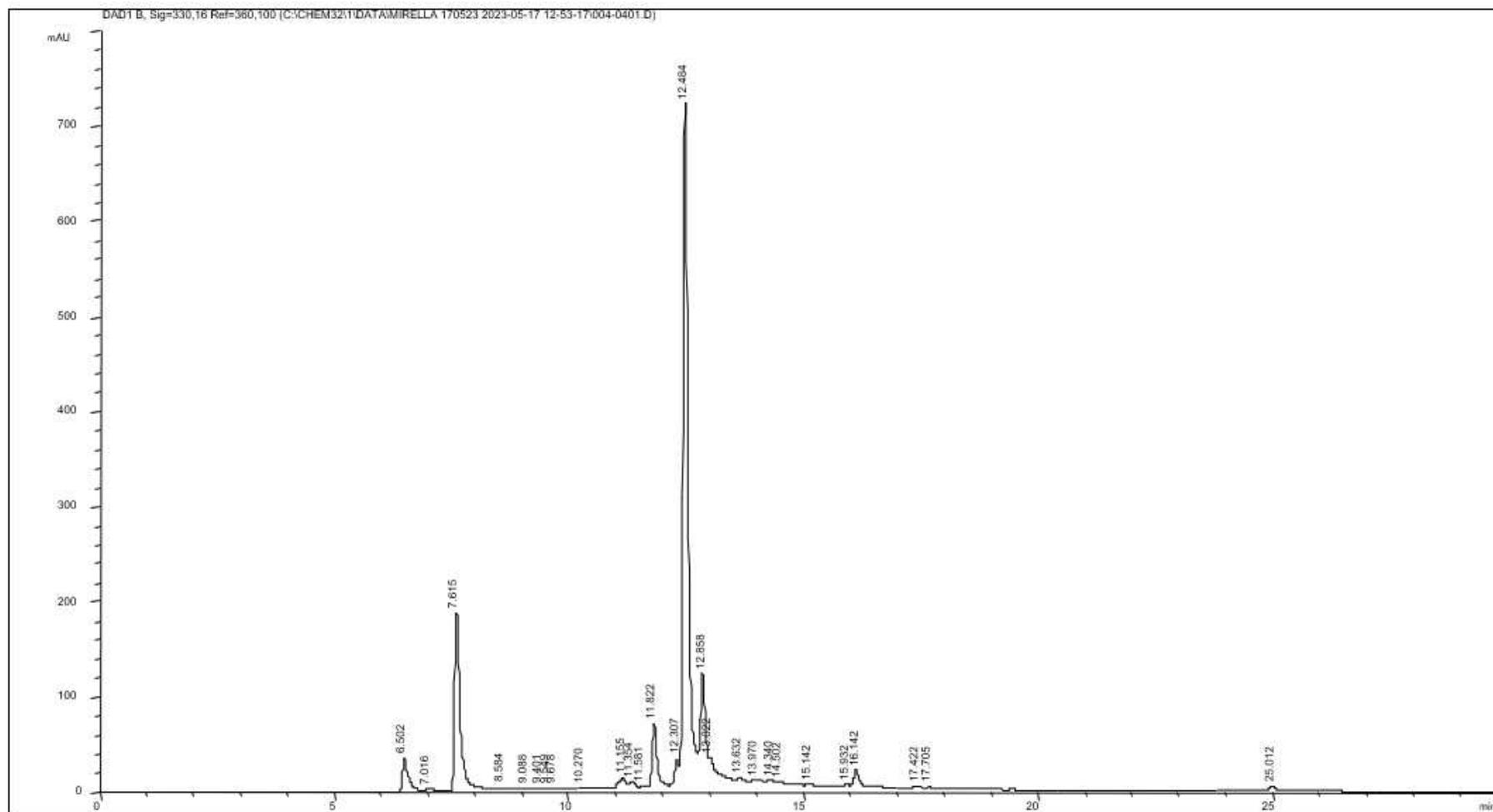
bandas de absorção nas faixas de comprimento de onda entre 200 e 225 nm e outra em torno de 325 nm, é característica dessa classe de compostos (Fischer; Olivier; Fischer, 1979). Assim, a presença de ácidos fenólicos foi confirmada como compostos majoritários nos extratos EE-50, EE-70 e EE-100.

Figura 9 - Perfil cromatográfico do extrato etanólico 50% (EE-50) de folhas de *Vernonia polyanthes* obtido por CLAE-DAD a 330 nm



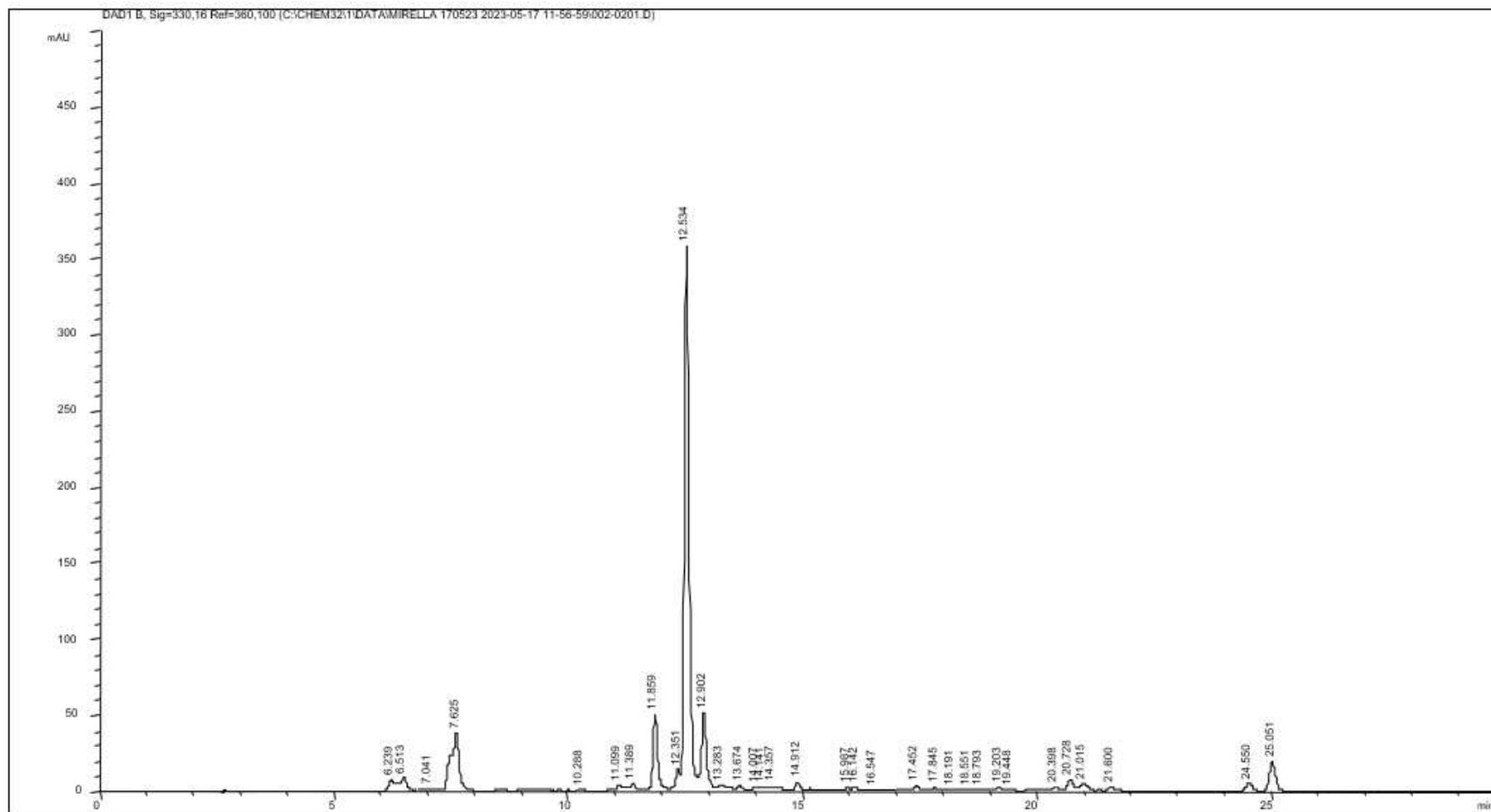
Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Figura 10 - Perfil cromatográfico do extrato etanólico 70% (EE-70) de folhas de *Vernonia polyanthes* obtido por CLAE-DAD a 330 nm



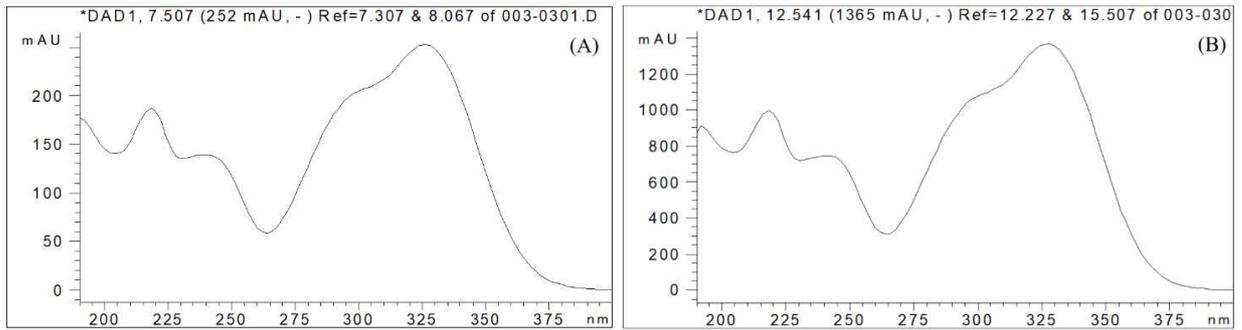
Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Figura 11 - Perfil cromatográfico do extrato etanólico 100% (EE-100) de folhas de *Vernonia polyanthes* obtido por CLAE-DAD a 330 nm



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

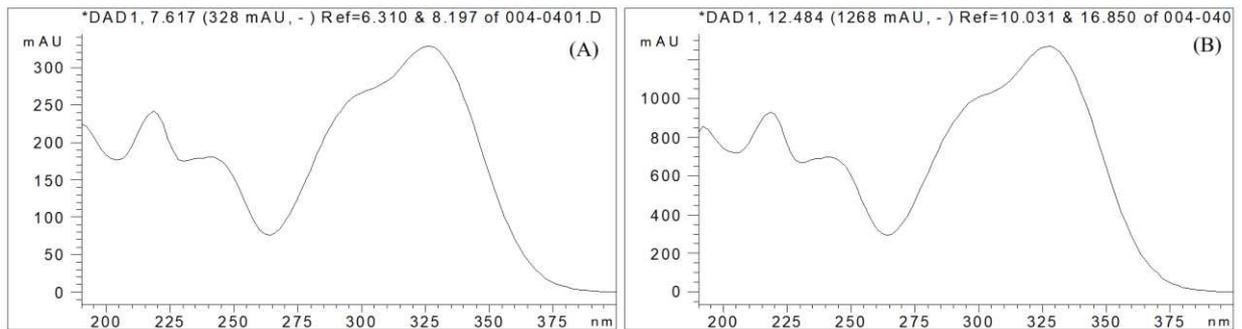
Figura 12 - Espectros no UV dos picos majoritários presentes no cromatograma do extrato etanólico 50% (EE-50) de folhas de *Vernonia polyanthes* obtidos por CLAE-DAD a 330 nm



