



Avaliação preliminar das atividades antimicrobiana e citotóxica de *Allium sativum* e *Zingiber officinale*

Preliminary evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of *Allium sativum* and *Zingiber officinale*

F. I. da S. Martins^{1*}; J. A. de A. Martins¹; M. V. de P. Amorim¹;
W. R. V. da Rocha²; J. F. de Oliveira¹; L. E. Nunes¹

¹Instituto de Ciências da Saúde, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, 62790-000, Redenção-Ceará, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, 58101001, Campina Grande-Paraíba, Brasil

*iurimartins@aluno.unilab.edu.br

(Recebido em 02 de fevereiro de 2025; aceito em 30 de setembro de 2025)

A crescente busca por terapias mais seguras e eficazes tem impulsionado a investigação de plantas medicinais, como *Allium sativum* e *Zingiber officinale*, amplamente reconhecidas por suas propriedades terapêuticas no saber popular. Diante disso, este estudo teve como objetivo explorar o perfil fitoquímico, as propriedades bioativas e o potencial farmacológico dessas espécies, com foco em sua atividade antimicrobiana *in silico* e citotoxicidade. Os bulbos de *A. sativum* e rizomas de *Z. officinale* foram submetidos à extração hidroetanólica por maceração, com análise dos extratos quanto à densidade, rendimento e presença de metabólitos secundários. Além disso, testes *in silico* investigaram a interação de 19 fitoconstituintes dessas plantas com a enzima KPC-2, enquanto ensaios *in vitro* avaliaram a citotoxicidade utilizando hemácias de carneiro. Os resultados mostraram a presença de flavonoides, saponinas e cumarinas como principais metabólitos secundários. O fitoconstituente curcumina, proveniente de *Z. officinale*, apresentou elevada afinidade de ligação com a enzima KPC-2 (-9,1 kcal/mol). Compostos promissores também foram identificados em *A. sativum*, como a alicina (-5,7 kcal/mol). Ambos os extratos demonstraram baixa citotoxicidade nas concentrações analisadas. Assim, concluiu-se que *A. sativum* e *Z. officinale* são fontes promissoras de compostos bioativos com potencial antimicrobiano e baixa toxicidade. Estudos futuros devem focar na otimização desses compostos para desenvolver terapias mais seguras e eficazes.

Palavras-chave: enterobacteriáceas resistentes a carbapenêmicos, simulação de acoplamento molecular, toxicidade.

The growing search for safer and more effective therapies has driven the investigation of medicinal plants, such as *Allium sativum* and *Zingiber officinale*, widely recognized for their therapeutic properties in popular knowledge. Therefore, this study aimed to explore the phytochemical profile, bioactive properties and pharmacological potential of these species, focusing on their *in silico* antimicrobial activity and cytotoxicity. The bulbs of *A. sativum* and rhizomes of *Z. officinale* were subjected to hydroethanolic extraction by maceration, with analysis of the extracts for density, yield and presence of secondary metabolites. In addition, *in silico* tests investigated the interaction of 19 phytoconstituents of these plants with the KPC-2 enzyme, while *in vitro* assays evaluated cytotoxicity using sheep red blood cells. The results showed the presence of flavonoids, saponins and coumarins as the main secondary metabolites. The phytoconstituent curcumin, from *Z. officinale*, was highlighted, as it showed high binding affinity with the KPC-2 enzyme (-9.1 kcal/mol). Promising compounds were also identified in *A. sativum*, such as allicin (-5.7 kcal/mol). Both extracts demonstrated low cytotoxicity at the concentrations analyzed. Thus, it was concluded that *A. sativum* and *Z. officinale* are promising sources of bioactive compounds with antimicrobial potential and low toxicity. Future studies should focus on optimizing these compounds to develop safer and more effective therapies.

Keywords: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, molecular docking simulation, toxicity.

1. INTRODUÇÃO

Os antimicrobianos são substâncias naturais, sintéticas ou semissintéticas capazes de inibir o crescimento e o desenvolvimento de microrganismos. Entre eles, os antibióticos destacam-se como um dos grupos mais amplamente comercializados no mundo, os quais podem ser classificados em bacteriostáticos, quando impedem a multiplicação bacteriana, ou bactericidas, quando eliminam as bactérias. Até os anos 2000, uma série de antibióticos foi descoberta e introduzida no mercado, incluindo penicilinas, β -lactâmicos, aminoglicosídeos, tetraciclina, macrolídeos, peptídeos, fluoroquinolonas e outros. No entanto, desde então, observou-se uma redução significativa na descoberta de novos antibióticos, enquanto a incidência de resistência bacteriana aumentou consideravelmente [1].

A resistência microbiana refere-se à capacidade dos microrganismos de sobreviver e se multiplicar mesmo na presença de antimicrobianos que antes eram eficazes contra eles. Esse fenômeno pode ocorrer devido a mutações espontâneas, transdução viral ou seleção natural, sendo frequentemente impulsionado pelo uso indiscriminado e inadequado de antibióticos. Até o século XX, a resistência bacteriana era majoritariamente associada ao ambiente hospitalar. No entanto, a partir do século XXI, sua disseminação passou a ser observada em diversos setores da sociedade, reforçando o conceito de Saúde Única (do inglês *One Health*), que integra a saúde humana, animal e ambiental [2].

O crescimento acelerado da resistência bacteriana compromete a eficácia dos tratamentos disponíveis e eleva significativamente os custos associados às terapias antimicrobianas. Diante desse cenário crítico, torna-se essencial investir em estratégias terapêuticas inovadoras. Os produtos naturais têm se destacado como alternativas promissoras, capazes de potencializar a ação de antibióticos existentes e reduzir a dependência desses fármacos [3]. Neste cenário, o *Allium sativum* L. (alho) e o *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre) são amplamente empregados na medicina tradicional por suas propriedades terapêuticas.

Allium sativum é uma espécie amplamente reconhecida como fonte natural de compostos sulfurados, como a Alicina, que desempenham um papel fundamental tanto em atividades antimicrobianas quanto cardiovasculares [4, 5]. Já o *Zingiber officinale* é uma planta amplamente distribuída na Ásia e contém uma variedade de compostos bioativos que possuem forte associação com a medicina tradicional. Na sua composição, destacam-se os gingeróis e shogaios, compostos ligados a propriedades biológicas que englobam ações imunomoduladoras, antitumorais, anti-inflamatórias, antiapoptóticas, hipoglicemiantes, antilipídêmicos e antieméticos [6].

