

**Avaliação da atividade antioxidante e citotóxico in vitro do óleo
essencial de curcuma zedoaria (christm.) Roscoe**

**Evaluation of in vitro antioxidant and cytotoxic activity of curcuma
zedoaria (christm.) Roscoe
Essential oil**

DOI:10.34117/bjdv7n11-481

Recebimento dos originais: 12/10/2021

Aceitação para publicação: 25/11/2021

Luna, F.D.L.

Laboratório de Análises Química e Biológica (LAQB), Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO), Avenida Manuel Caldeira de Alvarenga, 1203, Campo Grande, Rio de Janeiro, Brasil

Pinto, R.A

Laboratório de Fitossanidade, IFMT Campus Cáceres, Avenida Europa, 3000, Bairro: Vila Real, Distrito Industrial Cáceres, MT, Brasil

Pinto, J.M.

Laboratório de Fitossanidade, IFMT Campus Cáceres, Avenida Europa, 3000, Bairro: Vila Real, Distrito Industrial Cáceres, MT, Brasil

Nascimento, C.C.H. da C.

Laboratório de Análises Química e Biológica (LAQB), Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO), Avenida Manuel Caldeira de Alvarenga, 1203, Campo Grande, Rio de Janeiro, Brasil

Barreto, A.S.

Laboratório de Análises Química e Biológica (LAQB), Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO), Avenida Manuel Caldeira de Alvarenga, 1203, Campo Grande, Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: alaide.barreto28@gmail.com

Feliciano, G.D

Laboratório de Análises Química e Biológica (LAQB), Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO), Universidade Estácio de Sá
Avenida Manuel Caldeira de Alvarenga, 1203, Campo Grande, Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: glauciodire@hotmail.com

RESUMO

Curcuma zedoaria (Christm.) Roscoe é uma planta herbácea e rizomatosa da família Zingiberaceae. As folhas e os rizomas do gênero Curcuma são fontes de óleos essenciais utilizados na indústria química, farmacêutica e de alimentos devido a sua ação antioxidante. O óleo essencial de Curcuma zedoaria possui potente atividade citotóxica, antioxidante e inibe a proliferação celular de diversos tipos de cânceres. Apesar da sua importância biológica e econômica verificamos ausência na literatura de ensaios in vitro

com método de difusão em culturas de *Escherichia coli* BW9091 e AB1157 sob a ação de agentes oxidantes (SnCl_2 e H_2O_2) que atacam o DNA cromossômico e nucleotídeos livres e de estudos que descrevam a ação do óleo essencial com o antibiótico amoxicilina. Vale ressaltar que as cepas *Escherichia coli* AB1157 e BW9091 apresentam, respectivamente, todos os mecanismos de reparos funcionantes para o reparo de DNA e uma deficiência na exonuclease III (xthA-), isto é, deficiência nos sistemas envolvidos na correção de danos oxidativos do DNA por excisão de bases (BER). Já o antibiótico amoxicilina tem mobilizado a atenção e preocupação em serviços hospitalares devido ao aumento de casos de resistência microbiana. Verificou-se, neste estudo que óleo essencial de *Curcuma zedoaria* inibiu as cepas *Escherichia coli* BW9091 nas concentrações de 12 e 24 μL . Contudo, a diferença na concentração foi, ligeiramente, mais perceptiva em *Escherichia coli* AB1157 ($p < 0,001$) do que com a *Escherichia coli* BW9091 ($p < 0,01$). É provável que a presença do gene mutante na cepa *Escherichia coli* BW9091 tenha promovido um aumento da resistência ao efeito inibitório do óleo essencial. Verificamos que o óleo essencial de *Curcuma zedoaria* nas concentrações de 24 e 12 μL apresentou potencial inibitório em ambas as cepas de *Escherichia coli*. Verificou-se, em *Escherichia coli* AB 1157, que a associação entre o óleo essencial e amoxicilina na concentração de 12 μL apresentou um halo de inibição maior do que quando administrado com o antibiótico isolado. O teste Turkey Kramer demonstrou que houve uma diferença significativa ($p < 0,001$) entre as médias desses halos. A associação de óleo essencial com o cloreto estanoso 12 μL teve seu efeito citotóxico potencializado com ambas as cepas. Entretanto, em *Escherichia coli* AB 1157 o halo de inibição foi menor, demonstrando que o óleo essencial pode exercer um efeito sinérgico quando associado ao cloreto estanoso. Vale a pena ressaltar que essas diferenças foram significativas ($p < 0,01$) tanto para *Escherichia coli* AB1157 e BW9091. Já no controle positivo do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) + 12 μL do óleo essencial observamos aumento na ação oxidativa na cepa AB1157. Portanto, concluímos que o óleo essencial tem potencial farmacológico como princípio ativo natural; exerceu atividades antioxidante e antimicrobiana sobre as cepas de *Escherichia coli* testadas e potencializou o efeito inibitório quando associado ao antibiótico amoxicilina.

Palavras-Chave: Óleo essencial, *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, *Escherichia coli* BW 9091 e AB1157, antimicrobiano, antioxidante.

ABSTRACT

Curcuma zedoaria (Christm.) Roscoe is a herbaceous and rhizomatous plant of the Zingiberaceae family. The leaves and rhizomes of the *Curcuma* genus are sources of essential oils used in the chemical, pharmaceutical and food industries due to their antioxidant action. The essential oil of *Curcuma zedoaria* has potent cytotoxic and antioxidant activity and inhibits cell proliferation in several types of cancers. Despite its biological and economic importance, we verified an absence in the literature of in vitro assays with diffusion method in cultures of *Escherichia coli* BW9091 and AB1157 under the action of oxidizing agents (SnCl_2 and H_2O_2) that attack the chromosomal DNA and free nucleotides and of studies that describe the action of the essential oil with the antibiotic amoxicillin. It is noteworthy that the strains *Escherichia coli* AB1157 and BW9091 have, respectively, all the repair mechanisms functioning for DNA repair and a deficiency in exonuclease III (xthA-), that is, deficiency in the systems involved in the correction of oxidative damage to DNA by base excision (BER). The antibiotic amoxicillin has mobilized attention and concern in hospital services due to the increase in cases of microbial resistance. In this study, it was found that essential oil of *Curcuma*