(A) Pico com  $t_r = 7,507$  min; (B) Pico com  $t_r = 12,541$  min.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

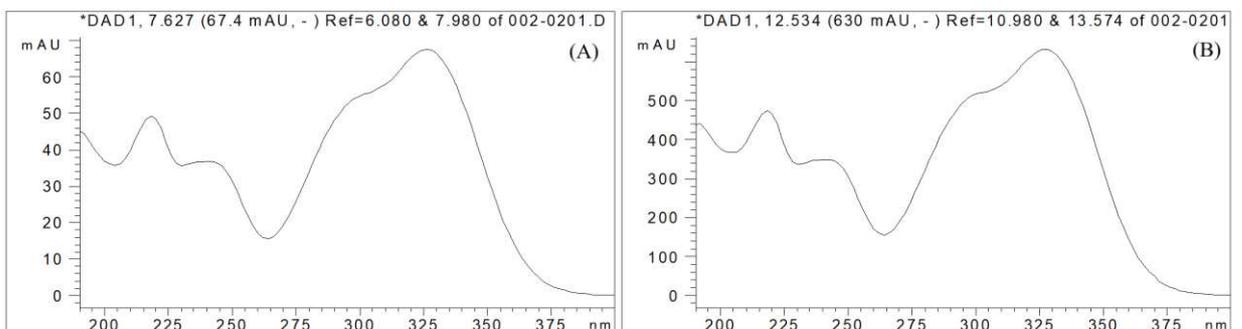
Figura 13 - Espectros no UV dos picos majoritários presentes no cromatograma do extrato etanólico 70% (EE-70) de folhas de *Vernonia polyanthes* obtidos por CLAE-DAD a 330 nm



(A) Pico com  $t_r = 7,617$  min; (B) Pico com  $t_r = 12,484$  min.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Figura 14 - Espectros no UV dos picos majoritários presentes no cromatograma do extrato etanólico 100% (EE-100) de folhas de *Vernonia polyanthes* obtidos por CLAE-DAD a 330 nm

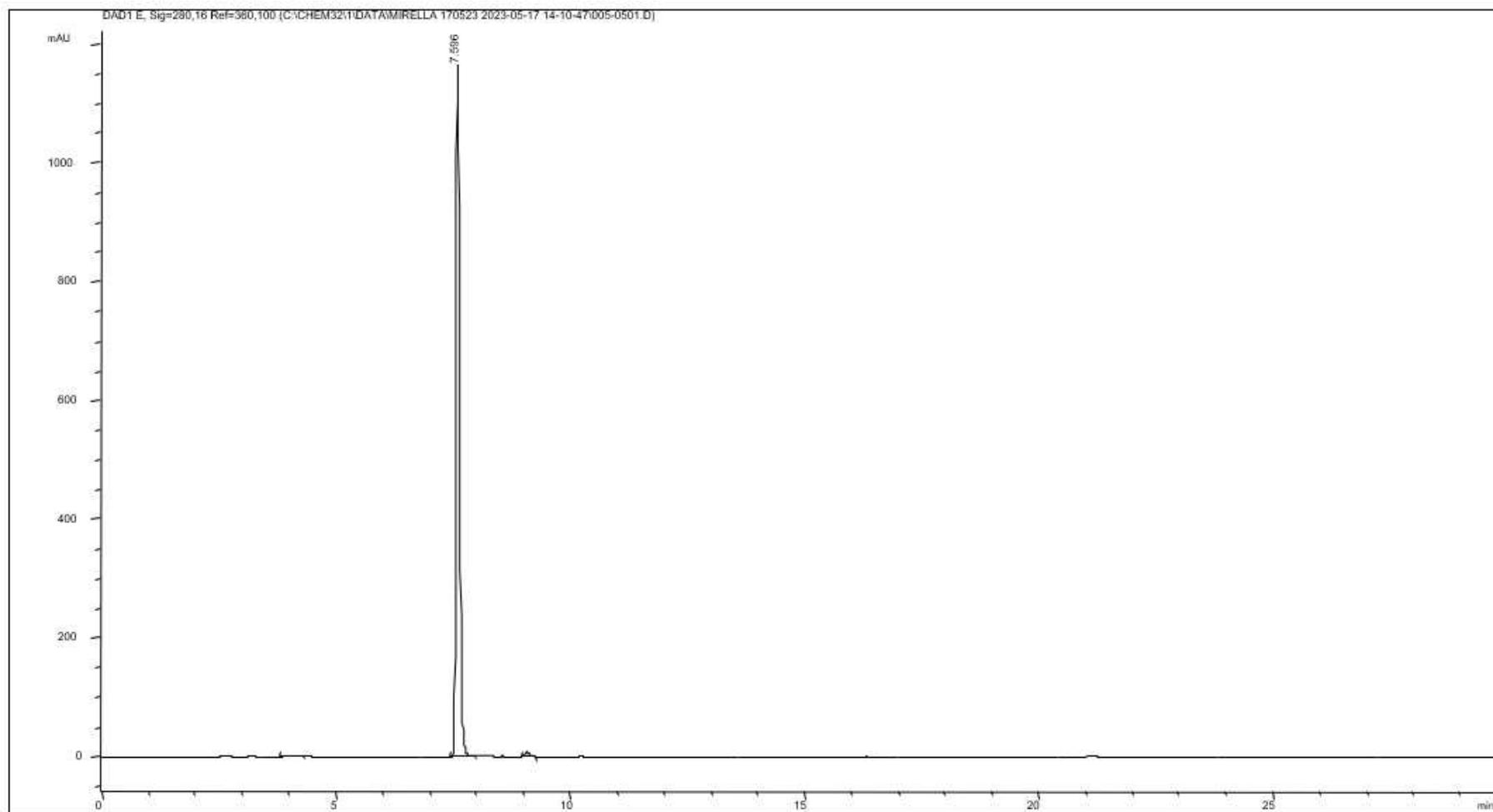


(A) Pico com  $t_r = 7,627$  min; (B) Pico com  $t_r = 12,534$  min.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

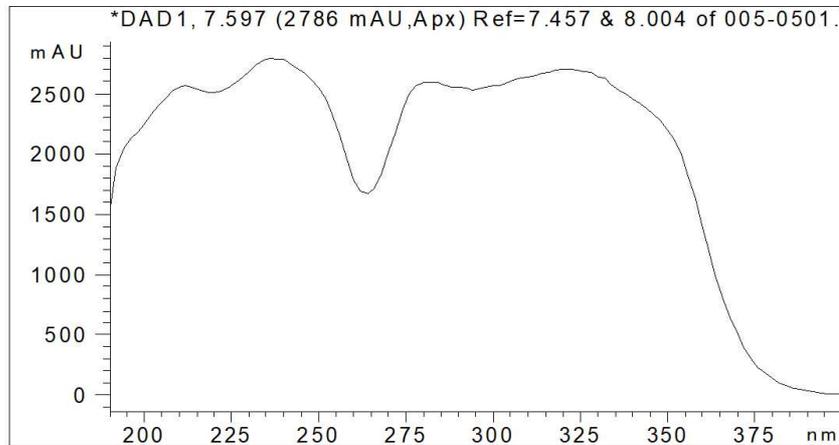
Além disso, considerando que o ácido clorogênico e seus isômeros são frequentemente encontrados entre os ácidos fenólicos nas espécies vegetais (Marques; Farah, 2009), foi realizada uma corrida analítica nas mesmas condições cromatográficas dos extratos, utilizando o padrão de ácido 5-cafeoilquínico (ácido clorogênico) a 0,1 mg/mL, conforme ilustrado na Figura 15. O cromatograma obtido revelou um pico com  $t_r$  de 7,596 min, e os espectros UV apresentaram picos de absorção máxima entre 200 e 225 nm, além de uma banda em torno de 325 nm (Figura 16), reforçando a hipótese da presença desse composto nos extratos analisados.

Figura 15 - Perfil cromatográfico do padrão de ácido 5-cafeoilquínico a 0,1 mg/mL obtido por CLAE-DAD a 330 nm



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

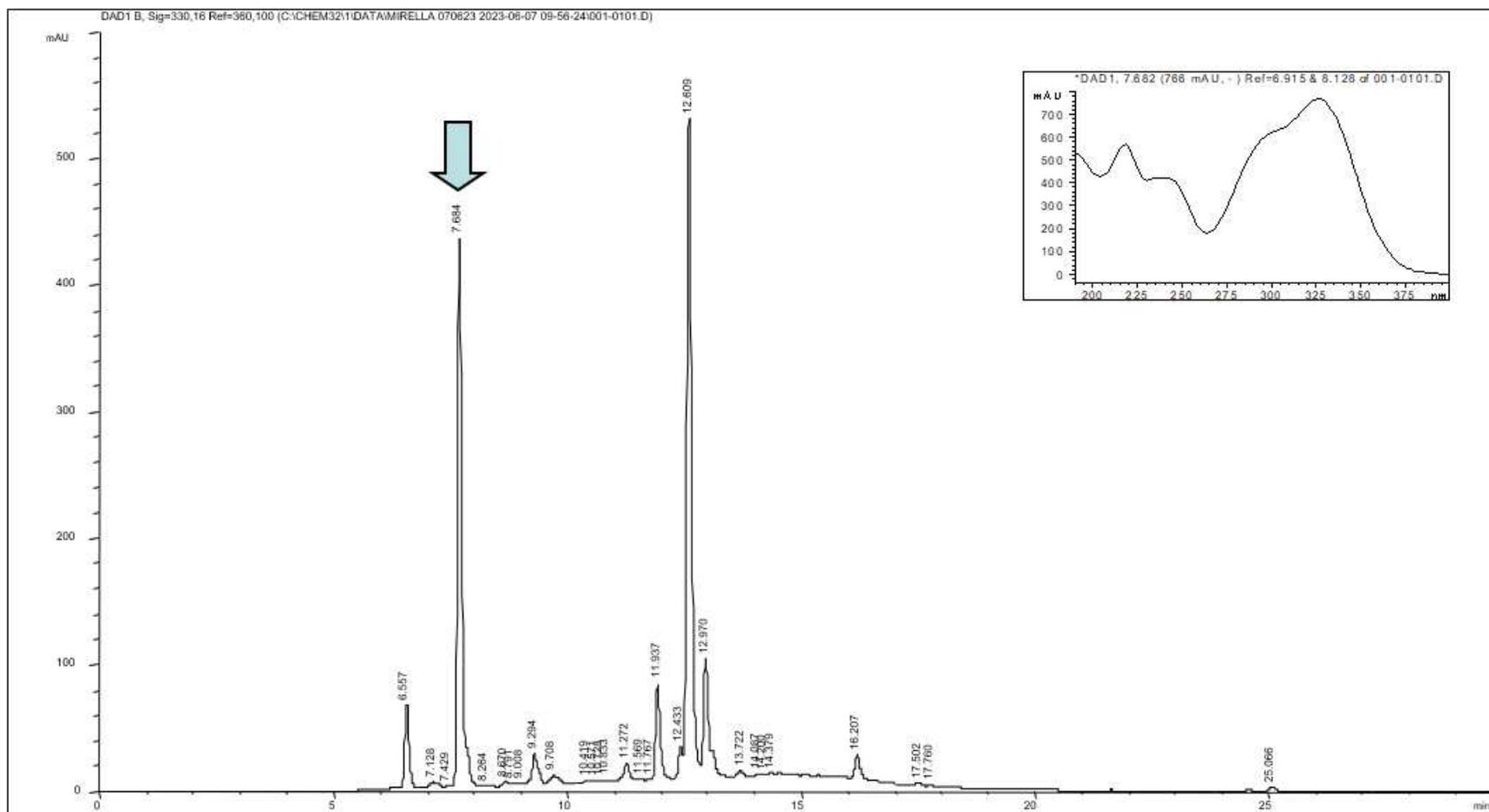
Figura 16 - Espectro no UV do pico referente ao padrão de ácido 5-cafeoilquínico obtido por CLAE-DAD a 330 nm



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Para confirmar a presença desse fenólico, foi realizada uma coeluição dos extratos EE-50, EE-70 e EE-100, na concentração de 0,2 mg/mL, com a adição de 0,1 mg/mL do padrão de ácido 5-cafeoilquínico. Como resultado, observou-se um aumento significativo do sinal nos picos correspondentes aos  $t_r$  de 7,684 min (EE-50), 7,685 min (EE-70) e 7,633 min (EE-100), conforme demonstrado nas Figuras 17, 18 e 19, nessa ordem. Esse aumento no sinal dos picos confirmou a presença do ácido clorogênico nos extratos etanólicos analisados.