Apesar do amplo reconhecimento do potencial farmacológico dessas espécies e da progressão no entendimento de seus compostos bioativos, ainda são raros os estudos integrados que avaliem de maneira completa o perfil fitoquímico, as características bioativas e o potencial farmacológico dessas plantas [7]. Ademais, a diversidade nos procedimentos de extração e análise pode interferir de maneira significativa nos resultados obtidos [8].

Diante disso, são necessárias novas pesquisas acerca dos seus perfis fitoquímicos e bioativos para explorar completamente suas propriedades terapêuticas. Instrumentos como o *docking* molecular são capazes de aprimorar a estrutura dos compostos bioativos encontrados no alho e no gengibre, potencializando sua eficácia e reduzindo sua toxicidade [9].

Esta otimização possibilita alterar a composição química dos compostos naturais com o objetivo de aprimorar os pontos de interação com os biorreceptores-alvo, tornando-os mais seguros e eficientes no tratamento de doenças inflamatórias e outras enfermidades associadas. Portanto, o estudo dessas espécies vegetais pode auxiliar no desenvolvimento de novos medicamentos que utilizam produtos naturais, equilibrando segurança, eficácia e inovação no tratamento de várias enfermidades [10].

Além disso, dado o crescente desafio da resistência bacteriana aos antibióticos utilizados na prática clínica, torna-se essencial a busca por alternativas terapêuticas eficazes que minimizem os impactos negativos à saúde pública. Nesse cenário, destaca-se a disseminação global de enterobactérias produtoras da enzima KPC-2 (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-2), uma serina β -lactamase de classe A capaz de hidrolisar uma ampla gama de antibióticos β -lactâmicos, incluindo os carbapenêmicos. Essa hidrólise ocorre por meio da formação de uma acil-enzima covalente, mediada por resíduos críticos do sítio ativo, como Ser130, Lys234, Trp105, Thr235 e

Thr237. Cepas produtoras de KPC têm sido amplamente relatadas em países como Estados Unidos, Colômbia, Argentina, Grécia e Itália, representando uma ameaça crescente à eficácia dos tratamentos disponíveis [11].

Diante desse contexto, o presente estudo tem como objetivo explorar o perfil fitoquímico, as propriedades bioativas e o potencial farmacológico de *Allium sativum* e *Zingiber officinale*, com foco na identificação de substâncias naturais que possam atuar como alternativas promissoras no enfrentamento da resistência bacteriana, especialmente em cepas produtoras de KPC-2.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reagentes e equipamentos

Os seguintes reagentes foram utilizados neste estudo: acetona PA, cristais de ácido bórico, cristais de ácido oxálico, éter etílico PA, zinco metálico PA, ácido clorídrico PA, anidrido acético PA, ácido sulfúrico PA, gelatina a 2%, cloreto férrico PA, fita de magnésio, cloreto de alumínio PA, sangue total de carneiro da Laborclin®, solução de NaCl 0,85% e padrão de quercetina da Sigma Aldrich®.

Adicionalmente, os materiais e equipamentos empregados incluíram: balança analítica fabricante Edutech, béqueres, pipetas de volumes variados, ponteiras, espectrofotômetro UV/VIS Nova 1600 UV, centrífuga universal refrigerada DIGICEN 21R, cadinhos, espátulas, balões volumétricos, tubos de ensaio, tubos Falcon, papel filtro, chapa aquecedora modelo SL-141, câmara escura com luz UV fabricante Cienlab e vórtex fabricante Edutech.

2.2 Material botânico e preparação dos extratos

Aproximadamente 75g de bulbo de *Allium sativum* e 75g de rizoma de *Zingiber officinale* foram obtidos no comércio do município de Redenção-CE. Para preparo dos extratos, os materiais vegetais foram submetidos a extração do tipo maceração (1:2) em uma solução hidroetanólica (80:20) por um período de 10 dias. Após este período, os extratos foram filtrados e um volume de 50mL foi armazenado para os testes fitoquímicos e 100 mL foi seco pela técnica de *drop-casting* [12]. Os extratos secos foram pesados e obteve-se uma massa de 8,0981g e 8,7729g, respectivamente.

Além disso, foram calculados a densidade e o rendimento total dos extratos. Para determinar a densidade, utilizou-se a equação I, enquanto o cálculo do rendimento total foi realizado com base na equação II:

$$(I) D = \frac{m}{v}$$

D = corresponde a densidade;

M = massa do material botânico seco;

V = volume utilizado.

$$(II) Re = \frac{P_{ext}}{P_{mv}} \times 100$$

Re = corresponde a rendimento total do extrato;

P_{ext} = peso do extrato seco em gramas;

P_{mv} = peso do material vegetal fresco.

2.3 Screening fitoquímico

Realizou-se uma análise qualitativa das principais classes de compostos presentes no bulbo de *Allium sativum* e no rizoma de *Zingiber officinale*. Os compostos pesquisados foram taninos, flavonoides, esteroides, saponinas, cumarinas e alcaloides. Para taninos, utilizou-se o método de precipitação com sais de ferro. Enquanto isso, para os flavonoides, foram utilizadas as reações de cloreto de alumínio, Shinoda, Pew e Taubouk que apresentam coloração específica na presença

destes compostos. Já para as saponinas, sua presença foi pesquisada pela agitação do extrato aquoso com formação de espuma persistente, em 30 minutos. Para cumarinas, identificou-se por fluorescência. Por fim, utilizou-se o método de precipitação, usando os reativos de Bouchard, Dragendorf e Mayer, para detecção de alcaloides [13, 14].

2.4 Atividade antimicrobiana *in silico*

A atividade antimicrobiana *in silico* foi conduzida com 19 metabólitos secundários, sendo 9 deles descrito como composto majoritários do *Allium sativum* [15] e 10 do *Zingiber officinale* [16], cujas estruturas foram obtidas em 2D junto ao ChemSpider no formato MOLFILES [17]. Após isso, as estruturas foram convertidas a 3D, adicionados os hidrogênios, pH 7,4 e minimizou-se a energia no *software* Avogadro, onde foram salvos em formato PDB. Além disso, por meio do *software* AutoDockTools, adicionou-se as cargas de Gasteiger e detectou-se as ligações rotativas e, após otimizadas, as moléculas foram convertidas para PDBQT. O mesmo procedimento foi realizado para dois inibidores da proteína KPC-2, o Avibactam e o Relebactam, bem como seu coligante, o Faropenem.