zedoaria inhibited *Escherichia coli* BW9091 strains at concentrations of 12 and 24 μL . However, the difference in concentration was slightly more noticeable in *Escherichia coli* AB1157 ($p < 0.001$) than in *Escherichia coli* BW9091 ($p < 0.01$). It is likely that the presence of the mutant gene in the *Escherichia coli* BW9091 strain promoted an increase in resistance to the inhibitory effect of the essential oil. We verified that the essential oil of *Curcuma zedoaria* at concentrations of 24 and 12 μL presented inhibitory potential in both strains of *Escherichia coli*. In *Escherichia coli* AB 1157, it was found that the association between the essential oil and amoxicillin at a concentration of 12 μL presented a greater inhibition halo than when administered with the antibiotic alone. The Turkey Kramer test showed that there was a significant difference ($p < 0.001$) between the means of these halos. The association of essential oil with 12 μL stannous chloride had its cytotoxic effect potentiated with both strains. However, in *Escherichia coli* AB 1157, the inhibition halo was smaller, demonstrating that the essential oil can exert a synergistic effect when associated with stannous chloride. It is worth noting that these differences were significant ($p < 0.01$) for both *Escherichia coli* AB1157 and BW9091. In the positive control of hydrogen peroxide (H_2O_2) + 12 μL of the essential oil, we observed an increase in the oxidative action of the AB1157 strain. Therefore, we conclude that the essential oil has pharmacological potential as a natural active ingredient; exerted antioxidant and antimicrobial activities on the tested *Escherichia coli* strains and potentiated the inhibitory effect when associated with the antibiotic amoxicillin.

Keywords: Essential oil, *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, *Escherichia coli* BW 9091 and AB1157, antimicrobial, antioxidant.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas têm-se observado um crescente interesse pelas espécies que apresentam propriedades antioxidantes. Diversos estudos têm demonstrado que o consumo diário e o uso de substâncias antioxidantes, podem promover uma ação protetora efetiva contra as espécies reativas de oxigênio (ROS) produzidos por doenças virais, como a COVID-19 (ZHANG, 2020) e/ ou resultante do metabolismo celular produzidos por diversos estímulos fisiológicos e ambientais (SILVA et al., 2020). As principais substâncias com alta capacidade antioxidantes e anti-inflamatórias são: as vitaminas C e E, carotenóides, fenólicos e óleos essenciais (IDDIR et al., 2020). *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe é uma planta herbácea e rizomatosa nativa do Ceilão, Indonésia, China e Índia (NADKARNI, 1999). As folhas e os rizomas do gênero *Curcuma* são fontes de óleos essenciais (DOSOKY & SETZER, 2018). Singh et al., (2013) observaram em ensaios in vitro que óleo essencial de rizomas de *C. zedoaria* é um antioxidante eficaz quando comparado aos compostos antioxidantes convencionais, como hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT) e galato de propila (PG). O óleo essencial de *C. zedoaria* possui potente atividade citotóxica; inibe a proliferação de cânceres de células estreladas hepáticas, células do melanoma de camundongo (B16BL6), células de hepatoma humano (SMMC-7721) e células HL-60 (DOSOKY & SETZER, 2018). O óleo

essencial de *C. zedoaria* apresentou efeitos citotóxicos contra células de carcinoma pulmonar de células não pequenas (NSCLC) via apoptose; inibiu a angiogênese induzida pelo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) *in vitro* e a angiogênese tumoral *in vivo* através de metaloproteinases de matriz de regulação negativa (DOSOKY & SETZER, 2018). O óleo essencial do rizoma de *C. zedoaria* é composto, principalmente, de sesquiterpenóides (80–85%) e monoterpenóides (15–20%) (DOSOKY & SETZER, 2018). Apesar da importância econômica e biológica deste óleo, verificamos na literatura a ausência de ensaios *in vitro* que avaliem: a interferência deste na sobrevivência de culturas da mutante *Escherichia coli* BW9091 deficiente na exonuclease III (*xthA*-), isto é, nos sistemas envolvidos na correção de danos oxidativos do DNA por excisão de bases (BER) e AB1157 (cepa selvagem que apresenta todos os mecanismos de reparos funcionantes para o reparo de DNA; ensaios que descrevam a ação de agentes oxidantes (SnCl_2 e H_2O_2) que atacam o DNA cromossômico e nucleotídeos livres e de estudos que descrevam a ação do óleo essencial quando utilizado conjuntamente com o antibiótico amoxicilina, uma vez que este antibiótico mobiliza a atenção e preocupação em serviços hospitalares devido ao aumento de casos de resistência microbiana (COLE & BARNARD, 2021; O'NEILL . 2015; BRASIL, 2012).

2 MATERIAIS E MÉTODO

2.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Análises Químicas e Biológicas (LAQB) Fundação Centro Universitário Estadual da da Zona Oeste (UEZO) em Campo Grande. Os rizomas frescos de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe (Zingiberaceae) foram coletados e enviadas pelos pesquisadores Dr. Jonas Alves e Dra. Rute Alves (Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso Campus Cáceres – Professor Olegário Baldo).

2.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL (OE) DA CURCUMA ZEDOARIA

Os rizomas frescos de *C. zedoaria* (1,243 Kg) foram cortados, introduzidos em balões de fundo redondo de 500 mL e submetidos a hidrodestilação por período de 4 horas, no aparelho do tipo Clevenger. A temperatura foi mantida a 100 °C, até que água entrasse em ebulição, em seguida reduziu-se a temperatura para 70 °C. Esta temperatura (70°C) foi mantida até a total obtenção do óleo essencial. O óleo obtido (7,5 mL) foi dividido em 5 frascos de 1,5 mL. Os frascos foram vedados com papel alumínio,

acondicionados em um Becker e levados ao freezer (-20 °C), para posterior ensaio biológico.

2.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE - ENSAIO IN VITRO CEPAS BACTERIANAS ESCHERICHIA COLI BW9091 E AB 1157

Foram pesados 45,6 g do meio desidratado Ágar Nutrient em balança semi analítica (Bel Engineering, Modelo M 5202, Itália) e adicionou-se 1050 mL de água destilada. O meio de cultura foi homogeneizado sob aquecimento até a sua inteira dissolução. A solução preparada foi vertida em 3 vidros com rosca, ambos com capacidade de 400 mL. Em seguida foram embaladas e autoclavada a 121 °C por 15 minutos a pressão de 1 atm. Em uma cabine de segurança biológica (Pachane, Modelo, Pa 400 ECO, Brasil), 50 mL do meio de cultura foi vertido em 15 placas de Petri de vidro de 150 mm, e resfriados a temperatura ambiente, até sua completa solidificação. As amostras de cada cepa bacteriana utilizada no experimento foram retiradas do estoque refrigerado do LAQB e colocadas cada qual em um tubo de ensaio com tampa de rosca contendo 3 mL de caldo soja tripticaseína (TSB), para posterior reativação das cepas. Os tubos foram homogeneizados e incubados em estufa bacteriológica (Solab, Modelo SL-101, Brasil) à 37 °C por 24 horas. Após o tempo de incubação, os tubos com as cepas já ativadas foram retirados da estufa foi feita a semeadura em meio seletivo ágar Miller Hinton, através da técnica de esgotamento em placa de Petri, com a finalidade de isolar as colônias. As placas foram incubadas à 37 °C durante 24 h em estufa bacteriológica. Após esse período, as amostras de unidades formadoras de colônias (UFC) foram introduzidas em tubos de ensaio com tampa, contendo 5 mL de solução fisiológica (NaCl 0,9 %), seguindo a padronização de turbidez da escala de McFarland, cujo índice 0,5 equivale a $1,5 \times 10^8$ UFC. mL⁻¹. Com o auxílio de swabs estéreis, essas suspensões foram semeadas por técnica de esgotamento em placas de Petri preparadas em temperatura ambiente. O procedimento experimental com as cepas foi todo realizado em cabine de segurança biológica (Pachene, Modelo Pa 400ECO, Brasil) higienizada com álcool 70% e luz UV por 15 minutos e em triplicatas. A preparação das amostras seguiu a seguinte ordem: amoxicilina 50 mg em pó na concentração de 250 mg. 5mL⁻¹ (Laboratório Neoquímica), dissolvida em eppendorf com 1 mL de água destilada e cloreto estano 5 mg acondicionado em eppendorf, diluído com 1 mL de água destilada, sob agitação manual. Foram preparados também eppendorfs contendo OE puro de *C. zedoaria*, e