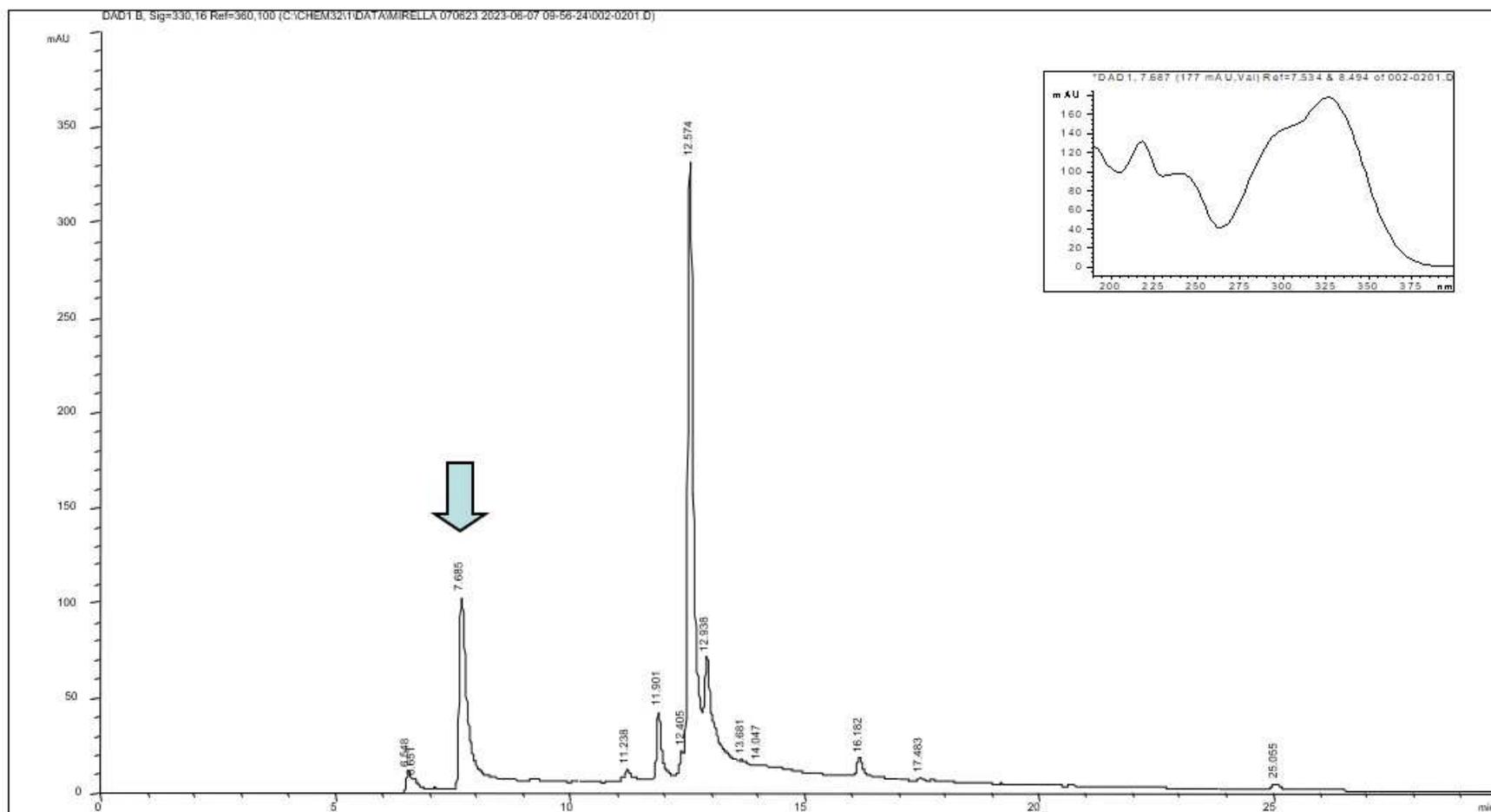
Figura 17 - Perfil cromatográfico da coeluição do extrato etanólico 50% (EE-50) de folhas de *Vernonia polyanthes* com ácido 5-cafeoilquínico obtido por CLAE-DAD a 330 nm



A seta azul indica o sinal correspondente ao ácido 5-cafeoilquínico no cromatograma.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

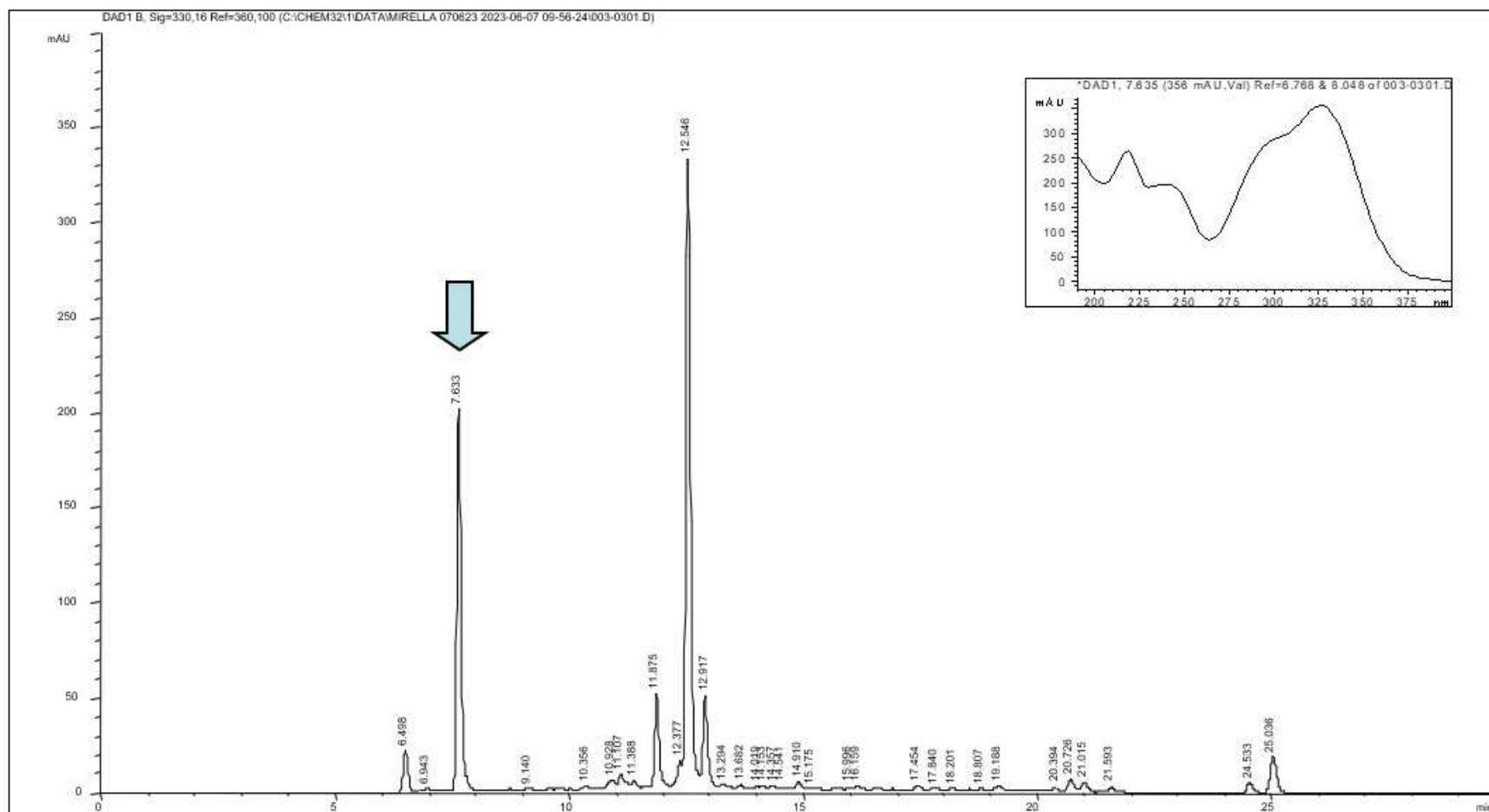
Figura 18 - Perfil cromatográfico da coeluição do extrato etanólico 70% (EE-70) de folhas de *Vernonia polyanthes* com ácido 5-cafeoilquínico obtido por CLAE-DAD a 330 nm



A seta azul indica o sinal correspondente ao ácido 5-cafeoilquínico no cromatograma.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Figura 19 - Perfil cromatográfico da coeluição do extrato etanólico 100% (EE-100) de folhas de *Vernonia polyanthes* com ácido 5-cafeoilquínico obtido por CLAE-DAD a 330 nm



A seta azul indica o sinal correspondente ao ácido 5-cafeoilquínico no cromatograma.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

A caracterização completa do ácido fenólico presente nos extratos, com  $t_r$  de aproximadamente 12,5 min, não foi possível devido à ausência de padrões adicionais para realizar a coeluição. No entanto, com base nos espectros UV apresentados nas Figuras 12(B), 13(B) e 14(B), observou-se a presença de absorções semelhantes nos mesmos comprimentos de onda, o que permite sugerir que se tratam de prováveis isômeros do ácido clorogênico.

O ácido clorogênico e seus derivados, como o ácido 5-cafeoilquínico, que compõe cerca de 35 a 40% do total, possuem várias atividades biológicas, destacando-se pela potente ação antioxidante e anti-inflamatória (Nguyen et al., 2024). Sob a ótica microbiológica, esses compostos apresentam significativo potencial antibacteriano contra diversas espécies Gram-positivas e Gram-negativas. Por exemplo, demonstram ação contra *Streptococcus pyogenes* [Cocos Gram-positivos em cadeias (Procop et al., 2018)], afetando o metabolismo lipídico e eliminando espécies reativas de oxigênio intracelulares (Le et al., 2022); contra *Yersinia enterocolitica* [Cocobacilos Gram-negativos (Procop et al., 2018)], promovendo destruição da membrana celular e aumento da permeabilidade, o que resulta no extravasamento de substâncias intracelulares (Chen et al., 2022); e contra *E. coli* [Bacilos Gram-negativos (Procop et al., 2018)], agindo sobre a parede e membrana celular, além de potencializar a ação de ANT's contra uma cepa MDR responsável por mastite e de aumentar significativamente a atividade antibacteriana contra cepas de referência e clínicas de UPEC quando associado à LEV (Feng et al., 2023; Zhang et al., 2024); entre outras.