A estrutura cristalina da proteína KPC-2 (PDB ID: 5UJ4) de *Klebsiella pneumoniae* foi obtida no *Protein Data Bank* complexada com o Faropenem [18], a qual foi preparada removendo as moléculas de água e cofatores, bem como adicionou-se os hidrogênios para então remover o Faropenem no *software* AutoDockTools, onde realizou-se o Grid para definir a área ao redor do sítio ativo da proteína nas coordenadas X= 21,885, Y= 14,678 e Z= 14,433, correspondendo a uma caixa de 46 x 44 x 42 para todos os alvos.

Antes de realizar o *docking* molecular, realizou-se a validação do método, onde o ligante cocrystalizado, após tratado, foi encaixado no sítio ativo da proteína utilizando o *software* AutodockVina. Além disso, para visualizar o encaixe, utilizou-se o *software* Discovery Studio, no qual gerou o *Root Mean Square Deviation of Atomic Positions* (RMSD). Após validado, os valores de energia de ligação (kcal/mol) foram obtidos, e a conformação encaixada foi visualizada. Este procedimento foi realizado em sequência para cada ligante.

2.5 Atividade Citotóxica

Para avaliar a citotoxicidade do bulbo de *Allium sativum* e do rizoma de *Zingiber officinale*, empregou-se a metodologia descrita por De Sousa et al. (2022) [19], com modificações. Este método utiliza hemácias como modelo *in vitro* para determinar o potencial citotóxico sistêmico, avaliando a capacidade de uma substância causar lise celular. Para o ensaio, utilizou-se sangue total de carneiro, adquirido da Laborclin®, o qual foi misturado a uma solução de NaCl a 0,85% (1:30) e centrifugado a 3500 rpm por 5 minutos. O sedimentado foi lavado duas vezes com a mesma solução salina. Após a última lavagem, o sedimentado foi ressuspensão em NaCl a 0,85%, resultando em uma suspensão de hemácias a 2%.

Nesse experimento, as amostras foram preparadas nas concentrações de 400, 200, 100 e 50 µg/mL. Em tubos de ensaio, 2 mL da suspensão de hemácias foi misturado com 0,5 mL de cada concentração do extrato. As amostras foram incubadas por 1 hora à temperatura ambiente, sob agitação constante. Em seguida, foram centrifugadas, e o sobrenadante foi analisado em um espectrofotômetro a 541 nm. Como controle positivo, utilizou-se água destilada, e como controle negativo utilizou-se NaCl a 0,85%. Cada análise foi realizada em triplicata, e a porcentagem de hemólise foi calculada utilizando a equação III.

$$(III) \% \text{ de hemólise} = \frac{ABS_E - ABS_B}{ABS_{CP} - ABS_B} \times 100$$

ABSE = Absorbância do extrato;

ABSB = Absorbância do branco;

ABSCP = Absorbância do controle positivo;

100 = fator de correção para %.

O perfil de citotoxicidade dos extratos foi avaliado com base no percentual de hemólise observado. Valores de hemólise de 0 a 40% foram classificados como indicativos de baixa toxicidade, de 41 a 80% como toxicidade moderada, e acima de 80% como alta toxicidade [19].

2.6 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* GraphPad Prism 9.0, no qual foi aplicado o teste *One-Way* ANOVA, seguido pelo pós-teste de Tukey, considerando diferenças estatisticamente significativas entre os grupos quando $p \leq 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os valores de densidade (g/mL) e o rendimento total (%) obtidos para os extratos do bulbo de *Allium sativum* e do rizoma de *Zingiber officinale*, de modo que o *Z. officinale* apresentou um melhor rendimento do que o *A. sativum*.

Tabela 1: Densidade e rendimento dos extratos do bulbo de *Allium sativum* e do rizoma de *Zingiber officinale*.

Amostra	Densidade (g/mL)	Rendimento total (%)
<i>Allium sativum</i>	0,81	10,80
<i>Zingiber officinale</i>	0,88	11,70

Aplicou-se diferentes testes para detecção de metabólitos secundários, como taninos, flavonoides, saponinas, cumarinas e alcaloides, e os resultados indicaram a ausência de taninos em ambas as amostras, enquanto flavonoides foram detectados nos testes de Cloreto de Alumínio e Taubouk para ambos os extratos, mas não foram evidenciados pelos testes de Shinoda e Pew. As saponinas apresentaram resultados positivos para ambas as amostras com o Índice Afrossimétrico, assim como as cumarinas foram detectadas. Por outro lado, os testes para alcaloides não identificaram a presença desse grupo de compostos em nenhuma das amostras (Tabela 2).

Tabela 2: Screening fitoquímico do bulbo de *Allium sativum* e do rizoma de *Zingiber officinale*.

Metabólicos	Teste	<i>Allium sativum</i>	<i>Zingiber officinale</i>
Taninos	Cloreto férrico	-	-
	Shinoda	-	-
Flavonoides	Cloreto de alumínio	+	+
	Pew	-	-
	Taubouk	+	+
Saponinas	Índice afrossimétrico	+	+
Cumarinas	365nm	+	+
	Dragendorf	-	-
Alcaloides	Mayer	-	-
	Bouchard	-	-

+ = detectado; - = não detectado.

De forma similar, o estudo de Panda et al. (2024) [20] investigou os metabólitos secundários presentes no extrato etanólico do bulbo de *A. sativum* e, por meio de extração por percolação, identificou os mesmos metabólitos secundários observados no presente estudo, corroborando com os resultados obtidos. Além disso, o estudo de Ahmed et al. (2022) [21] analisou os metabólitos secundários no extrato etanólico do rizoma de *Z. officinale*. Diferentemente do nosso trabalho, esse estudo identificou a presença de alcaloides no extrato, além dos outros metabólitos descritos.

Essa discrepância pode ser atribuída à sazonalidade que pode influenciar o teor de fitoconstituintes, conforme demonstrado no estudo de Claro et al. (2024) [22].

Com o objetivo de contribuir para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas contra a resistência mediada pela KPC-2, realizou-se a atividade antimicrobiana *in silico* de 19 fitoconstituintes, uma vez que as bactérias da família Enterobacterales que apresentam resistência aos carbapenêmicos, representam uma das principais preocupações de saúde pública global, devido à crescente resistência dessas bactérias à maioria dos antibióticos β -lactâmicos. Ding et al. (2021) [23] destacaram em seu estudo que, geralmente, essa resistência está associada à produção de carbapenemases pela bactéria *Klebsiella pneumoniae*, sendo o gene *blaKPC-2* o principal responsável. Na China, aproximadamente 70% dos casos de resistência a carbapenêmicos envolvem da enzima KPC-2 [24].