peróxido de hidrogênio na concentração de 3%. Em placas de petri (150 mm) foram adicionados discos, com o auxílio de pinça estéril. Posteriormente, foram aplicadas as amostras com auxílio de pipetas graduadas, de acordo com a ordem e concentrações estabelecidas na tabela 1. O experimento foi realizado em triplicata. Após vinte quatro horas de incubação das placas à 37 °C, os halos de inibição total foram mensurados. Para a leitura dos resultados foi utilizada uma régua para medição de halos em antibiograma da marca Laborclin. A análise estatística com os resultados obtidos, foi realizada com auxílio do GraphPad (GraphPad Software, Inc., Estados Unidos) e teste correlativo de Tukey-Kramer, a fim de determinar diferenças estatísticas significantes ($p \leq 0,01$).

Tabela 1. Esquema de Placas e Discos

Placa I	Disco	Solução
	1	24 µL de solução salina a 0,9%
	2	24 µL de amoxicilina a 50mg/ mL
	3	12 µL de amoxicilina a 50mg/ mL
	4	12 µL de amoxicilina a 50mg/ mL + 12 µL de óleo essencial (OE)
	5	12 µL de OE
Placa II	Disco	Solução
	6	24 µL de OE
	7	8 µL de OE
	8	24 µL de de cloreto estanhoso (SnCl ₂)
	9	12 µL de de cloreto estanhoso (SnCl ₂)
	10	8 µL de de cloreto estanhoso (SnCl ₂)
Placa III	Disco	Solução
	11	12 µL de cloreto estanhoso (SnCl ₂) + 12 µL de OE
	12	2 µL de peróxido de hidrogênio + 12 µL de cloreto estanhoso
	13	12 µL de cloreto estanho + 12 µL de OE
	14	8 µL de peróxido de hidrogênio + 8 µL de cloreto estanhoso + 8 µL de OE
Placa IV	Disco	Solução
	15	24 µL de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)
	16	12 µL de H ₂ O ₂
	17	12 µL de H ₂ O ₂

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os diâmetros do halo de inibição da amoxicilina, óleo essencial (OE) de *C. zedoaria*, OE + amoxicilina e a média e desvio padrão dos halos são descritos nas tabelas 1 e 2 e nos gráficos 1 e 2. As análises estatísticas dos resultados dos testes microbiológicos, observados na Tabela 5 e 6. Os gráficos (1 e 2) foram obtidos pelo programa Graphpad (GraphPad Software, Inc., Estados Unidos) e apresentam a correlação entre os diferentes diâmetros do halo formado pela amoxicilina, óleo essencial de *C. zedoaria* e o resultado da associação entre o óleo essencial e o antibiótico. Os ensaios de difusão são métodos quantitativos, onde o efeito pode ser graduado. Seu fundamento está na difusão da substância a ser ensaiada, em um meio de cultura sólido e inoculado

com o microrganismo. Os resultados do teste de disco-difusão são interpretados comparando o valor do halo de inibição com os critérios publicados pelo CLSI (OSTROSKY et al., 2008; CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2005). Portanto, quanto maior o diâmetro do halo de inibição bacteriana, maior a ação da substância utilizada. O óleo essencial de *C. zedoaria* inibiu ambas as cepas *E. coli* BW9091 (mutante do gene *xthA*) e AB1157 (cepa do tipo selvagem) nas concentrações de 12 e 24 μ L (Tabela 3-4; Gráficos 3-4). Contudo, a diferença na concentração foi, ligeiramente, mais perceptiva pela cepa selvagem *E. coli* AB1157 ($p < 0,001$) do que com a *E. coli* BW9091 ($p < 0,01$) (Tabela 5 -6). A linhagem da espécie *E. coli* AB1157 apresenta todos os mecanismos genéticos de reparo de DNA eficientes. A *E. coli* BW9091 são sensíveis ao peróxido de hidrogênio que produz lesões oxidativas no DNA. A natureza das lesões responsáveis por tal fenótipo não é conhecida, mas, os radicais livres produzidos pelo peróxido de hidrogênio podem gerar quebras simples com terminais 3'PO₄ e a 9 Exonuclease III é responsável por mais de 99% da atividade 3'-fosfatase em *E. coli*. A Exonuclease III também ataca DNA contendo produtos de fragmentação de timina como resíduos de uréia, sugerindo que esta enzima tem um papel no reparo de lesões oxidativas do DNA em fase exponencial de crescimento (FRIEDBERG et al., 2005). É provável que a presença do gene mutante *xthA* na cepa *E. coli* BW9091 tenha promovido um aumento da resistência ao efeito inibitório do óleo essencial. A literatura sugere que o mecanismo de ação dos óleos essenciais (TONGNUANCHAN & BENJAKUL, 2014) sobre as bactérias é obtido devido a inativação das enzimas, lesões ao DNA, a formação de complexos com proteínas extracelulares, com proteínas solúveis e com a parede das células, destacando que a ruptura total das membranas bacterianas que pode ser atribuída a presença de compostos fenólicos e pequenos terpenos (DOSOKY & SETZER, 2018; CHAMPAKAEW et al., 2007; LAI et al. 2004; SINGH et al. 2003). Verificou-se que o antibiótico amoxicilina quando associado ao óleo essencial 12 μ L não influenciou no crescimento da cepa *E. coli* BW9091 (Tabela 2-5; Gráfico 1). Sendo interessante para a farmacologia, uma vez que ambos poderiam ser administrados juntos sem detrimento da resposta farmacológica e, concomitantemente, promover a diminuição da dose do antibiótico. Na cepa selvagem *E. coli* AB1157, observou-se que a associação entre o óleo essencial de *C. zedoaria* 12 μ L com a amoxicilina 12 μ L, obteve um halo de inibição maior do que quando administrado o antibiótico isolado (Gráfico 2). Os dados indicam que houve um efeito sinérgico, isto é, o OE potencializou o efeito do antibiótico. A tabela 5 mostrou que há uma diferença