Portanto, os derivados de ácido clorogênico, compostos majoritários nos extratos de folhas de *V. polyanthes*, apresentam um potencial terapêutico promissor, especialmente no tratamento alternativo de ITUs causadas principalmente por UPEC. Esse potencial decorre da combinação das suas propriedades anti-inflamatória e antibacteriana, que atuam de forma complementar na modulação da infecção. Além disso, observa-se um efeito sinérgico significativo quando esses derivados são associados à LEV. Esse efeito sinérgico pode potencializar a eficácia terapêutica da LEV, melhorando o controle sobre cepas resistentes e MDR, o que torna os extratos de *V. polyanthes* uma opção terapêutica viável no contexto das ITUs causadas por UPEC.

### 5.2.2 Determinação do teor de fenóis totais

O teor de fenóis totais nas amostras de EE-50, EE-70 e EE-100 foi determinado pelo método de Folin e Ciocalteu (1927), com adaptações. Uma curva analítica foi construída utilizando ácido tânico como padrão, resultando na equação da reta  $y = 0,067x - 0,070$  ( $r^2 =$

0,994). Com base na regressão linear dos dados experimentais, foi possível calcular a concentração de fenóis totais nas amostras. Os resultados obtidos foram expressos em mg de fenóis por g de amostra equivalente ao ácido tânico (EAT)  $\pm$  desvio padrão, conforme mostrado na Tabela 7.

Tabela 7 - Teores de fenóis totais presentes nos extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de *Vernonia polyanthes*

<b>Amostra</b>	<b>Teor de fenóis totais (mg/g EAT)</b>
EE-50	88,32 $\pm$ 4,80 <sup>a</sup>
EE-70	88,42 $\pm$ 2,19 <sup>a</sup>
EE-100	29,37 $\pm$ 2,91 <sup>b</sup>

EAT: equivalente ao ácido tânico. Os resultados representam a média das concentrações  $\pm$  desvio padrão em ensaios realizados em triplicata para as amostras descritas (n = 3). Análise estatística realizada por teste de ANOVA seguida pelo teste de Tukey. Letras iguais representam valores significativamente iguais entre as amostras ( $p > 0,05$ ).

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

A análise dos dados apresentados na Tabela 7 revelou que os extratos EE-50 e EE-70 possuem os maiores teores de fenóis totais, com valores de 88,32 e 88,42 mg/g EAT, respectivamente. Em contraste, o extrato EE-100 exibiu um teor significativamente mais baixo, de 29,37 mg/g EAT. Essa diferença foi corroborada pela análise dos cromatogramas dos extratos, mostrados nas Figuras 9, 10 e 11, onde se observou que as intensidades dos picos majoritários em EE-50 e EE-70 são praticamente idênticas, o que sugere que ambos os extratos possuem concentrações de fenólicos semelhantes. Por outro lado, os picos majoritários em EE-100 apresentaram intensidades consideravelmente menores, reforçando a conclusão de que este extrato contém uma quantidade significativamente inferior de fenóis totais em comparação aos outros dois.

Essas variações nos teores de fenóis totais podem ser contextualizadas à luz de estudos semelhantes. Naves e Povh (2024), ao determinarem o conteúdo de fenóis totais em espécies de Asteraceae do cerrado do Pontal do Triângulo Mineiro pelo método de Folin e Ciocalteu, reportaram um valor de 141,44  $\pm$  2,10 mg/g de extrato seco equivalente ao ácido gálico para um macerado em acetona 70 de partes aéreas de *V. polyanthes*. Esse valor é significativamente superior aos resultados obtidos neste estudo, sugerindo uma variação substancial nas

concentrações de fenóis, provavelmente influenciada por fatores como a técnica de extração e o solvente utilizado.

Por outro lado, Temponi (2012), ao avaliar o teor de fenóis totais em extrato etanólico bruto de folhas de *V. polyanthes* obtido por maceração estática, reportou um valor de  $47,8 \pm 2$  mg/g equivalente ao ácido gálico, inferior ao observado no presente estudo. Minateli et al. (2017) também determinaram o teor de fenóis totais em extrato etanólico bruto de ramos de *V. polyanthes* utilizando o mesmo processo e obtiveram um valor de  $67,1 \pm 0,32$  mg/g equivalente ao ácido gálico, que também foi mais baixo do que os valores reportados neste estudo.

A variabilidade nos teores de fenóis totais observada entre esses estudos pode ser atribuída a vários fatores, como as condições específicas de cultivo da planta, as partes vegetais utilizadas (folhas, caules, raízes, ramos) e, especialmente, os métodos de extração empregados. Como discutido anteriormente, é razoável concluir que as discrepâncias nos resultados entre os diferentes estudos não se devem apenas ao processo de extração, mas também às condições ambientais e às características específicas das amostras analisadas (Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Nawaz et al., 2020).

### **5.2.3 Determinação do teor de flavonoides**

A quantificação dos flavonoides no EE-50, EE-70 e EE-100 foi realizada por meio do método de complexação com cloreto de alumínio, conforme descrito por Challice e Markham (1984), com algumas adaptações. Para isso, foi construída uma curva analítica utilizando o padrão de quercetina, resultando na equação de reta  $y = 0,073x - 0,0117$  ( $r^2 = 0,997$ ). A determinação do teor de flavonoides foi realizada com base na regressão linear. Os resultados foram expressos em mg/g de amostra em equivalente à quercetina (EQ)  $\pm$  desvio padrão, levando em consideração os fatores de diluição utilizados, conforme demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8 - Teores de flavonoides presentes nos extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de *Vernonia polyanthes*

Amostra	Teor de flavonoides (mg/g EQ)
EE-50	13,48 ± 4,50 <sup>a</sup>
EE-70	16,70 ± 6,72 <sup>a</sup>
EE-100	34,20 ± 2,54 <sup>b</sup>

EQ: equivalente a quercetina. Os resultados representam a média das concentrações ± desvio padrão em ensaios realizados em triplicata para as amostras descritas (n = 3). Análise estatística realizada por teste de ANOVA seguida pelo teste de Tukey. Letras iguais representam valores significativamente iguais entre as amostras ( $p > 0,05$ ).

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

A análise dos dados apresentados na Tabela 8 revela que EE-100 (menos polar) contém a maior concentração de flavonoides (34,20 mg/g EQ), aproximadamente 2,5 vezes superior à quantidade encontrada no EE-50 (mais polar) (13,48 mg/g EQ). Esses resultados sugerem que os flavonoides presentes nas folhas de *V. polyanthes* são mais eficientemente extraídos pelo etanol puro em comparação à mistura hidroalcoólica, indicando que a maior graduação alcoólica foi mais eficaz na extração desses metabólitos. Seo et al. (2014) demonstraram que o teor de flavonoides totais é substancialmente influenciado pela polaridade do solvente empregado. Quando comparados os extratos aquoso, etanólico e metanólico, os solventes aquoso e etanólico mostraram maior eficiência na extração de flavonoides do que o metanol, destacando a eficácia dos solventes polares. A polaridade do solvente certamente desempenha um papel importante na extração, mas a eficiência também pode depender de outros fatores, como as propriedades específicas dos flavonoides presentes nas amostras e a dinâmica do processo de extração (Tzanova et al., 2020).

A diversidade de flavonoides e suas diferentes polaridades exigem o uso de solventes variados para a extração e separação das diferentes subclasses desses compostos. Flavonas, flavanonas e isoflavonas, por exemplo, podem ser extraídas com solventes menos polares, como a acetona, enquanto flavonoides mais polares são geralmente extraídos por etanol ou misturas hidroalcoólicas (Tzanova et al., 2020). Nesse contexto, a presença de flavonoides em maior quantidade no extrato EE-100 pode estar relacionada às subclasses de flavonoides predominantemente de polaridade intermediária à alta presentes nas folhas de *V. polyanthes*. A completa caracterização desses compostos, no entanto, não foi possível de ser realizada. Ademais, a presença de glicosilações também é capaz de influenciar a solubilidade dessas

substâncias, de forma que a solubilidade de flavonoides glicosilados estará diretamente relacionada a propriedades hidrofílicas e lipofílicas das moléculas (Slámová; Kapešová; Valentová, 2018).

Em comparação, o estudo de Temponi (2012) também determinou flavonoides totais utilizando espectrofotometria com cloreto de alumínio, reportando um valor de  $22,0 \pm 1,5$  mg/g equivalente à rutina para um extrato etanólico bruto de folhas de *V. polyanthes*, valor superior ao de EE-50 e EE-70, porém inferior ao de EE-100 observado neste estudo. Da mesma forma, Naves e Povh (2024) quantificaram flavonoides em extrato de *V. polyanthes* macerado em acetona utilizando o mesmo método e reportaram  $5,34 \pm 0,03$  mg/g de extrato seco equivalente à quercetina, um valor significativamente menor do que os encontrados neste estudo. As divergências nos resultados podem estar associadas às diferenças nos métodos de extração, nas condições ambientais e nas características específicas das amostras analisadas, conforme discutido anteriormente para os fenóis totais.

### 5.3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DOS EXTRATOS DE *Vernonia polyanthes*

#### 5.3.1 Método do sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)

A Tabela 9 apresenta os resultados relativos à capacidade inibitória do EE-50, EE-70 e EE-100 sobre o radical livre DPPH. A análise dos dados revela que todos os extratos demonstram um potencial de inibição desse radical livre comparável à atividade antioxidante da quercetina, flavonoide de referência, em concentrações de até  $31,25 \mu\text{g/mL}$ . Esses resultados indicam uma capacidade antioxidante significativa dos extratos, comprovada pela sua eficácia no método DPPH.

Tabela 9 - Atividade antioxidante *in vitro* dos extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de *Vernonia polyanthes* e da quercetina pelo método do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)

Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )	Percentual de inibição (%)			
	Quercetina	EE-50	EE-70	EE-100
250	95,31 $\pm$ 0,84	94,02 $\pm$ 0,28	92,14 $\pm$ 0,87	117,67 $\pm$ 1,39
125	97,33 $\pm$ 0,51	93,38 $\pm$ 0,44	93,68 $\pm$ 0,39	104,65 $\pm$ 0,22
62,50	94,45 $\pm$ 1,79	93,98 $\pm$ 0,81	93,51 $\pm$ 0,31	91,87 $\pm$ 5,01
31,25	97,02 $\pm$ 0,33	93,38 $\pm$ 0,46	93,76 $\pm$ 0,16	96,93 $\pm$ 1,19
15,62	96,64 $\pm$ 0,97	92,42 $\pm$ 0,39	86,37 $\pm$ 6,92	20,53 $\pm$ 1,57
7,81	96,67 $\pm$ 0,34	72,66 $\pm$ 3,17	58,87 $\pm$ 5,54	10,08 $\pm$ 1,04
3,91	96,57 $\pm$ 0,47	43,48 $\pm$ 4,93	35,83 $\pm$ 0,33	6,01 $\pm$ 2,10
1,95	96,29 $\pm$ 0,71	31,96 $\pm$ 3,50	19,34 $\pm$ 4,42	5,34 $\pm$ 2,08
0,98	92,66 $\pm$ 4,89	17,45 $\pm$ 2,08	13,15 $\pm$ 3,36	0,31 $\pm$ 0,87

Os resultados representam a média das concentrações  $\pm$  desvio padrão em ensaios realizados em triplicata para as amostras descritas (n = 3).