Consequentemente, diversos estudos têm buscado novas intervenções terapêuticas capazes de inibir bactérias que expressam a enzima KPC-2, com destaque para abordagens baseadas em bioinformática. A KPC-2, uma serina β -lactamase de classe A com sítio ativo que hidrolisa β -lactâmicos por meio da formação de uma acil-enzima covalente. Os principais resíduos de aminoácidos envolvidos em sua inibição incluem Ser130, Lys234, Trp105, Thr235 e Thr237 [11, 23].

Antes de realizar o *docking* dos metabólitos secundários, o coligante original foi removido da enzima KPC-2, seguido pela sua otimização estrutural. Posteriormente, o coligante otimizado foi reposicionado no sítio ativo da KPC-2 para validação do método. A sobreposição das estruturas resultou em um RMSD de 0,270Å, indicando a precisão e confiabilidade do protocolo de *docking* empregado, pois conforme conceituado por Castro-Alvarez et al. (2017) [25], um RMSD ≤ 2 Å é satisfatório para validar experimentos de *docking* (Figura 1).

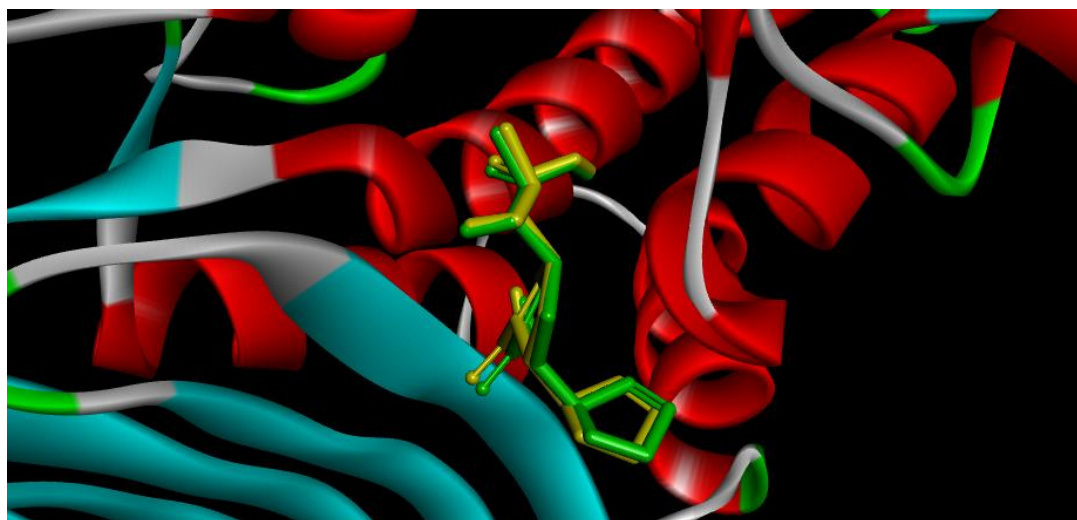


Figura 1: Validação do protocolo de encaixe pela sobreposição do coligante (verde) e após novo encaixe (amarelo).

O Quadro 1 e a Figura 2 detalham as interações moleculares observadas no *docking* dos 19 fitoconstituintes avaliados, do coligante e de dois fármacos de referência que atuam como inibidores da enzima KPC-2. Destaca-se que a afinidade de ligação dos compostos presentes no *Allium sativum* variou de -2,8 a -5,7 kcal/mol, enquanto os compostos derivados de *Zingiber officinale* apresentaram valores de afinidade entre -5,4 e -9,1 kcal/mol, indicando que os compostos do *Z. officinale* demonstraram maior afinidade de ligação em comparação aos do *A. sativum*.

Entre os fármacos de referência, o coligante apresentou a maior afinidade de ligação (-10,7 kcal/mol), formando três ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Ser130, Thr235 e Asn132. Além disso, foram identificadas outras interações moleculares significativas, como forças de van der Waals, interações π -alquil, atração elétrica e interações desfavoráveis do

tipo acceptor-acceptor (Quadro 1, Figura 2). Resultados semelhantes foram relatados por Oselusi et al. (2023) [11], em um estudo *in silico* que avaliou o potencial dos fitoconstituintes da *Ehretia* frente à enzima KPC-2, no qual o coligante também demonstrou a maior afinidade de ligação em comparação com outros medicamentos testados.

Entre os fitoconstituintes de *Allium sativum*, a Alina apresentou a menor energia de ligação (-5,7 kcal/mol), destacando-se como o composto mais promissor desse grupo. Este composto formou duas ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Ser130 e Thr235, além de estabelecer interações importantes, como forças de van der Waals, atração elétrica e interações carbono-hidrogênio. Em contraste, o Sulfeto de metil-alila exibiu a maior energia de ligação (-2,8 kcal/mol), sendo o menos eficaz. Diferentemente da Alina, ele não formou ligações de hidrogênio, mas apresentou interações como forças de van der Waals, π -alquil e alquil (Quadro 1, Figura 2). O melhor desempenho da Alina pode ser atribuído à formação de ligações de hidrogênio com resíduos de aminoácidos conservados no sítio ativo da proteína KPC-2 [11].

Seguindo o mesmo pressuposto apresentado no estudo de Oselusi et al. (2023) [11], entre os metabólitos secundários de *Z. officinale*, a Curcumina demonstrou a maior afinidade de ligação, com energia de -9,1 kcal/mol, superando os fármacos de referência e posicionando-se como um potencial inibidor da enzima KPC-2. Esse desempenho pode ser atribuído às interações específicas da Curcumina que incluiu uma ligação de hidrogênio com o resíduo conservado Asn132, além de interações como forças de van der Waals, π - π empilhada e alquil/ π -alquil que ajudam a estabilizar a interação (Quadro 1, Figura 2).

Destaca-se ainda o potencial de outros fitoconstituintes de *Z. officinale*, como [6]-Desidroginderdiona, [6]-Gingerol, [6]-Paradol, [6]-Shogaol, [10]-Gingerol e a própria Curcumina, que exibiram energias de ligação comparáveis ou superiores às dos medicamentos de referência (Quadro 1, Figura 2).