significativa entre as médias desses halos confirmando, portanto, o efeito sinérgico do óleo essencial com o antibiótico amoxicilina na concentração 12 μ L para *E. coli* AB1157. KAR et al. (2003) avaliaram o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Curcuma longa*. Eles observaram que o citoesqueleto de bactérias é um alvo importante na terapia antimicrobiana, visto que suas proteínas são essenciais para viabilizar a vida destas bactérias. Os resultados deste estudo mostraram que a curcumina, principal componente majoritário do OE do açafrão (*Curcuma longa* L.), inibiu a formação do citoesqueleto das espécies *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*, e conseqüentemente seu crescimento em um determinado meio. É possível que este efeito inibitório as proteínas que compõem o citoesqueleto bacteriano estejam ocorrendo também em *C. zedoaria*. Lai et al. (2004) avaliaram, também, o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *C. zedoaria* em microrganismos Gram positivos (*Bacillus cereus*) e Gram negativos (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*). Os autores constataram que, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Vibrio parahaemolyticus* foram mais sensíveis, enquanto a cepa de *E. coli* apresentou maior resistência. Vale ressaltar que o OE de *C. zedoaria* potencializou a ação da amoxicilina 12 μ L do (Gráfico 2). Este resultado é bastante promissor pois a resistência antimicrobiana (AMR, da sigla em inglês para antimicrobial resistance) é considerada um dos desafios aos sistemas de saúde contemporâneos (O'NEILL, 2015). Em 2020, Rawson et al. encontraram uma prevalência de 8% de coinfeções bacterianas ou fúngicas em pacientes diagnosticados com Covid-19. Os autores destacaram que esse número é menor do que o encontrado em estudos com outros coronavírus. Para o SARS-CoV-1, por exemplo, a prevalência de coinfeções foi de 31% e para outros coronavírus, de 13%. Outros autores encontraram uma proporção maior de infecções por microrganismos multirresistentes em pacientes diagnosticados com Covid-19, quando comparados com pacientes internados por outras causas. Uma hipótese levantada é o uso aumentado de antibióticos de amplo espectro nessa população, levando a pressão seletiva de mecanismos de resistência. Nesse ponto, a potencialização de medicamentos existentes pelo OE de *C. zedoaria* poderá se tornar útil, em breve, no combate aos microrganismos multirresistentes (BENTIVEGNA et al., 2021; RAWSON, et al., 2020; COLE & BARNARD, 2020). Nas tabelas 3 (*Escherichia coli* BW 9091) e 4 (*Escherichia coli* AB 1157BW) são descritos os diâmetros do halo de inibição do cloreto estânico (SnCl_2), óleo essencial (OE), OE + SnCl_2 e as suas respectivas médias e desvio padrão. A ação antioxidante do óleo essencial da *C. zedoaria* foi determinada pelo método de difusão em

ágar em que os controles positivos utilizados foram o cloreto estanoso (SnCl_2) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). As médias aritméticas (Tabelas 3-4), foram comparadas no intuito de avaliar a proporcionalidade entre o diâmetro do halo de inibição, volume e tratamentos dos compostos associados óleo essencial de *C. zedoaria*. As análises dos resultados dos testes microbiológicos são descritas na Tabelas 3 e 4 e nos gráficos 3 e 4. Os gráficos foram obtidos pelo programa Graphpad (GraphPad Software, Inc., Estados Unidos) e apresentam a correlação entre os diferentes diâmetros dos halos formado na exposição aos agentes oxidantes e as suas respectivas associações com o óleo essencial. Os resultados das cepas, individualmente, foram comparados entre si e submetidos à análise de variância e as médias (Tabelas 3 – 4) foram comparadas pelo teste de Tukey e determinado o nível de significância entre eles (Tabelas 5 – 6). Observou-se que quando associado ao óleo essencial (Tabelas 3-4; Gráficos 3-4), o cloreto estanoso 12 μL teve seu efeito citotóxico potencializado sobre ambas as cepas (*E. coli* BW9091 e *E. coli* AB1157), essas diferenças foram significativas de acordo com o teste de Tukey-Kramer ($p < 0.01$ para *E. coli* AB1157 e $p < 0.001$ para *E. coli* BW9091; Tabela 5-6). Entretanto, na cepa *E. coli* AB1157 (Tabela 4; Gráfico 4) o halo de inibição foi menor, demonstrando que o óleo essencial pode exercer um efeito sinérgico quando associado ao cloreto estanoso. Já no controle positivo do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) + OE 12 μL , observamos que o óleo essencial aumentou a ação oxidativa do (H_2O_2) significativamente frente a cepa AB1157 e BW90 91 (Tabela 5-6). Em relação a associação entre, OE 8 μL + SnCl_2 8 μL + H_2O_2 8 μL , a ação antioxidante obteve resultado positivo frente ambas as cepas (Tabelas 3 - 6; Gráficos 3 e 4) utilizadas no experimento, demonstrando que o óleo essencial atua como um antioxidante, caracterizado dessa maneira por inibir a ação oxidativa tanto do SnCl_2 , quanto do H_2O_2 . Os efeitos citotóxicos e genotóxicos do agente oxidante SnCl_2 têm sido demonstrados em diferentes modelos experimentais e estes parecem ser mediados por radicais livres (ALMEIDA, 2012; EL-DEMERDASH et al., 2005). Moreno et al. (2004) relataram que um extrato de *Ginkgo biloba* foi capaz de proteger o DNA plasmídico das lesões induzidas pelo por SnCl_2 . De acordo a literatura, o cloreto estanoso provoca lesões, mediadas pela produção de espécies reativas de oxigênio, tanto in vivo quanto in vitro, os danos induzidos pelo SnCl_2 provocam diminuição da capacidade transformante do plasmídeo pUC9.1. O número de lesões acarretadas ao DNA é diretamente proporcional ao tempo de incubação com o SnCl_2 . Além disso, o íon estanoso é capaz de se associar à molécula de DNA, induzindo a geração de espécies reativas de oxigênio próximo ao local de ligação, promovendo