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Para um entendimento mais preciso da potência antioxidante, foi calculada a concentração inibitória 50% ( $CI_{50}$ ), que corresponde à concentração necessária para inibir metade (50%) da oxidação do radical livre DPPH (Carbonari, 2005). Os valores de  $CI_{50}$  são apresentados na Tabela 10. A partir dessa análise, observa-se que os valores de  $CI_{50}$  variaram de 3,81 a 19,16  $\mu\text{g/mL}$ , com o extrato EE-50 apresentando o melhor desempenho ( $CI_{50} = 3,81 \pm 0,44 \mu\text{g/mL}$ ), enquanto o EE-100 revelou-se o menos eficiente ( $CI_{50} = 19,16 \pm 0,32 \mu\text{g/mL}$ ).

Tabela 10 - Valores de concentração inibitória 50% (CI<sub>50</sub>) dos extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de *Vernonia polyanthes* e da quercetina frente ao radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)

Amostra	CI <sub>50</sub> (µg/mL)
EE-50	3,81 ± 0,44
EE-70	5,53 ± 0,74
EE-100	19,16 ± 0,32
Quercetina	0,40 ± 0,03

Os resultados representam a média das concentrações ± desvio padrão em ensaios realizados em triplicata para as amostras descritas (n = 3).

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Os resultados obtidos no presente estudo são consistentes com os relatos da literatura, que evidenciam o significativo potencial dos extratos de folhas de *V. polyanthes* na inibição do radical livre DPPH. Temponi (2012) descreveu uma CI<sub>50</sub> de 23,45 ± 0,14 µg/mL para um extrato etanólico bruto de folhas de *V. polyanthes*, obtido por maceração estática. Este valor é relativamente próximo ao observado neste estudo para o extrato EE-100 (19,16 ± 0,32 µg/mL), embora os extratos EE-50 e o EE-70 tenham demonstrado um desempenho mais promissor, com CI<sub>50</sub> de 3,81 ± 0,44 µg/mL e 5,53 ± 0,74 µg/mL, respectivamente.

Em um estudo realizado por Rodrigues (2013), investigou-se a capacidade de inibição do radical livre DPPH por extratos de folhas de *V. polyanthes*, obtidos por maceração estática com solventes de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e etanol) até o esgotamento. Esta autora relatou que o extrato etanólico resultante apresentou uma CI<sub>50</sub> de 2,29 ± 0,07 µg/mL, valor que se aproxima do encontrado neste estudo para o extrato EE-50. Essa correspondência sugere que os compostos de maior polaridade presentes nas folhas de *V. polyanthes* desempenham um papel fundamental na inibição do radical livre DPPH, especialmente quando isolados dos compostos menos polares. De fato, após a remoção dos compostos de menor polaridade com solventes como hexano e acetato de etila, o extrato etanólico demonstrou maior atividade antioxidante, particularmente quando comparado ao extrato etanólico bruto analisado por Temponi (2012).

No contexto do presente estudo, o extrato EE-50, que se destacou como o mais promissor, contém uma quantidade maior de água, o que sugere uma capacidade limitada de extração de moléculas de baixa polaridade. Este fator pode, em parte, explicar sua atividade

antioxidante, pois o extrato é composto predominantemente por moléculas de maior polaridade, que são provavelmente mais eficazes na inibição do radical DPPH.

Adicionalmente, vale destacar que os extratos EE-50 e EE-70 apresentaram teores de fenóis totais estatisticamente idênticos e superiores ao do EE-100, o que pode contribuir para a maior capacidade antioxidante observada nesses extratos. Os compostos fenólicos e flavonoides, reconhecidos como as principais moléculas fitoquímicas com propriedades antioxidantes, têm despertado grande interesse devido às suas diversas atividades bioativas, principalmente pelos benefícios à saúde humana, com atuação na prevenção e no tratamento de várias doenças (Tungmunnithum et al., 2018).

#### 5.4 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DOS EXTRATOS DE *Vernonia polyanthes*

##### **5.4.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e classificação do efeito antibacteriano**

A Tabela 11 apresenta os valores de CIM obtidos com os extratos etanólicos EE-50, EE-70, EE-100, bem como com AMP e LEV, e CBM frente a cepas de *E. coli*. A análise desses dados revela que estes três extratos etanólicos de folhas de *V. polyanthes* mostraram atividade contra oito das dez cepas bacterianas testadas, incluindo duas de referência e seis clínicas (os extratos foram inativos contra *E. coli* 354 e 355 dentro do gradiente de concentração estabelecido), com valores de CIM variando de 625 a 5.000 µg/mL. Entre os extratos, os resultados de CIM de EE-50 e EE-70 foram idênticos, sugerindo uma atividade bacteriana similar entre eles. Essa semelhança pode estar relacionada à composição química compartilhada entre os extratos, conforme detalhado na seção 5.2 (pág. 56 - 72). Por outro lado, o EE-100 apresentou uma ligeira superioridade, com valores de CIM menores para a maioria das cepas testadas. Este comportamento pode ser atribuído à maior concentração de flavonoides no EE-100, compostos reconhecidos por suas propriedades antibacterianas, conforme discutido na seção 5.2.3 (pág. 70 - 72). Flavonoides como quercetina (Frent et al., 2024; Tan et al., 2022), rutina

(Ganeshpurkar; Saluja, 2017) e luteolina (Tan et al., 2022) têm sido amplamente associados à atividade antimicrobiana.

De acordo com os critérios estabelecidos por Kuete (2010), a atividade antibacteriana do EE-100 contra as cepas de *E. coli* 368, 399 e 423 (CIM = 625 µg/mL) foi classificada como moderada, enquanto em outras situações, a atividade dos extratos foi considerada fraca. Esses resultados destacam a eficácia do EE-100 contra determinadas cepas, sugerindo que a composição fitoquímica dos extratos etanólicos de folhas de *V. polyanthes* pode desempenhar um papel importante na modulação da atividade antibacteriana.

Tabela 11 - Valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) obtidos com os extratos etanólicos 50% (EE-50), 70% (EE-70) e 100% (EE-100) de folhas de *Vernonia polyanthes*, ampicilina (AMP) e levofloxacina (LEV) frente às cepas bacterianas de referência e clínicas de *Escherichia coli*

Cepa bacteriana	CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )			CBM ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	EE-50	EE-70	EE-100	AMP	LEV	EE-50	EE-70	EE-100
ATCC 25922	5.000	5.000	5.000	< 4 <sup>a</sup>	< 4 <sup>b</sup>	5.000	5.000	5.000
ATCC 10536	5.000	5.000	5.000	< 4	< 4	5.000	5.000	5.000
354	> 5.000	> 5.000	> 5.000	500	< 4	> 5000	> 5000	> 5000
355	> 5.000	> 5.000	> 5.000	500	250	> 5000	> 5000	> 5000
359	2.500 <sup>2</sup>	2.500 <sup>2</sup>	1.250 <sup>2</sup>	500	< 4	5.000	5.000	5.000
363	2.500 <sup>2</sup>	2.500 <sup>2</sup>	1.250 <sup>2</sup>	< 4	< 4	5.000	5.000	2.500
368	1.250 <sup>1</sup>	1.250 <sup>1</sup>	625 <sup>2</sup>	< 4	62,5	1.250	1.250	1.250
399	1.250 <sup>2</sup>	1.250 <sup>2</sup>	625 <sup>2</sup>	500	500	5.000	5.000	1.250
422	2.500 <sup>1</sup>	2.500 <sup>1</sup>	2.500 <sup>1</sup>	500	< 4	2.500	2.500	2.500
423	1.250 <sup>2</sup>	1.250 <sup>2</sup>	625 <sup>2</sup>	< 4	< 4	5.000	5.000	1.250

> 5.000 = valores de CIM superiores à maior concentração testada; Os valores de CIM para AMP e LEV estão dentro dos intervalos de controle de qualidade estabelecidos pelo CLSI para organismos não fastidiosos, conforme o documento M100-S30 (CLSI, 2020): (a) 2 - 8  $\mu\text{g/mL}$  para AMP; (b) 0,008 - 0,06  $\mu\text{g/mL}$  para LEV; Segundo as diretrizes do mesmo documento, os valores de CIM para AMP de  $\leq 8$ , 16 e  $\geq 32$   $\mu\text{g/mL}$  classificam essa cepa como sensível, intermediária e resistente, respectivamente, enquanto para LEV, os valores de CIM  $\leq 0,5$ , 1 e  $\geq 2$   $\mu\text{g/mL}$  classificam essa cepa como sensível, intermediária e resistente, nessa ordem (CLSI, 2020); (1) efeito bactericida; (2) efeito bacteriostático. É importante destacar que as CIMs obtidas para AMP e LEV frente às cepas clínicas refletem o perfil de sensibilidade descrito na Tabela 3.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Embora o número de estudos sobre o potencial antibacteriano de *V. polyanthes* seja limitado, pesquisas anteriores realizadas por nosso grupo de pesquisa oferecem importantes contribuições. Em sua dissertação, Fernandes (2019) investigou a atividade antibacteriana de extratos etanólicos e frações das flores e folhas de *V. polyanthes*, utilizando o método de microdiluição em caldo contra um painel de cepas de referência representativas de diversas bactérias patogênicas, incluindo *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella Cholerasuis* e Typhimurium, e clínicas de *Salmonella*. Os resultados indicaram atividade contra todas as cepas testadas, com destaque para a fração diclorometânica de folhas (DL-Vp), que apresentou CIM variando de 625 a 2.500 µg/mL. Para as cepas de *E. coli* (ATCC 10536 e ATCC 25922), o extrato etanólico 70% de folhas (EL-Vp) mostrou CIM > 5.000 µg/mL, corroborando os achados do presente estudo. Contudo, a fração DL-Vp revelou CIM de 625 µg/mL e efeito bacteriostático, evidenciando a presença de metabólitos com atividade antibacteriana moderada, mas também destacando que o processo extrativo é crucial para a obtenção desses compostos bioativos.

Gitirana de Santana et al. (2023) avaliaram a atividade antibacteriana de um extrato de lavagem foliar de *V. polyanthes* (Vp-LRE) usando o método de microdiluição em caldo frente a cepas de referência ATCC representativas dos grupos Gram-positivo e Gram-negativo e clínicas de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA). Os autores observaram atividade antibacteriana, com CIM variando de 156 a 5.000 µg/mL, sendo os resultados particularmente promissores contra as cepas clínicas de MRSA. Para *E. coli*, foram reportados valores de CIM de 5.000 µg/mL para *E. coli* (ATCC 10536) e > 5.000 µg/mL para *E. coli* (ATCC 25922), resultados que são consistentes com os encontrados neste estudo.