Quadro 1: Afinidades de ligação e interações intermoleculares dos principais fitoconstituintes das espécies de *Allium sativum* e *Zingiber officinale*, do coligante e dois inibidores da enzima KPC-2.

Espécie botânica	Composto	Afinidade de ligação (kcal/mol)	Nº de ligações de hidrogênio e resíduos participantes	Outras ligações e resíduos participantes
<i>Allium sativum</i>	Alina	-5,7	2 (Ser130; Thr235)	van der Waals (Ser70; Gly236; Thr237); atração eléctrica (Arg220; Glu276; Lys234); carbono-hidrogênio (Thr216)
	Sulfeto de metil-alila	-2,8	-	van der Waals (Ser130, 70; Thr237, 216; Lys73; Glu166; Asn132, 170); π -alquil (Trp105); alquil (Leu167)
	Trissulfeto de dialila (Alltride)	-4,1	-	van der Waals (Ser70; Thr237; Lys73; Glu166; Asn 132, 170); π -alquil (Trp105)
	Alicina	-4,4	-	van der Waals (Ser130, 70; Thr237; Lys73; Leu167; Glu166; Asn132, 170); π -catión (Trp105); carbono-hidrogênio (Ser130)
	Disulfeto de dialila	-4,0	-	van der Waals (Ser130, 70; Thr235, 237; Lys73; Glu166; Leu167; Gly236; Asn132, 170); π -alquil (Trp105)
	(E)-ajoeno	-5,5	-	van der Waals (Ser130, 70; Thr216, 237; Lys73; Leu167; Asn132); π - σ (Trp105)
	(Z)-ajoeno	-5,3	2 (Ser130; Thr235)	van der Waals (Ser70; Thr216, 237; Lys73, 234; Leu167; Asn132, 170; Arg220); π -alquil (Trp105)
	2-Vinil-4H-1,3-ditiina	-3,8	1 (Ser130)	van der Waals (Ser70; Thr216, 235, 237; Lys73; Asn132) π -alquil (Trp105)
	Sulfeto de dialila	-3,6	-	van der Waals (Ser70, 130; Thr237; Lys73; Leu167; Glu166; Asn132, 170) π -alquil (Trp105)
<i>Zingiber officinale</i>	Citral A (geranial)	-5,4	3 (Ser70; Thr235, 237)	van der Waals (Ser130; Thr216; Gly236, 239); π - σ e π -alquil (Trp105)
	Citral B (neral)	-5,8	3 (Ser70; Thr235, 237)	van der Waals (Ser130; Thr216; Gly236; Lys73; Asn132, 170); π - σ e π -alquil (Trp105)
	Zerumbona	-6,7	2 (Ser70, 130)	van der Waals (Thr216, 235, 237; Lys73; Leu167; Asn132, 170); π -alquil (Trp105)
	[6]-Desidroginderdiona	-7,8	3 (Ser70, 130; Trp105)	van der Waals (Thr216, 235; Lys234; Gly236, 239; Tyr129); π -alquil (His274); carbono-hidrogênio (Cys238; Thr237)
	[6]-Gingerol	-8,0	1 (Thr237)	van der Waals (Ser70, 130; Thr216; Cys238; Asn132, 170); alquil (Leu167); π - π empilhada (Trp105)
	[6]-Paradol	-8,2	1 (Asn132)	van der Waals (Ser70, 130; Thr216, 235, 237; Cys238; Gly236; Asn170; Trp105; Arg220; Pro104); alquil (Leu167)
	[6]-Shogaol	-8,1	3 (Ser70, 130; Thr235)	van der Waals (Thr216, 237; Lys73, 234; Gly236; Asn170; Pro104); alquil (Leu167); π - σ e π - π empilhada (Trp105)
	[10]-Gingerol	-8,5	1 (Asn132)	van der Waals (Ser70; Thr215, 216, 237; Lys73; Leu167; Asn170); π - σ e π -alquil (Trp105); alquil (Pro104; Tyr129); carbono-hidrogênio (Glu166)
	Curcumina	-9,1	1 (Asn132)	van der Waals (Ser130; Thr216; Cys238; Asn170; Glu168); π - π empilhada (Trp105); alquil E π -alquil (Leu167)
	Zingerona	-6,7	3 (Ser70, 130; Thr235)	van der Waals (Thr216, 237; Lys73, 234; Gly236; Asn132); π -alquil e π - π empilhada (Trp105); doadores-doadores desfavorável (Ser70)
Coligante	Faropenem	-10,7	3 (Ser130; Thr235; Asn132)	van der Waals (Ser70; Thr216; Gly236; Asn170; Arg220; Glu166; Leu167); π -alquil e π -alquil (Trp105); atração eléctrica (Lys73; 234); aceptor-aceptor desfavorável (Thr237)
Inibidor	Avibactam	-8,3	4 (Ser70, 130; Asn132; Lys73)	van der Waals (Thr216, 237; Glu166; Asn170); π -alquil (Trp105); atração eléctrica (His274; Arg220)
Inibidor	Relebactam	-8,1	5 (Ser70, 130; Thr216, 235, 237)	van der Waals (Lys73; Asn132; Leu167; Pro104); π -alquil (Trp105); atração eléctrica (Lys234; Arg220); carbono-hidrogênio (Gly236)