modificações na estrutura da macromolécula; essa associação parece acarretar um ataque preferencial às bases nitrogenadas, fato que poderia estar associado a uma potencialidade mutagênica do estanho (EL-DEMERDASH et al, 2005). A *E. coli* BW9091 não apresenta a produção das exonuclease III, mas produzem endonuclease IV. Friedberg et al. (2005), observou que as endonuclease IV, produto do gene *nfo*, seja mais importante que a exonuclease III, produto do gene *xthA* na reparação de sítios AP (AP endonucleases – endonucleases que reconhecem sítiosapurínicos ou apirimidínicos) gerados durante o reparo das lesões induzidas pelo SnCl₂. Essa afirmação se sustenta uma vez que a cepa BW9091 não se mostrou sensível ao tratamento realizado, fato que pode ser explicado pela presença da proteína endonuclease IV funcionante. Já o peróxido de hidrogênio, por sua vez, não é considerado um agente oxidante, entretanto, possui facilidade em se difundir por membranas e é capaz de induzir danos às moléculas de DNA, através de reações enzimáticas (LIOCHEV, 2013) e liberação de radicais livres, como OH. O radical hidroxila (OH•) é o mais reativo e, de natureza não seletiva, assim é um produto reativo e, via reação de Haber Weis ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO \cdot + HO^-$) ou reação de Fenton ($O_2 \cdot^- + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH \cdot + OH^-$) pode servir como importante precursor de HO• (ASGHAR, RAMAN, DAUD, 2015). O OH• tem a capacidade de inativar várias proteínas, inclusive as das membranas, estando também relacionado ao processo de peroxidação lipídica (FERREIRA & MATSUBARA, 1997). Friedberg et al. (2005) verificou que as bactérias mutantes para *xthA* são sensíveis a lesões oxidativas produzidas por agentes como as radiações UVA e UVB e o H₂O₂, sugerindo que esta enzima participe do reparo de lesões oxidativas. Esta evidência foi corroborada pela demonstração que a exonuclease III retira produtos da fragmentação de timinas, como, por exemplo, resíduos de uréia. A ação antioxidante é comum nos compostos bioativos das plantas. Esta ação deve-se ao potencial de óxido-redução de determinadas moléculas, após cederem ou receberem um elétron de outras moléculas instáveis, ou ainda, pela capacidade na modulação da expressão de genes que codificam proteínas envolvidas em mecanismos intracelulares de defesa contra processos oxidativos degenerativos de estruturas celulares, como os ácidos nucléicos (ALMEIDA, 2012). Óleos essenciais em geral atuam como antioxidantes (TONGNUANCHAN & BENJAKUL, 2014), devido sua capacidade em combater radicais livres, pela doação de um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática. Atuando como quelantes, inibidor da peroxidação lipídica e da oxidação do DNA (ALMEIDA, 2012). Muitas espécies da família Zingiberaceae como por exemplo, a *Curcuma longa*, apresentam propriedades

antioxidantes. Singh et al. (2010) afirmaram que o óleo essencial de *Curcuma longa* tem atividade antioxidante significativamente maior que os antioxidantes comerciais. Óleos essenciais e extratos de *Curcuma longa* (LI et al., 2011; LIJU et al., 2011) atividade antioxidante in vitro e CL50 para sequestros de superóxidos, radicais hidroxil, e peroxidação lipídica de 135 µg/ml, 200 µg/ mL, e 400 µg/ mL, respectivamente (LIJU et al., 2011). Os valores de CL50 pelo método DPPH para óleos essenciais rizomas de *Curcuma longa* frescas, secas e curadas foram 4,4, 3,5 e 3,9 mg/ml, respectivamente (GOUNDER & LINGAMALLU, 2012). O óleo essencial de *C. longa* exibiu atividade antioxidante de 10,30 mg/ mL pelo método de DPPH (AVANÇO et al., 2016).

Tabela 2. Comprimento dos halos no Disco 1, em culturas de *E. coli* BW9091 e AB1157 na presença de diferentes soluções.

Disco 1	<i>Escherichia coli</i> BW9091 - Comprimento dos halos (mm)				Solução	µL
	A	B	C	Média ± Desvio Padrão		
1	0	0	0	0,0 ± 0,00	Soro fisiológico	24
2	40	40	40	40 ± 0,00	Amoxicilina	24
3	45	40	40	41 ± 2,88	Amoxicilina	12
4	40	40	30	36 ± 5,77	Amoxicilina + OE	8
5	15	16	15	15 ± 0,57	Óleo essencial (OE)	12
	<i>Escherichia coli</i> AB1157 BW Comprimento dos halos (mm)					
1	0	0	0	0,0 ± 0,00	Soro fisiológico	24
2	35	40	30	35 ± 0,00	Amoxicilina	24
3	34	30	35	33 ± 1,77	Amoxicilina	12
4	30	35	35	33 ± 1,70	Amoxicilina + OE	12
5	9	8	8	8 ± 0,50	Óleo essencial	12

Tabela 3. Avaliação dos halos formados na exposição a agentes oxidantes e as respectivas associações ao óleo essencial de *Curcuma zedoaria* sobre a cepa de *E. coli* BW9091.

Disco 2	Comprimento dos halos dos halos (mm)			Solução	Média dos halos (mm) ± Desvio padrão	µL
	A	B	C			
6	10	10	10	OE	10 ± 0,00	24
7	0	0	0	OE	00 ± 0,00	8
8	7	7	7	SnCl ₂	7 ± 1,00	24
9	5	6	6	SnCl ₂	6 ± 0,57	12
10	0	0	0	SnCl ₂	00 ± 0,00	8
Disco 3						
11	10	11	10	SnCl ₂ +OE	11 ± 1,00	12
12	30	33	30	H ₂ O ₂ +SnCl ₂	32 ± 1,73	12
13	20	19	26	H ₂ O ₂ +OE	21 ± 3,78	12
14	30	25	25	SnCl ₂ + H ₂ O ₂ + OE	26 ± 2,88	8
Disco 4						
15	30	25	30	H ₂ O ₂	28 ± 2,88	24
16	20	30	30	H ₂ O ₂	26 ± 5,77	12
17	25	25	25	H ₂ O ₂	25 ± 0,00	8

Tabela 4. Avaliação dos halos formados na exposição a agentes oxidantes e as respectivas associações ao óleo essencial de Curcuma zedoaria sobre a cepa de E. coli AB1157.

Disco 2	Comprimento dos halos dos halos (mm)			Solução	Média dos halos (mm) ± Desvio padrão	µL
	A	B	C			
6	10	10	11	OE	10 ± 0,57	24
7	0	0	0	OE	00 ± 0,00	8
8	7	7	7	SnCl ₂	7 ± 1,00	24
9	5	6	6	SnCl ₂	7 ± 1,15	12
10	0	0	0	SnCl ₂	00 ± 0,00	8
Disco 3						
11	9	8	9	SnCl ₂ +OE	9 ± 0,57	12
12	40	33	31	H ₂ O ₂ +SnCl ₂	35 ± 4,72	12
13	38	35	35	H ₂ O ₂ +OE	34 ± 5,13	12
14	35	28	25	SnCl ₂ + H ₂ O ₂ +OE	29 ± 5,13	8
Disco 4						
15	38	41	42	H ₂ O ₂	40 ± 2,08	24
16	26	25	28	H ₂ O ₂	26 ± 1,52	12
17	19	21	23	H ₂ O ₂	21 ± 2,00	8

Gráfico 1. Resultado da ação antimicrobiana do óleo essencial de Curcuma zedoaria frente às cepas de E. coli BW 9091 (em associação com a amoxicilina e puro).