## 6 CONCLUSÃO

---

O presente estudo proporcionou uma análise abrangente dos extratos etanólicos de folhas de *V. polyanthes*, incluindo a caracterização química, a avaliação da atividade antioxidante e a investigação do potencial antibacteriano. A caracterização química, realizada por CLAE-DAD, identificou o ácido 5-cafeoilquínico como o composto majoritário em todos os extratos (EE-50, EE-70 e EE-100). A análise dos teores de fenóis totais indicou que os extratos EE-50 e EE-70 possuem as maiores concentrações desses metabólitos, enquanto o EE-100 se destacou pelo elevado teor de flavonoides totais.

A avaliação da atividade antioxidante demonstrou que os extratos de folhas de *V. polyanthes*, especialmente o EE-50, possuem uma expressiva capacidade de inibir o radical livre DPPH, sugerindo um potencial significativo na neutralização de espécies reativas de oxigênio.

Quanto à atividade antibacteriana, os extratos EE-50, EE-70 e EE-100 mostraram-se eficazes contra oito das dez cepas de *E. coli* testadas, sendo o EE-100 o mais ativo, apresentando atividade antibacteriana moderada a fraca, com valores de CIM mais baixos em comparação aos outros extratos.

Em suma, os resultados indicam que os extratos etanólicos de folhas de *V. polyanthes* exibem potentes atividades antioxidante e antibacteriana, atribuídas principalmente à presença de ácidos fenólicos e flavonoides, respectivamente. No entanto, é importante ressaltar que a otimização das metodologias de extração pode contribuir para a obtenção de extratos com propriedades mais aprimoradas. Essas perspectivas abrem caminho para o desenvolvimento de derivados vegetais com potencial terapêutico no tratamento de distúrbios inflamatórios e infecciosos, como aqueles causados por UPEC.

## REFERÊNCIAS

---

- ADEOLU, M.; ALNAJAR, S.; NAUSHAD, S.; GUPTA, R. S. Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for *Enterobacterales* ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov., and *Budviciaceae* fam. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, p. 5575-5599, 2016.
- AL LAWATI, H.; BLAIR, B. M.; LARNARD, J. Urinary tract infections: core curriculum 2024. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 83, p. 90-100, 2023.
- ALMEIDA, L. M.; PRADO, A. D. L.; XAVIER-SILVA, K. R.; FIRMINO, M. T.; PAULA, M. I. M.; GOMES, P. N.; PAULA, J. A. M.; BAILÃO, E. F. L. C. Cytotoxic effect of *Vernonanthura polyanthes* leaves aqueous extracts. **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, p. 575-583, 2021.
- ALVES, V. F. G.; NEVES, L. J. Anatomia foliar de *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae). **Revista Universidade Rural**, Série Ciências da Vida, v. 22, p. 01-09, 2003.
- ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, p. 5-16, 2001.
- AYDIN, A.; AHMED, K.; ZAMAN, I.; KHAN, M. S.; DASGUPTA, P. Recurrent urinary tract infections in women. **International Urogynecology Journal**, v. 26, p. 795-804, 2015.
- BADER, M. S.; LOEB, M.; LETO, D.; BROOKS, A. A. Treatment of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance and new antimicrobial agents. **Postgraduate Medicine**, v. 132, p. 234-250, 2020.
- BALIYAN, S.; MUKHERJEE, R.; PRIYADARSHINI, A.; VIBHUTI, A.; GUPTA, A.; PANDEY, R. P.; CHANG, C. M. Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. **Molecules**, v. 27, p. 1-19, 2022.
- BARBASTEFANO, V.; COLA, M.; LUIZ-FERREIRA, A.; FARIAS-SILVA, E.; HIRUMALIMA, C. A.; RINALDO, D.; VILEGAS, W.; SOUZA-BRITO, A. R. M. *Vernonia polyanthes* as a new source of antiulcer drugs. **Fitoterapia**, v. 78, p. 545-551, 2007.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 629-643, 2010.
- BARTOLETTI, R.; CAI, T.; WAGENLEHNER, F. M.; NABER, K.; JOHANSEN, T. E. B. Treatment of urinary tract infections and antibiotic stewardship. **European Urology Supplements**, v. 15, p. 81-87, 2016.
- BERLINCK, R. G. S.; BORGES, W. S.; SCOTTI, M. T.; VIEIRA, P. C. A química de produtos naturais do Brasil do século XXI. **Química Nova**, v. 40, p. 706-710, 2017.

BRAGA, F. G.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. O.; MOREIRA, F. O.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 396-402, 2007.

BRAGA, M. C. **Histórico da utilização de plantas medicinais**. 2011. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso do Curso de Licenciatura em Biologia a Distância) - Consórcio Setentrional de Educação a Distância, Universidade de Brasília, Universidade Estadual de Goiás, Brasília, 2011.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste especialmente do Ceará**. 3ª ed. Mossoró: Escola Superior de Agricultura, 1976.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**. Brasília: ANVISA, 2011.

BRASIL. Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015. Regulamenta o inciso II do § 1º e o § 4º do art. 225 da Constituição Federal, o Artigo 1, a alínea *j* do Artigo 8, a alínea *c* do Artigo 10, o Artigo 15 e os §§ 3º e 4º do Artigo 16 da Convenção sobre Diversidade Biológica, promulgada pelo Decreto nº 2.519, de 16 de março de 1998; dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade; revoga a Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 21 mai. 2015.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **RENISUS - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. 2009. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/ppnmpf/ppnmpf/arquivos/2014/renisus.pdf>>. Acesso em 11 mai. 2024.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE E AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Monografia da espécie *Vernonia polyanthes* (“assa-peixe”)**. Brasília, 2014.

BRUMBAUGH, A. R.; MOBLEY, H. L. Preventing urinary tract infection: progress toward and effective *Escherichia coli* vaccine. **Expert Review of Vaccines**, v. 11, p. 663-676, 2012.

CARBONARI, K. A. **Avaliação do potencial antioxidante (*in vitro* e *in vivo*) e anti-inflamatório de *Ouratea parviflora*, *Polymnia sonchifolia* e *Marlierea obscura***. 2005. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

CHALLICE, J.; MARKHAM, U. R. Techniques of Flavonoid Identification. **Biologia Plantarum**, v. 26, p. 302-302, 1984.

CHAPMAN, R. Why do we need new antibiotics? 2020. Disponível em: <<https://wellcome.org/news/why-is-it-so-hard-develop-new-antibiotics>>. Acesso em: 02 jul. 2024.

CHEN, K.; PENG, C.; CHI, F.; YU, C.; YANG, Q.; LI, Z. Antibacterial and antibiofilm activities of chlorogenic acid against *Yersinia enterocolitica*. **Frontiers in Microbiology**, v. 13:885092, p. 1-14, 2022.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Tenth Edition**. CLSI document M07-A10. Wayne, PA, 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 30th ed.** CLSI supplement M100-S30. Wayne, PA, 2020.

CORRÊA, R. M.; BERTOLUCCI, S. K. B.; PINTO, J. E. B. P.; REIS, E. S.; ALVES, T. L. Rendimento de óleo essencial e caracterização organoléptica de folhas de assa-peixe submetidas a diferentes métodos de secagem. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 339-344, 2004.

DA COSTA, Y. F. G.; LLORENT-MARTÍNEZ, E. J.; FERNANDES, L. S.; DE FREITAS, P. H. S.; SCIO, E.; DE SOUSA, O. V.; CASTILHO, P. C.; ALVES, M. S. Phenolics profiling by HPLC-DAD-ESI/MS<sup>n</sup> of the scientific unknown *Polygonum hydropiperoides* Michx. and its antioxidant and anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* activities. **Plants**, v. 12, p. 1-15, 2023.

DA SILVA, A. C. R.; LOPES, P. M.; DE AZEVEDO, M. M. B.; COSTA, D. C. M.; ALVIANO, C. S.; ALVIANO, D. S. Biological activities of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene enantiomers. **Molecules**, v. 17, p. 6305-6316, 2012.

DA SILVA, E. P.; HERMINIO, V. L. Q.; MOTTA, D. N.; SOARES, M. B. P.; RODRIGUES, L. A. P.; VIANA, J. D.; DE FREITAS, F. A.; DA SILVA, A. P. G.; SOUZA, F. C. A.; VILAS BOAS, E. V. B. The role of phenolic compounds in metabolism and their antioxidant potential. **Research, Society and Development**, v. 11, p. 1-12, 2022.

DA SILVEIRA, R. R.; FOGLIO, M. A.; GONTIJO, J. A. R. Effect of the crude extract of *Vernonia polyanthes* Less. on blood pressure and renal sodium excretion in unanesthetized rats. **Phytotherapy**, v. 10, p. 127-131, 2003.

DE CARVALHO, C. C.; MACHADO, K. N.; FERREIRA, P. M. P. F.; PESSOA, C.; FONSECA, T.; H.; S.; GOMES, M. A.; DO NASCIMENTO, A. M. Biological screening of extracts of Brazilian Asteraceae plants. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 7, p. 2000-2005, 2013.

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, p. 303-336, 2012.

DHAKAL, B. K.; KULESUS, R. R.; MULVEY, M. A. Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic *Escherichia coli*. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 38, p. 2-11, 2008.

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

ELSHAFIE, H. S.; CAMELE, I.; MOHAMED, A. A. A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, p. 1-20, 2023.

ERB, M.; KLIEBENSTEIN, D. J. Plant secondary metabolites as defenses, regulators, and primary metabolites: the blurred functional trichotomy. **Plant Physiology**, v. 184, p. 39-52, 2020.

FENG, S.; ZHANG, Y.; FU, S.; LI, Z.; ZHANG, J.; XU, Y.; HAN, X.; MIAO, J. Application of chlorogenic acid as a substitutive for antibiotics in multi-drug-resistant *Escherichia coli*-induced mastitis. **International Immunopharmacology**, v. 114, p. 1-6, 2022.

FERNANDES, L. S. **Composição química e efeito antibiótico das frações diclorometânicas floral e foliar de *Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae Bercht. & J. Presl)**. 2019. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2019.

FERNANDES, L. S.; DA COSTA, Y. F. G.; DE BESSA, M. E.; FERREIRA, A. L. P.; DO AMARAL CORRÊA, J. O.; DEL-VECCHIO VIEIRA, G.; DE SOUSA, O. V.; ARAÚJO, A. L. S. M.; CASTILHO, P. C.; ALVES, M. S. Metabolic profiling and antibacterial activity of *Eryngium pristis* Cham. & Schlttdl. – prospecting for tis use in the treatment of bacterial infections. **Archives of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, p. 20-28, 2021.

FIROOZEH, F.; ZIBAEI, M.; BADMASTI, F.; KHALEDI, A. Virulence factors, antimicrobial resistance and the relationship between these characteristics in uropathogenic *Escherichia coli*. **Gene Reports**, v. 27, p. 101622, 2022.

FISCHER, N. H.; OLIVIER, E. J.; FISCHER, H. D. **The biogenesis and chemistry of sesquiterpene lactones. In: Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**. Vienna: Springer, 1979. p. 47-320.

FLORES-MIRELES, A. L.; WALKER, J. N.; CAPARON, M.; HULTGREN, S. J. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. **Nature Reviews in Microbiology**, v. 13, p. 269-284, 2015.

FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. Tyrosine and Tryptophan in Proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 73, p. 627-648, 1927.

FOXMAN, B. The epidemiology of urinary tract infections. **Nature Reviews Urology**, v. 7, p. 653-660, 2010.