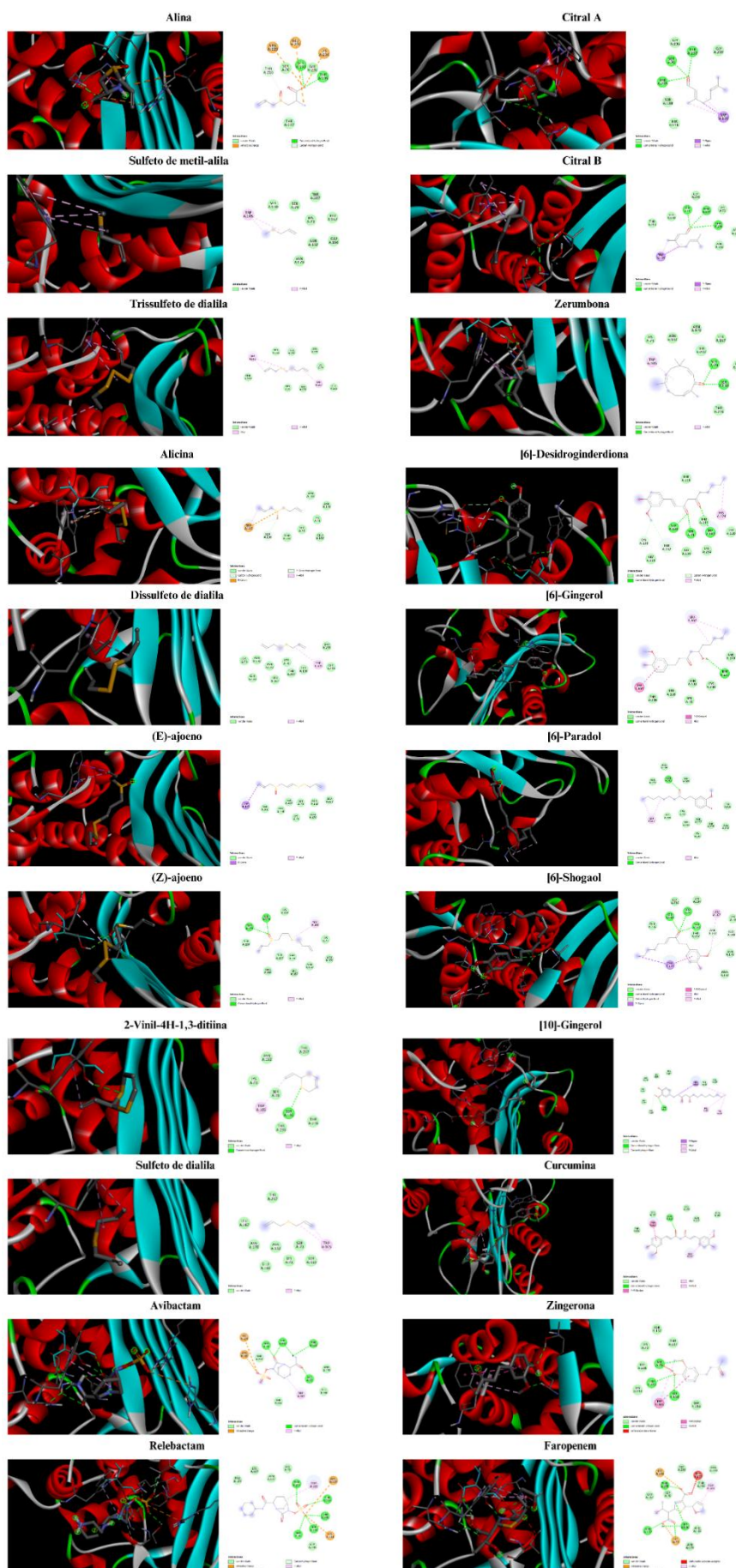


Figura 2: Complexo ligante-alvo entre a enzima KPC-2 e as estruturas moleculares dos fitoconstituintes, coligante e dois inibidores e suas interação com os aminoácidos.

De acordo com a literatura, devido à diversidade de compostos bioativos presentes em plantas medicinais, é imprescindível que essas plantas e seus derivados sejam submetidos a testes toxicológicos que garantam sua segurança para uso [26].

Dessa forma, a Figura 3 apresenta a avaliação da citotoxicidade das amostras em diferentes concentrações. Em 400µg/mL, as porcentagens de citotoxicidade foram $38,3 \pm 0,9\%$ e $25,23 \pm 0,9\%$ para *A. sativum* e *Z. officinale*, respectivamente. Em 200µg/mL, os valores foram $36,43 \pm 0,9\%$ e $23,37 \pm 0,9\%$; em 100µg/mL, $31,17 \pm 1\%$ e $18,7 \pm 0,9\%$; e em 50µg/mL, $26,77 \pm 1,4\%$ e $12,43 \pm 0,5\%$.

Segundo Sousa et al. (2022) [19], extratos vegetais com percentuais de hemólise inferior a 40% são classificados com baixo perfil citotóxico. A partir dos resultados, se observou que ambas as amostras apresentaram baixa citotoxicidade em todas as concentrações avaliadas, além de que, à medida que a concentração dos extratos foi reduzida, a citotoxicidade também diminuiu.

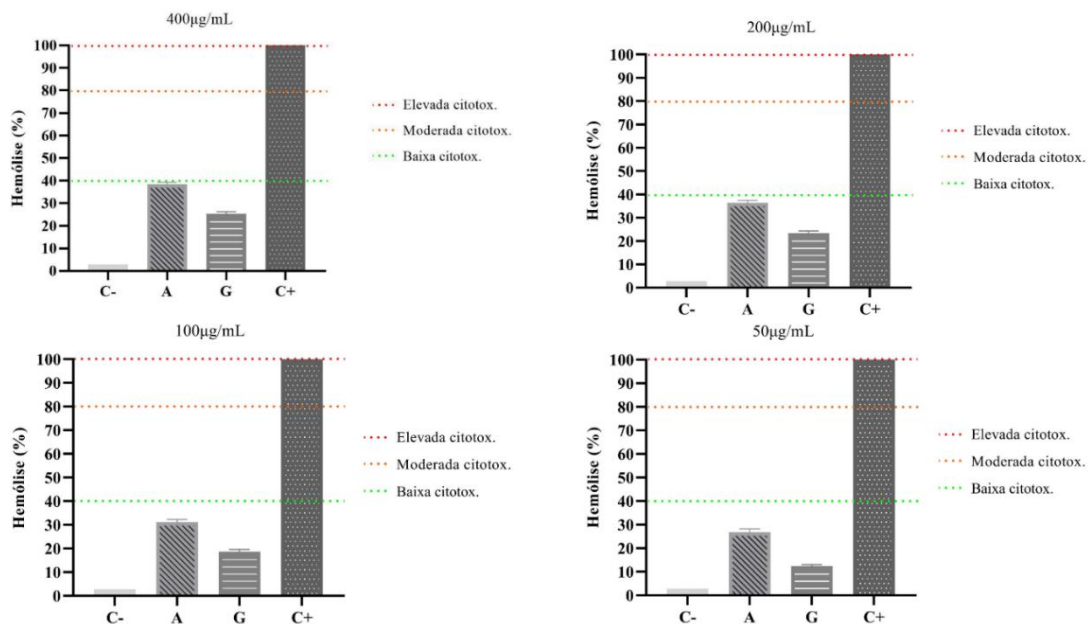


Figura 3: Atividade citotóxica do bulbo de *Allium sativum* (A) e do rizoma de *Zingiber officinale* (G).