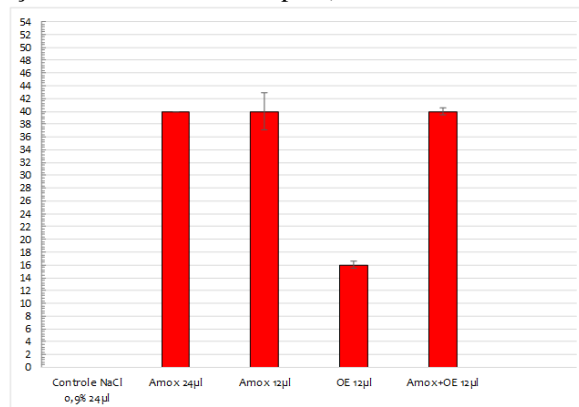


Gráfico 2. Resultado da ação antimicrobiana do óleo essencial de Curcuma zedoaria frente às cepas de E. coli AB1157 (em associação com amoxicilina e puro).

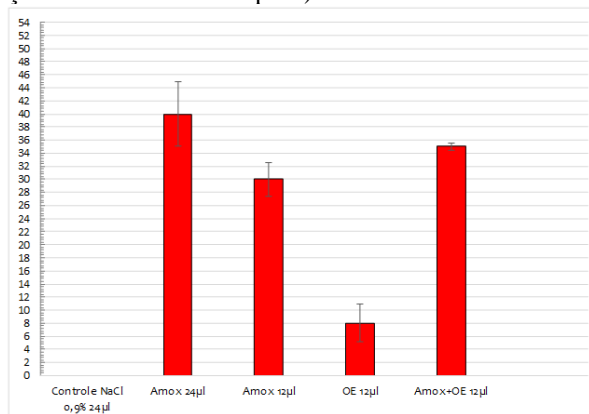


Gráfico 3 Resultado do teste de genotoxicidade e citotoxicidade do óleo essencial frente às cepas de E. coli BW9091.

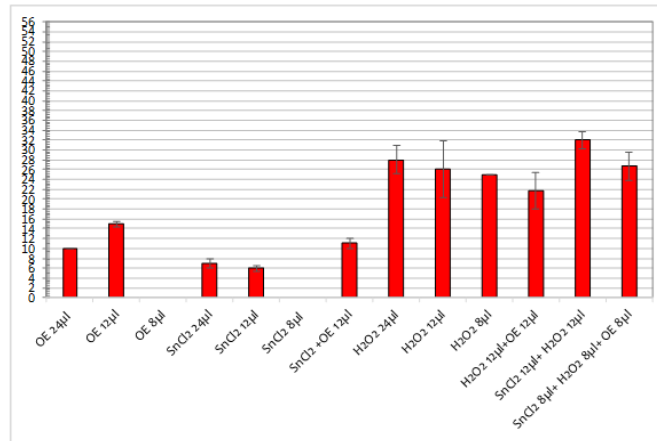


Gráfico 4 Resultado do teste de genotoxicidade e citotoxicidade do óleo essencial frente às cepas de E. coli AB1157

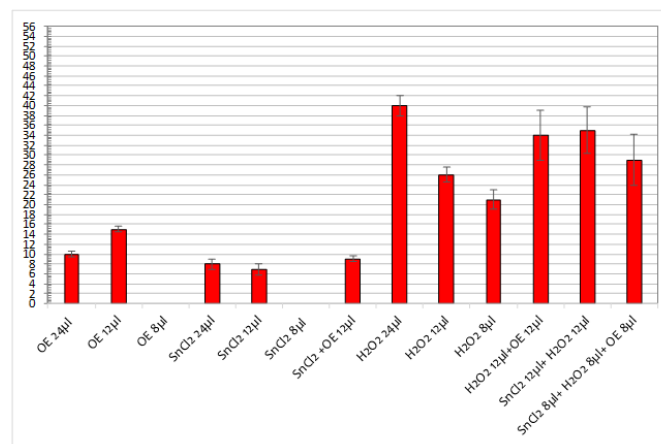


Tabela 5. Comparação e diferença entre os halos obtidos na cepa de E. coli AB1157. Teste de Tukey-Kramer e a determinação da significância.

Comparação entre: Solução - Solução	Diferença dos Halos (mm)	p
Solução salina - Amoxicilina 24 mL	-35.000	p<0.001
Solução salina - Amoxicilina 12 mL	-33.000	p<0.001
Solução salina - Amoxicilina 12mL + 12 mL de Óleo essencial (OE)	-33.333	p<0.001
Solução salina - 12 mL de OE	-8.333	p<0.05
Amoxicilina 24 mL - Amoxicilina 12 mL	2.000	p>0.05
Amoxicilina 24 mL - Amoxicilina 12 mL + 12 mL de OE	1.667	p>0.05
Amoxicilina 24 mL - 12 mL de OE	26.667	p<0.001
Amoxicilina 12 mL - Amoxicilina 12 mL + 12 mL de OE	-0.3333	p>0.05
Amoxicilina 12 mL - 12 mL de OE	24.667	p<0.001
Amoxicilina 12 mL + 12 mL de OE - 12 mL de OE	25.000	p<0.001
24 mL de OE - 12 mL de OE	10.000	p<0.001
24 mL de OE – cloreto estano (SnCl ₂) 24 mL	3.333	p>0.05

24 mL de OE - SnCl ₂ 12 mL	4.667	p>0.05
24 mL de OE - SnCl ₂ 8 mL	10.333	p<0.001
24 mL de OE - SnCl ₂ + OE 12 mL	1.667	p>0.05
24 mL de OE - SnCl ₂ + água oxigenada (H ₂ O ₂) 12 mL	-24.333	p<0.001
24 mL de OE - H ₂ O ₂ + OE 12 mL	-25.667	p<0.001
24 mL de OE - SnCl ₂ + H ₂ O ₂ 8 mL	-19.000	p<0.001
24 mL de OE - 24 mL de H ₂ O ₂	-30.000	p<0.001
24 mL de OE - 12 mL de H ₂ O ₂	-16.000	p<0.001
24 mL de OE - 8 mL de H ₂ O ₂	-10.667	p<0.001
12 mL de OE - SnCl ₂ 24 mL	-7.000	p>0.05
12 mL de OE - SnCl ₂ 12 mL	-5.667	p>0.05
12 mL de OE - SnCl ₂ 8 mL	0.000	p>0.05
12 mL de OE - SnCl ₂ + OE 12 mL	-8.667	p<0.01
12 mL de OE - SnCl ₂ + H ₂ O ₂ 12 mL	-34.667	p<0.001
12 mL de OE - H ₂ O ₂ + OE 12 mL	-36.000	p<0.001
12 mL de OE - SnCl ₂ + H ₂ O ₂ 8 mL	-29.333	p<0.001
12 mL de OE - 24 mL de H ₂ O ₂	-40.333	p<0.001
12 mL de OE - 12 mL de H ₂ O ₂	-26.333	p<0.001
12 mL de OE - 8 mL de H ₂ O ₂	-21.000	p<0.001

Tabela 6. Comparação e diferença entre os halos obtidos na cepa de E. coli BW9091. Teste de Tukey-Kramer e a determinação da significância.