FOXMAN, B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 28, p. 1-13, 2014.

- FRENT, O. D.; STEFAN, L.; MORGOVAN, C. M.; DUTEANU, N.; DEJEU, I. L.; MARIAN, E.; VICAS, L.; MANOLE, F. A systematic review: quercetin – secondary metabolite of the flavonol class, with multiple health benefits and low bioavailability. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, p. 1-47, 2024.
- GANESHPURKAR, A.; SALUJA, A. K. The pharmacological potential of rutin. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, p. 149-164, 2017.
- GAYNES, R. The discovery of penicillin - new insights after more than 75 years of clinical use. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, p. 849-853, 2017.
- GEERLINGS, S. E. Clinical presentations and epidemiology of urinary tract infections. **Microbiology Spectrum**, v. 45, p. 1-11, 2016.
- GEURTSSEN, J.; DE BEEN, M.; WEERDENBURG, E.; ZOMER, A.; McNALLY, A.; POOLMAN, J. Genomics and pathotypes of the many faces of *Escherichia coli*. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 46, p. fuac031, 2022.
- GITIRANA DE SANTANA, J. D.; SANTOS-MAYORGA, O. A.; FLORENCIO, J. R.; OLIVEIRA, M. C. C.; ALMEIDA, L. M. S.; XAVIER, J. O. L.; ZIMMERMANN-FRANCO, D. C.; MACEDO, G. C.; FERREIRA, A. L. P.; SOUSA, O. V.; SILVA-FILHO, A. A.; ALVES, M. S. *Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae Bercht. & Presl), a natural source of bioactive compounds with antibiotic effect against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v. 12, p. 1-16, 2023.
- GLOBAL AMR R&D HUB; WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Incentivising the development of new antibacterial treatments 2023**. 2023. Disponível em: <[https://cdn.who.int/media/docs/default-source/antimicrobial-resistance/amr-gcp-irc/incentivising-development-of-new-antibacterial-treatments-2023---progress-report.pdf?sfvrsn=72e4f738\\_3](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/antimicrobial-resistance/amr-gcp-irc/incentivising-development-of-new-antibacterial-treatments-2023---progress-report.pdf?sfvrsn=72e4f738_3)>. Acesso em: 02 jan. 2025.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.
- GRANDI, T. S. M. **Tratado das Plantas Medicinais Mineiras, Nativas e Cultivadas**. 1ª ed digital. Belo Horizonte: Adequatio Estúdio, 2014. 1204 p.
- GUERRA-SANTOS, I. J.; ROCHA, J. D.; VALE, C. R.; SOUSA, W. C.; TELES, A. M.; CHEN-CHEN, L.; CARVALHO, S.; BAILÃO, E. F. L. C. *Vernonanthura polyanthes* leaves aqueous extract enhances doxorubicin genotoxicity in somatic cells of *Drosophila melanogaster* and presents no antifungal activity against *Candida* spp. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, p. 928-936, 2016.
- GUO, F.; CHEN, Q.; LIANG, Q.; ZHANG, M.; CHEN, W.; CHEN, H.; YUN, Y.; ZHONG, Q.; CHEN, W. Antimicrobial activity and proposed action mechanism of linalool against *Pseudomonas fluorescens*. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 1-11, 2021.
- HOSSAIN, T. J. Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: a review of protocols, advantages, and limitations. **European Journal of Microbiology and Immunology**, v. 14, p. 97-115, 2024.

- IGUAL, M. O.; MARTUCCI, M. E. P.; DA COSTA, F. B.; GOBBO-NETO, L. Sesquiterpene lactones, chlorogenic acids and flavonoids from leaves of *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 51, p. 94-97, 2013.
- JORGETTO, G. V.; BORIOLO, M. F. G.; SILVA, L. M.; NOGUEIRA, D. A.; JOSÉ, T. D. S.; RIBEIRO, G. E.; OLIVEIRA, N. M. S.; FIORINI, J. E. Ensaio de atividade antimicrobiana *in vitro* e mutagênica *in vivo* com extrato de *Vernonia polyanthes* Less (assa-peixe). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, p. 53-61, 2011.
- KATZ, L.; BALTZ, R. H. Natural product discovery: past, present, and future. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 43, p. 155-176, 2016.
- KARAM, M. R. A.; HABIBI, M.; BOUZARI, S. Urinary tract infection: pathogenicity, antibiotic resistance and development of effective vaccines against uropathogenic *Escherichia coli*. **Molecular Immunology**, v. 108, p. 56-57, 2019.
- KAUR, R.; KAUR, R. Symptoms, risk factors, diagnosis and treatment of urinary tract infections. **Postgraduate Medical Journal**, v. 97, p. 803-812, 2021.
- KIM, D. S.; LEE, J. W. Urinary tract infection and microbiome. **Diagnostics**, v. 13, p. 1921, 2023.
- KIPLIMO, J. J. A review on the biological activity and the triterpenoids from the genus *Vernonia* (Asteraceae family). **International Research Journal of Pure and Applied Chemistry**, v. 11, p. 1-14, 2016.
- KLEIN, R. D.; HULTGREN, S. J. Urinary tract infections: microbial pathogenesis, host-pathogen interactions and new treatment strategies. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, p. 211-226, 2020.
- KOT, B. Antibiotic resistance among Uropathogenic *Escherichia coli*. **Polish Journal of Microbiology**, v. 68, p. 403-415, 2019.
- KUETE, V. Potential of Cameroonian plants and derived products against microbial infections: a review. **Planta Medica**, v. 76, p. 1479-1491, 2010.
- LANGFIELD, R. D.; SCARANO, F. J.; HEITZMAN, M. E.; KONDO, M.; HAMMOND, G. B.; NETO, C. C. Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galioides*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 279-281, 2004.
- LE, Y. J.; HE, L. Y.; LI, S.; XIONG, C. J.; LU, C. H.; YANG, X. Y. Chlorogenic acid exerts antibacterial effects by affecting lipid metabolism and scavenging ROS in *Streptococcus pyogenes*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 369, p. 1-8, 2022.
- LOPES, L. C.; MOTTER, F. R.; CARVALHO-SOARES, M. L. Consumption of antibiotics in Brazil – an analysis of sales data between 2014 and 2019. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 13, p. 1-10, 2024.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas Mediciniais no Brasil. Nativas e Exóticas**. 2<sup>a</sup> ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MANCUSO, G.; MIDIRI, A.; GERACE, E.; MARRA, M.; ZUMMO, S.; BIONDO, C. Urinary tract infections: the current scenario and future prospects. **Pathogens**, v. 12, p. 623, 2023.

MARQUES, V.; FARAH, A. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. **Food Chemistry**, v. 113, p. 1370-1376, 2009.

MARTUCCI, M. E. P.; DE VOS, R. C. H.; CAROLLO, C. A.; GOBBO-NETO, L. Metabolomics as a potential chemotaxonomical tool: application in the genus *Vernonia* Schreb. **PLoS ONE**, v. 9, p. 1-8, 2014.

MASYITA, A.; SARI, R. M.; ASTUTI, A. D.; YASIR, B.; RUMATA, N. R.; EMRAN, T. B.; NAINU, F.; SIMAL-GANDARA, J. Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their role in human health and potential application as natural food preservatives. **Food Chemistry: X**, v. 13, p. 1-14, 2022.

MAYORGA, O. A. S.; DA COSTA, Y. F. G.; DA SILVA, J. B.; SCIO, E.; FERREIRA, A. L. P.; DE SOUSA, O. V.; ALVES, M. S. *Kalanchoe brasiliensis* Cambess., a promising natural source of antioxidant and antibiotic agents against multidrug-resistant pathogens for the treatment of *Salmonella* gastroenteritis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, p. 1-15, 2019.

MAZUR, M.; SKROBISZEWSKI, A.; GŁADKOWSKI, W.; PODKOWIK, M.; BANIA, J.; NAWROT, J.; KLEJDYSZ, T.; WAWRZENCZYK, C. Lactones 46. Synthesis, antifeedant and antibacterial activity of  $\gamma$ -lactones with p-methoxyphenyl substituent. **Pest Management Science**, v. 72, p. 489-496, 2015.

MEDINA, M.; CASTILLO-PINO, E. An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. **Therapeutics Advances in Urology**, v. 11, p. 3-7, 2019.

MENGISTU, D. A.; ALEMU, A.; ABDUKADIR, A. A. MOHAMMED HUSEN, A.; AHMED, F.; MOHAMMED, B. Incidence of urinary tract infection among patients: systematic review and meta-analysis. **INQUIRY: The Journal of Health Care Organization, Provision, and Financing**, v. 60, p. 1-12, 2023.

MEŠTROVIĆ, T.; MATIJAŠIĆ, M.; PERIĆ, M.; PALJETAK, H. Č.; BAREŠIĆ, ANJA; VERBANAC, D. The role of gut, vaginal, and urinary microbiome in urinary tract infections: from bench to bedside. **Diagnostics (Basel)**, v. 11, p. 7, 2021.

MINATELI, M. M. **Investigação do potencial toxicológico e atividades farmacológicas de *Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae)**. 2015. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2015.

MINATELI, M. M.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; YAMAMOTO, C. H.; ARAUJO, A. L. S. M.; RODARTE, M. P.; ALVES, M. S.; SOUSA, O. V. Phytochemical contents and biological properties of *Vernonia polyanthes* Less. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 8, p. 1427-1436, 2017.

MIR, R. H.; MOHI-UD-DIN, R.; MIR, P. A.; MAQBOOL, M.; BANDAY, N.; FAROOQ, S.; RAZA, S. N.; CHAWLA, P. A. Chapter 18 - Therapeutic potential of plant-derived flavonoids against inflammation. In: PRASHER, P.; ZACCONI, F.; DUA, K.; RATHBONE, M.; WITHEY, J. **Recent Developments in anti-inflammatory therapy**. 1<sup>st</sup> ed. Cambridge: Academic Press, 2023. p. 279-293.

MITITELU, M.; OLTEANU, G.; NEACȘU, S. M.; STOICESCU, I.; DUMITRESCU, D.-E.; GHEORGHE, E.; TARCEA, M.; BUSNATU, S. S.; IONIȚĂ-MÎNDRICAN, C.-B.; TAFUNI, O.; BELU, I.; POPESCU, A.; LUPU, S.; LUPU, C. E. Incidence of urinary infections and behavioral risk factors. **Nutrients**, v. 16, p. 446, 2024.

MOREIRA, R. R. D.; MARTINS, G. Z.; VARANDAS, R.; COGO, J.; PEREGO, C. H.; RONCOLI, G.; SOUSA, M. D. C.; NAKAMURA, C. V.; SALGUEIRO, L.; CAVALEIRO, C. Composition and leishmanicidal activity of the essential oil of *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae). **Natural Product Research**, v. 31, p. 2905-2908, 2017.

MOURA, A. C.; LISBOA, C. O.; POL-FACHIN, L.; SOBRINHO, C. M. T. R.; MALTA, P. H. O.; FERREIRA, B. K. A.; COSTA, G. V. C. O.; BORGES, I. C. M. Perfil epidemiológico das internações por cistite no Brasil entre 2018 e 2022. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 7, p. 1-14, 2024.