Além disso, ao analisar os dados individualmente para cada concentração, o teste de variância ANOVA mostrou diferenças significativas nos percentuais de citotoxicidade. O teste pós-hoc de Tukey confirmou que, em todas as concentrações, ambas as amostras apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação aos controles positivo e negativo, bem como entre si ($p < 0,0001$).

Resultados semelhantes foram encontrados por Tigu et al. (2021) [27], que avaliaram a citotoxicidade de *A. sativum* em células humanas utilizando o ensaio MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difenil tetrazólio). Assim como nesta pesquisa, os autores observaram um aumento da citotoxicidade proporcional à elevação da concentração do extrato. De forma semelhante, Al-Shibani et al. (2022) [28] investigaram a citotoxicidade de *Z. officinale* pela mesma metodologia e relataram que, em baixas concentrações, o extrato apresentou baixa citotoxicidade, corroborando os achados deste estudo. Embora o ensaio com hemácias ofereça resultados preliminares, ele se demonstrou igualmente eficaz como ferramenta de triagem inicial para avaliar o potencial citotóxico de substâncias.

De Sousa et al. (2022) [19], ao investigarem a atividade citotóxica da *Pavonia glazioviana* por meio de ensaios de hemólise, atribuíram a citotoxicidade dos extratos vegetais à presença de saponinas em suas composições, presente inclusive nas amostras estudadas (Tabela 2). Esse grupo de metabólitos secundários é conhecido por seu efeito tensoativo, que pode alterar a permeabilidade das membranas celulares, resultando na liberação de hemoglobina no plasma.

Essa ação, segundo Xavier et al. (2021) [29], pode acarretar efeitos adversos, como nefrotoxicidade e alterações vasomotoras no coração.

Além disso, a amostra de *A. sativum* demonstrou maior citotoxicidade em todas as concentrações analisadas quando comparada à de *Z. officinale*, segundo o pós-hoc de Tukey ($p < 0,0001$), o que pode ser atribuído à maior concentração de saponinas no extrato de *A. sativum*, segundo o proposto por Sousa et al. (2022) [19].

Este estudo apresenta algumas limitações que devem ser consideradas. Primeiramente, os ensaios utilizados correspondem a uma abordagem preliminar, tanto para avaliação da atividade antimicrobiana quanto da citotoxicidade, não incluindo métodos quantitativos como a determinação da concentração inibitória mínima (MIC) ou da concentração bactericida mínima (CBM). Além disso, o modelo hemolítico utilizado para avaliar a toxicidade, embora útil em triagens iniciais, não reflete com precisão os efeitos em sistemas celulares humanos, sendo recomendável a realização de testes em culturas de células humanas ou modelos *in vivo* em estudos futuros.

Apesar da existência de trabalhos semelhantes na literatura, este estudo se diferencia por avaliar 19 fitoconstituintes e abordar de forma integrada a caracterização fitoquímica, a simulação molecular *in silico* com foco na enzima KPC-2 — associada à resistência a carbapenênicos — e os testes biológicos de *Allium sativum* e *Zingiber officinale*, plantas amplamente utilizadas na medicina tradicional. Essa abordagem integrada contribui para o avanço do conhecimento sobre o potencial farmacológico desses extratos e indica compostos bioativos que podem ser investigados de forma isolada em estudos posteriores. Tais perspectivas abrem caminho para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas baseadas em produtos naturais, especialmente no enfrentamento de infecções causadas por bactérias multirresistentes.

4. CONCLUSÃO

A partir dos resultados deste estudo, percebeu-se que os extratos de *A. sativum* e *Z. officinale* apresentam características promissoras em relação à sua atividade antimicrobiana e baixa citotoxicidade. No contexto da atividade antimicrobiana *in silico*, os compostos presentes no extrato de *Z. officinale* apresentaram maior afinidade de ligação à enzima KPC-2 em comparação aos compostos de *A. sativum*, com destaque para a Curcumina, que demonstrou a maior afinidade de ligação (-9,1 kcal/mol). Além disso, os testes de citotoxicidade revelaram que ambos os extratos apresentam baixa citotoxicidade, embora o extrato de *A. sativum* tenha mostrado maior atividade citotóxica em todas as concentrações testadas.

Não somente, esses resultados indicaram que os fitoconstituintes de *A. sativum* e *Z. officinale* possuem potencial terapêutico para inibir a enzima KPC-2, um importante beta-lactamase associada à resistência antimicrobiana, e podem servir como alternativas ou complementos aos tratamentos convencionais. No entanto, é necessário realizar estudos adicionais, incluindo testes toxicológicos mais aprofundados e ensaios clínicos, para confirmar a segurança e eficácia desses compostos para uso terapêutico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pereira TJ, De Abreu TP. O farmacêutico frente ao risco do uso racional de antibióticos. REASE. 2021 Sep 30;7(9):483-501.
2. Aslam B, Khurshid M, Arshad MI, Muzammil S, Rasool M, Yasmeeen N, et al. Antibiotic resistance: One health one world outlook. Front Cell Infect Microbiol. 2021 Nov 25;11:771510. doi: 10.3389/fcimb.2021.771510
3. Khare T, Anand U, Dey A, Assaraf YG, Chen ZS, Liu Z, et al. Exploring phytochemicals for combating antibiotic resistance in microbial pathogens. Front Pharmacol. 2021 Jul;12:720726. doi: 10.3389/fphar.2021.720726
4. Jikah AN, Edo GI. Mechanisms of action by sulphur compounds in *Allium sativum*. A review. Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine. 2023;9:100323-3. doi: 10.1016/j.prmcm.2023.100323

5. Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. *Nutr J.* 2002 Nov;1:4. doi: 10.1186/1475-2891-1-4
6. Arcusa R, Villaño D, Marhuenda J, Cano M, Cerdà B, Zafrilla P. Potential Role of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in the prevention of neurodegenerative diseases. *Front Nutr.* 2022;9:809621. doi: 10.3389/fnut.2022.809621
7. Andrade M, Patrick, Viana E, Luzia A, Júnior M, Mota T, et al. Plantas Medicinais do Estado do Amapá: dos relatos da população à pesquisa científica. 1 ed. Guarujá (SP): Editora Científica Digital; 2021. Capítulo 12, Estudo fitoquímico, toxicidade em *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) e atividade antibacteriana de *Pseudoxandra cuspidata* MAAS; p. 153-65. doi: 10.37885/210303482
8. Santos KG. Avaliação de diferentes métodos e solventes de extração sobre a composição fenólica de extratos das partes aéreas de *Hexasepalum teres* (Walter) small (Rubiaceae). Instituto Scientia (eBook); 2022.
9. Stanzione F, Giangreco I, Cole JC. Use of molecular docking computational tools in drug discovery. *Prog Med Chem.* 2021;60:273-343. doi: 10.1016/bs.pmch.2021.01.004
10. Gonçalves BF, Ferreira I, Cecilia M, Yonah Favero Gérios, Silva, Alexandre R, et al. Avaliação in silico do potencial anti-inflamatório de flavonoides presentes no extrato aquoso das folhas de *Annona crassiflora* Mart. *CED.* 2024;16(10):e6124-4. doi: 10.55905/cuadv16n10-182
11. Oselusi SO, Nicole, Meyer M, Madiehe AM. *Ehretia* species phytoconstituents as potential lead compounds against *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase: A Computational approach. *BioMed Res Int.* 2023;(1):8022356. doi: 10.1155/2023/8022356
12. Pavinatto A, Soares AC, Bassi B. Filmes Drop-Casting e Dip-Coating. Nanotecnologia aplicada a polímeros. 2022 Jan;303-26. doi: 10.5151/9786555502527-09
13. Costa, AF. Farmacognosia. 5. ed. Lisboa (PT): Fundação Calouste Gulbenkian; 1994.
14. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello GCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre (RS): UFRGS; 2007.
15. Shaweta S, Akhil S, Utsav G. Molecular Docking studies on the Anti-fungal activity of *Allium sativum* (Garlic) against Mucormycosis (black fungus) by BIOVIA discovery studio visualizer 21.1.0.0. *Ann Antivir Antiretrovir.* 2021;5(1):028-32. doi: 10.17352/aaa.000013
16. Lima IP, Silva PC, Lima HWA, Becker AHC, Pinheiro CS, Sousa JA. Estudo in silico das atividades farmacológicas, toxicológicas dos compostos secundários do *Zingiber officinale* Roscoe e análise de suas possíveis interações com alvos do processo inflamatório. *Health and Biosciences.* 2024;5(2):5-30. doi: 10.47456/hb.v5i2.44631
17. Royal Society of Chemistry. ChemSpider [Internet]; 2019 [acesso em 10 de jan 2025]. Disponível em: <https://www.chemspider.com/>.
18. Pemberton OA, Chen Y. RCSB PDB - 5UJ4: Crystal structure of the KPC-2 beta-lactamase complexed with hydrolyzed faropenem. Protein Data Bank [Internet]; 16 jan 2017 [acesso em 2 fev 2025]. Disponível em: <https://www.rcsb.org/structure/5uj4>.
19. De Sousa AP, Cordeiro LV, Da Silva Souza HD, Vanderlei De Souza MF, Da Silveira e Sá RC, De Oliveira Filho AA. Avaliação da citotoxicidade *in vitro* e genotoxicidade *ex-vivo* em compostos da *Pavonia glazioviana* Gürke (Malvaceae). *Rev Ciênc Méd Biol.* 2022;21(1):53-9. doi: 10.9771/cmbio.v21i1.47445
20. Panda N, Panigrahi SP, Gupta MK, Kumari A, Mehta D, Goswami TD, et al. View of phytochemical screening and pharmacological study of antidiabetic potential and bioactive compounds present in *Allium Sativum*. *JCHR.* 2024;14(1):2646-54.
21. Ahmed N, Karobari MI, Yousaf A, Mohamed RN, Arshad S, Basheer SN, et al. The Antimicrobial Efficacy Against Selective Oral Microbes, Antioxidant Activity and Preliminary Phytochemical Screening of *Zingiber officinale*. *Infect and Drug Resist.* 2022;15:2773-85. doi: 10.2147/idr.s364175
22. Claro RO, Rivero-Wendt CLG, De Oliveira AKM, Pedrinho DR, Bono JAM, Matias R. Efeitos da Sazonalidade e da Adubação na Composição Química de *Genipa americana* L. *Ensaios e Ciência.* 2024;28(2):209-17. doi: 10.17921/1415-6938.2024v28n2p209-217
23. Ding L, Shi Q, Han R, Yin D, Wu S, Yang Y, et al. Comparison of four Carbapenemase detection methods for bla_{KPC-2} variants. *Microbiol Spectr.* 2021;9(3):e0095421. doi: 10.1128/spectrum.00954-21
24. Tooke CL, Hinchliffe P, Bonomo RA, Schofield CJ, Mulholland AJ, Spencer J. Natural variants modify *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) acyl-enzyme conformational dynamics to extend antibiotic resistance. *J Biol Chem.* 2021;296:100-26. doi: 10.1074/jbc.ra120.016461
25. Castro-Alvarez A, Costa A, Vilarrasa J. The Performance of several docking programs at reproducing protein-macrolide-like crystal structures. *Molecules.* 2017;22(1):136. doi: 10.3390/molecules22010136

26. Pereira M, Pereira CT, Medeiros C, Barbosa-Filho JM, Maia GLA, Sousa AP, et al. Avaliação da citotoxicidade em hemácias de humano-s do extrato etanólico de *Praxelis clematidea* (Griseb.). Rev Colomb Cienc Quim Farm. 2022;51(2):860-70. doi: 10.15446/rcciquifa.v51n2.98326
27. Țigu AB, Moldovan CS, Toma VA, Farcaș AD, Moț AC, Jurj A, et al. Phytochemical analysis and in vitro effects of *Allium fistulosum* L. and *Allium sativum* L. extracts on human normal and tumor cell lines: A Comparative study. Molecules. 2021;26(3):574. doi: 10.3390/molecules26030574
28. Al-Shibani N, Al-Kattan R, Alssum L, Allam E. Effects of ginger (*Zingiber officinale*) on gingival fibroblasts: An *in vitro* study. Clin Exp Dent Res. 2022;8(4):906-11. doi: 10.1002/cre2.575
29. Xavier YKS, Sobreira RCB, Sousa-Junior JB, Santos ERSL, Lima MIA, Ferreira AMMS, et al. Investigação fitoquímica e avaliação da atividade hemolítica e toxicológica do extrato etanólico obtido da mistura de sementes e vagens de *Caesalpinia echinata* Lam. BJD. 2021;7(3):27341-52. doi: 10.34117/bjdv7n3-26533