Comparação entre: Solução - Solução	Diferença dos Halos (mm)	p
Solução salina - Amoxicilina 24 mL	-40.000	p<0.001
Solução salina - Amoxicilina 12 mL	-41.667	p<0.001
Solução salina - Amoxicilina 12mL + 12 mL de Óleo essencial (OE)	-36.667	p<0.001
Solução salina - 12 mL de OE	-15.333	p<0.001
Amoxicilina 24 mL - Amoxicilina 12 mL	-1.667	p>0.05
Amoxicilina 24 mL - Amoxicilina 12 mL + 12 mL de OE	3.333	p>0.05
Amoxicilina 24 mL - 12 mL de OE	24.667	p<0.001
Amoxicilina 12 mL - Amoxicilina 12 mL + 12 mL de OE	5.000	p>0.05
Amoxicilina 12 mL - 12 mL de OE	26.333	p<0.001
Amoxicilina 12 mL + 12 mL de OE - 12 mL de OE	21.333	p<0.001
24 mL de OE - 12 mL de OE	10.000	p<0.01
24 mL de OE - cloreto estanoso (SnCl ₂) 24 mL	3.000	p>0.05
24 mL de OE - SnCl ₂ 12 mL	4.333	p>0.05
24 mL de OE - SnCl ₂ 8 mL	10.000	p<0.01
24 mL de OE - SnCl ₂ + OE 12 mL	-0,3333	p>0.05

24 mL de OE - SnCl ₂ + água oxigenada (H ₂ O ₂) 12 mL	-21.000	p< 0.001
24 mL de OE - H ₂ O ₂ + OE 12 mL	-11.667	p< 0.001
24 mL de OE - SnCl ₂ + H ₂ O ₂ 8 mL	-16.667	p< 0.001
24 mL de OE - 24 mL de H ₂ O ₂	-18.333	p< 0.001
24 mL de OE - 12 mL de H ₂ O ₂	-16.667	p< 0.001
24 mL de OE - 8 mL de H ₂ O ₂	15,000	p< 0.001
12 mL de OE - SnCl ₂ 24 mL	-7.00	P<0.05
12 mL de OE - SnCl ₂ 12 mL	-5.667	P<0.05
12 mL de OE - SnCl ₂ 8 mL	0.000	P<0.05
12 mL de OE - SnCl ₂ + OE 12 mL	-10.333	p< 0.001
12 mL de OE - SnCl ₂ + H ₂ O ₂ 12 mL	-31.000	p< 0.001
12 mL de OE -H ₂ O ₂ + OE 12 mL	-21.667	p< 0.001
12 mL de OE - SnCl ₂ + H ₂ O ₂ 8 mL	-26.667	p< 0.001
12 mL de OE - 24 mL de H ₂ O ₂	-28.333	p< 0.001
12 mL de OE - 12 mL de H ₂ O ₂	-26.667	p< 0.001
12 mL de OE - 8 mL de H ₂ O ₂	-25.000	p< 0.001

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que o óleo essencial de Curcuma zedoaria (Christm.) Roscoe tem um grande potencial farmacológico como princípio ativo natural pois potencializou o efeito inibitório do antibiótico amoxicilina (E. coli AB1157). Além disso, ele exerceu atividades antioxidantes, antimicrobianas in vitro sobre as cepas de E. coli testadas. Este estudo preliminar ressalta a importância da realização de novos estudos com o óleo essencial de Curcuma zedoaria a fim de verificar: a sua ação frente a outros antibióticos tais como oxacilina, carbapenêmico e a Polimixina B que assim como a amoxicilina, já mobilizavam a atenção e a preocupação em serviços hospitalares, devido ao aumento de casos de resistência microbiana a esses medicamentos; avaliar a ação microbicida do óleo frente a novos microorganismo tais como: Staphylococcus aureus resistente a oxacilina, Acinetobacter baumannii e Klebsiella pneumoniae resistente à carbapenêmico e Klebsiella pneumoniae resistente a Polimixina B e finalmente avaliar a ação inflamatória, contribuindo assim no melhoria da qualidade de vida de indivíduos acometidos por doença microbiana e viral.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPERJ pelos financiamentos e bolsas concedidos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M.C. Efeitos do processamento por radiação em espécies da família zingiberaceae: açafrão (*Curcuma longa* L.), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e zedoária [*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe]. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). IPEN, São Paulo, 2012.

ASGHAR, A., RAMAN, A.A.A., DAUD, W.M.A W. Advanced oxidation processes for in-situ production of hydrogen peroxide/hydroxyl radical for textile wastewater treatment: a review. *Journal of cleaner production*, v. 87, p. 826- 838, 2015.

AVANÇO, G.B.; FERREIRA, F.D.; BONFIM, N.S.; SANTOS, P.A.S.R.; PERALTA, R.M.; BRUGNARI, T.; MALLMANN, C. A.; ABREU FILHO, B.A.; MIKCHA, J.M.G.; MACHINSKI M. Jr. *Curcuma longa* L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. *Food Control*, v. 73, parte B, p. 806-813, 2016.

BENTIVEGNA, E.; LUCIANI, M.; ARCARI, L.; SANTINO, I.; SIMMACO, M.; MARTELLETTI, P. Reduction of Multidrug-Resistant (MDR) Bacterial Infections during the COVID-19 Pandemic: A Retrospective Study. *International Journal of Environmental Research Public Health*. n.18, v.3, p. 1003-1005, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 156 p. il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica; n. 31)

CHAMPAKAEW, D.; CHOOCHOTE, W.; PONGPAIBUL, Y.; CHAITHONG, U.; JITPAKDI, A.; TUETUN, B.; PITASAWAT, B. Larvicidal efficacy and biological stability of a botanical natural product, zedoary oil-impregnated sand granules, against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Parasitology Research* n.100,729–737, 2007.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE/ NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15 [ISBN 1-56238-556-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.