MURASE, L. S.; DE SOUZA, J. V. P.; MENEGUELLO, J. E.; PALOMO, C. T.; MILARÉ, A. C. F. H. R.; NEGRI, M.; SIQUEIRA, V. L. D.; DEMARCHI, I. G.; TEIXEIRA, J. J. V.; CARDOSO, R. F. Antibacterial and immunological properties of piperine evidenced by preclinical studies: a systematic review. **Future Microbiology**, v. 18, p. 1279-1299, 2023.

NAVES, F. F.; POVH, J. A. Diversidade e potencial antioxidante de espécies de Asteraceae no Cerrado do Pontal do Triângulo Mineiro. **Brazilian Geographical Journal: Geosciences and Humanities research medium**, v. 15, p. 24-33, 2024.

NAWAZ, H.; SHAD, M. A.; REHMAN, N.; ANDALEEB, H.; ULLAH, N. Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56:e17129, p. 1-9, 2020.

NEWMAN, D. J; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, p. 770-803, 2020.

NGUYEN, V.; TAINE, E. G.; MENG, D.; CUI, T.; TAN, W. Chlorogenic acid: a systematic review on the biological functions, mechanistic actions, and therapeutic potentials. **Nutrients**, v. 16, n. 924, p. 1-36, 2024.

OLIVEIRA, D. G.; PRINCE, K. A.; HIGUCHI, C. T.; SANTOS, A. C. B.; LOPES, L. M. X.; SIMÕES, M. J. S.; LEITE, C. Q. F. Antimycobacterial activity of some Brazilian indigenous medicinal drinks. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, p. 165-169, 2007.

OLIVEIRA, J. S. S.; SANTOS, G. S. S.; MORAES, J. A.; SALIBA, A. M.; BARJA-FIDALGO, T. C.; MATTOS-GUARALDI, A. L.; NAGAO, P. E. Reactive oxygen species generation mediated by NADPH oxidase and PI3K/Akt pathways contribute to invasion of *Streptococcus agalactiae* in human endothelial cells. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, p. e140421, 2018.

OLSON, P.; DUDLEY, A. G.; ROWE, C. K. Contemporary management of urinary tract infections in children. **Current Treatment Options in Pediatrics**, v. 8, p. 192-210, 2022.

POKHAREL, P.; DHAKAL, S.; DOZOIS, C. M. The diversity of *Escherichia coli* pathotypes and vaccination strategies against this versatile bacterial pathogen. **Microorganisms**, v. 11, p. 344, 2023.

PROCOP, G. W.; CHURCH, D. L.; HALL, G. S.; JANDA, W. M.; KONEMAN, E. W.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WOODS, G. L. **Koneman Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan Ltda., 2018.

RAEISPOUR, M.; RANJBAR, R. Antibiotic resistance, virulence factors and genotyping of uropathogenic *Escherichia coli* strains. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 7, p. 118, 2018.

RESHI, Z. A.; AHMAD, W.; LUKATKIN, A. S.; JAVED, S. B. From nature to lab: a review of secondary metabolite biosynthetic pathways, environmental influences, and *in vitro* approaches. **Metabolites**, v. 13, p. 1-23, 2023.

ROCHA, L. P. B.; ALVES, J. V. O.; AGUIAR, I. F. S.; SILVA, F. H.; SILVA, R. L.; ARRUDA, L. G.; NASCIMENTO-FILHO, E. J.; BARBOSA, B. V. D. R.; AMORIM, L. C.; SILVA, P. M.; SILVA, M. V. Uso de plantas medicinais: histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, p. 1-11, 2021.

RODRIGUES, K. C. M. **Caracterização química e investigação das atividades antibacteriana e anti-inflamatória tópica de *Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae)**. 2013. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

RODRIGUES, K. C. M.; CHIBLI, L. A.; SANTOS, B. C. S.; TEMPONI, V. S.; PINTO, N. C. C.; SCIO, E.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; ALVES, M. S.; SOUSA, O. V. Evidence of bioactive compounds from *Vernonia polyanthes* leaves with topical anti-inflammatory potential. **International Journal of Molecular Sciences (Online)**, v. 17, p. 1929, 2016.

SASIDHARAN, S.; CHEN, Y.; SARAVANAN, D.; SUNDRAM, K. M.; LATHA, L. Y. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plant's extracts. **African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines**, v. 8, p. 1-10, 2011.

SEO, J.; LEE, S.; ELAM, M. L.; JOHNSON, S. A.; KANG, J.; ARJMANDI, B. H. Study to find the best extraction solvent for use with guava leave (*Psidium guajava* L.) for high antioxidant efficacy. **Food Science & Nutrition**, v. 2, p. 174-180, 2014.

SHAH, C.; BARAL, R.; BARTAULA, B.; SHRESTHA, L. B. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) and correlation with antimicrobial resistance. **BMC Microbiology**, v. 19, p. 1-6, 2019.

SILVA, N. C. C.; BARBOSA, L.; SEITO, L. N.; FERNANDES JUNIOR, A. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants. **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**, v. 26, p. 1510-1514, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. DE MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004.

SLÁMOVÁ, K.; KAPEŠOVÁ, J.; VALENTOVÁ, K. “Sweet flavonoids”: glycosidase-catalyzed modifications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 1-19, 2018.

SOUSA, O. V.; MINATELI, M. M.; ALVES, M. S.; DENADAI, A. M. L.; SILVA FILHO, A. A.; YAMAMOTO, C. H.; AMARAL, M. P. H.; DEL-VECHIO VIEIRA, G. **Creme dermatológico contendo extrato etanólico de *Vernonia polyanthes* com efeito cicatrizante**. Depositante: Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). BR 10 2016 029593 9. Depósito: 16 dez. 2016.

TABASI, M.; KARAM, M. R. A.; HABIBI, M.; YEKANINEJAD, M. S.; BOUZARI, S. Phenotypic assays to determine virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) isolates and their correlation with antibiotic resistance pattern. **Osong Public Health and Research Perspectives**, v. 6, p. 261-268, 2015.

TAN, Z.; DENG, J.; YE, Q.; ZHANG, Z. The antibacterial activity of natural-derived flavonoids. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 22, p. 1009-1019, 2022.

TANDOGDU, Z.; WAGENLEHNER, F. M. E. Global epidemiology of urinary tract infections. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 29, p. 73-79, 2016.

TAUB, J. W.; BUCK, S. A.; XAVIER, A. C.; EDWARDS, H.; MATHERLY, L. H.; GE, Y. The evolution and history of Vinca alkaloids: from the Big Bang to the treatment of pediatric acute leukemia. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 71, p. 1-8, 2024.

TEMPONI, V. S. **Investigação química e atividades farmacológicas de *Vernonia polyanthes* Less.** 2012. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.

TEMPONI, V. S.; SILVA, J. B.; ALVES, M. S.; RIBEIRO, A.; PINHO, J. J. R. G.; YAMAMOTO, C. H.; PINTO, M. A. O.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; SOUSA, O. V. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of ethanol extract from *Vernonia polyanthes* leaves in rodents. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 3887-3899, 2012.

TERLIZZI, M. E.; GRIBAUDO, G.; MAFFEI, M. E. UroPathogenic *Escherichia coli* (UPEC) infections: virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1566, 2017.

TIFFANY, C. R.; BÄUMLER, A. J. Dysbiosis: from fiction to function. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 317, p. G602-G608, 2019.

TIBYANGYE, J.; OKECH, M.; NYABAYO, J.; NAKAVUMA, J. *In vitro* antibacterial activity of *Ocimum suave* essential oils against uropathogens isolated from patients in selected hospitals in Bushenyi district, Uganda. **British Microbiology Research Journal**, v. 8, p. 489-498, 2015.

TUNGMUNNITHUM, D.; THONGBOONYOU, A.; PHOLBOON, A.; YANGSABAI, A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: an overview. **Medicines (Basel)**, v. 5, p. 93, 2018.

TZANOVA, M.; ATANASOV, V.; YANEVA, Z.; IVANOVA, D.; DINEV, T. Selectivity of current extraction techniques for flavonoids from plant materials. **Processes**, v. 8, p. 1-30, 2020.

WALTRICH, K. K.; HOSCHEID, J.; PROCHNAU I. S. Antimicrobial activity of crude extracts and fractions of *Vernonia polyanthes* Less (assa-peixe) flowers. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.17, p.909-914, 2015.

WHELAN, S.; LUCEY, B.; FINN, K. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC)-associated urinary tract infections: the molecular basis for challenges to effective treatment. **Microorganisms**, v. 11, p. 2169, 2023.

WICKS, C.; HUDLICKY, T.; RINNER, U. Chapter Two - Morphine alkaloids: history, biology, and synthesis. **The Alkaloids: Chemistry and Biology**, v. 86, p. 145-342, 2021.

WORLD FLORA ONLINE (WFO). *Vernonia polyanthes* Less. 2024. Disponível em: <<https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000002520;jsessionid=804FC0C019673FF0F27ED4E5A3EA6257>>. Acesso em: 30 dez. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance**. Geneva: WHO, 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global antimicrobial resistance and surveillance system (GLASS) report 2022**. Geneva: WHO, 2022.

XICOHTENCATL-CORTES, J.; OCHOA, S. A.; CRUZ-CÓRDOVA, A.; FLORES-OROPEZA, M. A.; HERNÁNDEZ-CASTRO, R. New strategies for the prevention of urinary tract infections by uropathogenic *Escherichia coli*. In: HEGAZY, W. **Urinary tract infections - New insights**. 1<sup>st</sup> ed. Rijeka: IntechOpen, 2023. p. 1-26

YAN, Y.; LI, X.; ZHANG, C.; LV, L.; GAO, B.; LI, M. Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: a review. **Antibiotics**, v. 10, p. 1-30, 2021.

YASSIN, A.; KAYE, K. S.; BHOWMICK, T. Urinary tract infection treatment: when to use what agents including beta-lactam combination agents. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 38, p. 295-310, 2024.

ZALEWSKA-PIĄTEK, B. M.; PIĄTEK, R. J. Alternative treatment approaches of urinary tract infections caused by uropathogenic *Escherichia coli* strains. **Acta Biochimica Polonica**, v. 66, p. 129-138, 2019.

ZHANG, Y.; CAI, P.; CHENG, G.; ZHANG, Y. A brief review of phenolic compounds identified from plants: their extraction, analysis, and biological activity. **Natural Product Communications**, v. 17, p. 1-14, 2022.

ZHANG, Y.; JIAO, F.; ZENG, D.; YU, X.; ZHOU, Y.; XUE, J. YANG, W.; GUO, J. Synergistic effects of *Pyrrrosia lingua* caffeoylquinic acid compounds with levofloxacin against uropathogenic *Escherichia coli*: insights from molecular dynamics simulations, antibiofilm, and antimicrobial assessments. **Molecules**, v. 29, p. 5679, 2024.

ZHOU, Y.; ZHOU, Z.; ZHENG, L.; GONG, Z.; LI, Y.; JIN, Y.; HUANG, Y.; CHI, M. Urinary tract infections caused by uropathogenic *Escherichia coli*: mechanisms of infection and treatment options. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, p. 10537, 2023.

ZENG, Z.; ZHAN, J.; ZHANG, K.; CHEN, H.; CHENG, S. Global, regional, and national burden of urinary tract infections from 1990 to 2019: an analysis of the global burden of disease study 2019. **World Journal of Urology**, v. 40, p. 755-763, 2022.