COLE, J.; BARNARD, E. The impact of the COVID-19 pandemic on healthcare acquired infections with multidrug resistant organisms. *American Journal Infection Control* n.1, 5726. doi: 10.1016/j.ajic.2020.09.013. 2020

DOSOKY, N.S.; SETZER, W.N. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of *Curcuma* Species. *Nutrients* v. 10, n.1196, p. 1-42, 2018

EL-DEMERDASH, F.M., YOUSEF, M. I.; ZOHEIR, M. A. Stannous chloride induces alterations in enzyme activities, lipid peroxidation and histopathology in male rabbit: antioxidant role of vitamin C. *Food Chemistry Toxicology*, v.43, p. 1743-1752, 2005

FALCÃO, D.Q., COSTA E.R., ALVIANO D.S., ALVIANO, C.S., KUSTER R.M., MENEZES, FS. Atividade antioxidante e antimicrobiana de *Calceolaria chelidonioides* Humb. Bonpl. & Kunth. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v.16, n.1, p. 73-76, 2006.

FERREIRA, A.L.A., MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da associação médica brasileira*, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FRIEDBERG, E.C.; WALKER, G.C.; SIEDE, W.; WOOD, R.D.; SCHULTZ, R.A.; ELLENBERGER, T. 2005. *DNA Repair and Mutagenesis*. Ed. ASM Press. Washington, DC-USA.

GOUNDER, D.K.; LINGAMALLU, J. Comparison of chemical composition and antioxidant potential of volatile oil from fresh, dried and cured turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes. *Industrial Crops and Products*, v.38, p. 124-131, 2012.

IDDIR, M.B.A., DINGEO, G., FERNANDEZ DEL CAMPO, S.S., SAMOUDA, H., LA FRANO, M.R., BOHN, T. Strengthening the Immune System and Reducing Inflammation and Oxidative Stress through Diet and Nutrition: Considerations during the COVID-19 Crisis. *Nutrients*, n.12, v.6, p. 1562-1567, 2020.

KAR, A., CHOUDHARY, B., BANDYOPADHYAYA, N. Comparative evolution of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetics rats. *Journal of the Ethnopharmacology*, v.84, n.1, p. 105-108, 2003.

LAI, E.Y., CHYAU C.C., MAU, J.L., CHEN, C.C., LAI, Y.J., SHIH, C.F., LIN, L.L. Antimicrobial activity and cytotoxicity of the essential oil of *Curcuma zedoaria*. *American Journal of Chinese Medicine*, v.32, n.2, p. 281-90, 2004.

LI, S., YUAN, W., DENG, G., WANG, P., YANG, P. Chemical composition and product quality control of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Pharmaceutical Crops*, v.2, p. 28-54, 2011.

LIJU, V. B.; JEENA, K.; KUTTAN, R. An evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of essential oil from *Curcuma longa* L. *Indian Journal of Pharmacology*, v. 43, 2011.

LIOCHEV, S.I. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radical. Biology and Medicine*, v 60, p. 1-4, 2013.

MATSUDA, H., MORIKAWA, T., NINOMIYA, K., YOSHIKAWA M. Estereostrutura absoluta do sesquiterpeno do tipo carabrano e vasorelaxante-ativo do *Zedoariae Rizoma*. *Tetrahedron*, v.57, p. 8443-8453, 2001.

MORENO, S.R., FREITAS, R.S., ROCHA, E.K., LIMA-FILHO, G.L., BERNARDO-FILHO, M. Protection of plasmid DNA by a *Ginkgo biloba* extract from the effects of stannous chloride and the action on the labeling of blood elements with technetium-99m. *Braz J Med Biol Res.*, 37, 267-271. 2004.

NADKARNI, K.M. (ED.). [Indian materia medica]; Dr. KM Nadkarni's Indian materia medica: with Ayurvedic, Unani-Tibbi, Siddha, allopathic, homeopathic, naturopathic & home remedies, appendices & indexes. 1. Popular Prakashan, 1996.

NICOLETTI, M.A. Fitoterapia: *Curcuma zedoaria* (christm.) roscoe, uma possibilidade terapêutica como antifúngico de uso tópico. *Infarma-Ciências Farmacêuticas*, v.15, n.7/8, p. 89-91, 2013.

O'NEILL, J. Antimicrobials in Agriculture and the Environment: Reducing Unnecessary Use and Waste. *The Review on Antimicrobial Resistance*. 2015. Disponível em: Acesso em: 23 janeiro de 2020.

O'NEILL, J. Tackling a crisis for the health and wealth of nations. *The Review on Antimicrobial Resistance*. 2015. Disponível em: Acesso em: 23 janeiro de 2020.

OSTROSKY, E.A., MIZUMOTO, M.K., LIMA MARCOS, E.L., KANEKO, T.M., NISHIKAWA, S.O., FREITAS, B.R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Revista brasileira de Farmacognosia*, v.18, n.2, p. 301-307, 2008.

RAWSON, T.M.; MOORE, L.S.P.; ZHU, N. RANGANATHAN, N.; SKOLIMOWSKA, K.; GILCHRIST, M.; SATTA, G.; COOKE, G.; HOLMES, A. Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: A rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. *Clinical Infectious Diseases*. n.71, v.9, p. 2459-2468, 2020

SILVA, F.G.C., BORGES, A.L.T.F., OLIVEIRA, J.V.L., PRATA, A.P.N., PORTO, I.C.C.M., ALMEIDA, C.A.C., SOUSA, J.S., FREITAS, J.D., OLIVERIA-FILHO, A. D., REIS, F.M.P., OLIVEIRA, R.A.G., SILVA, S.A.S., NASCIMENTO, T.G. Foods, nutraceuticals and medicinal plants used as complementary practice in facing up the coronavirus (COVID-19) symptoms: a review. *SciELO - Scientific Electronic Library Online*, p. 1-58, 2020.

SINGH, P.; SINGH, S.; KAPOOR, I.P.S.; SINGH, G.; ISIDOROV, V.; SZCZEPANIAK, L. Composição química e atividades antioxidantes do óleo essencial e oleorresinas de rizomas de *Curcuma zedoaria*, parte-74. *Food Bioscience*, n.3, p. 42-48, 2013.

SINGH. G.; SINGH O.P.; PRASAD, Y.R.; LAMPASONA, M.P.; CATALAN, C. Chemical and biocidal investigations on rhizome volatile oil of *Curcuma zedoria* Rosc-Part 32. *Indian Journal Chemistry Technology* n.10, p. 462– 465, 2003.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of Food Science*, v. 1, n. 7, p. 1231-1249, 2014.

ZHANG, W., DU, R.H., LI, B., ZHENG, X.S., YANG, X.L., HU, B., WANG, Y.Y., XIAO, G.F., YAN, B., SHI, Z.L., ZHOU, P. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerging Microbes Infections*, v.9, n.1, p. 386-389, 2020.