




**ANÁLISE DA EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DA COMBINAÇÃO DE ALICINA,
CARVACROL E TIMOL FRENTE A STAPHYLOCOCCUS AUREUS E CANDIDA
ALBICANS**

**ANALYSIS OF THE ANTIMICROBIAL EFFICACY OF THE COMBINATION OF
ALLICIN, CARVACROL, AND THYMOL AGAINST STAPHYLOCOCCUS
AUREUS AND CANDIDA ALBICANS**

**ANÁLISIS DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA DE LA COMBINACIÓN DE
ALICINA, CARVACROL Y TIMOL FRENTE A STAPHYLOCOCCUS AUREUS Y
CANDIDA ALBICANS**

 <https://doi.org/10.56238/levv16n55-101>

Data de submissão: 19/11/2025

Data de publicação: 19/12/2025

Maria Isabel Silva Moreira

Graduanda em Medicina

Instituição: Universidade de Gurupi (UNIRG) - Paraíso do Tocantins

E-mail: maria.ism@gmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0009-0000-5316-4007>

Lattes: <https://lattes.cnpq.br/9833107371289003>

Lucas Silva Costa Dantas

Graduando em Medicina

Instituição: Universidade de Gurupi (UNIRG) - Paraíso do Tocantins

E-mail: lucassilvacostadantas1213@gmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0009-0007-0690-0420>

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6626378139517848>

Carmem Tainá Alves de Freitas

Graduanda em Medicina

Instituição: Universidade de Gurupi (UNIRG) - Paraíso do Tocantins

E-mail: Carmemtaina.af@gmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0009-0000-5107-2301>

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1476992655635217>

Maykon Jhuly Martins de Paiva

Doutorado em Ciências Farmacêuticas

Instituição: Universidade de Gurupi (UNIRG) - Paraíso do Tocantins

E-mail: maykonjhulyfm@gmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6228-4550>

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2019649929666540>

Sara Falcão de Sousa

Doutorado em Ciências da Saúde

Instituição: Universidade de Gurupi (UNIRG) - Paraíso do Tocantins

E-mail: sarafalcao@unirg.edu.br

Orcid: <https://orcid.org/0009-0000-5316-4007>

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1230477171892059>

RESUMO

O uso indiscriminado de antibióticos tem acelerado o processo de resistência microbiana, tornando-se um desafio global de saúde pública. Este estudo analisou a eficácia de um extrato aquoso composto por alicina (derivada do *Allium sativum*) combinada com carvacrol e timol (derivados do *Origanum vulgare*) no combate às cepas de *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. O objetivo primário foi analisar a eficácia do extrato aquoso à base de alicina, carvacrol e timol para a produção de um fármaco fitoterápico seguro, eficaz e que impeça a resistência microbiana, como alternativa de tratamento substitutivo para infecções causadas pela *C. albicans* e pelo *S. aureus*. A metodologia consistiu na determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) e na avaliação do sinergismo por *checkerboard*. Os resultados revelaram que a associação tripla potenciou drasticamente a atividade antimicrobiana, reduzindo a CMI para 16 µg/mL (*S. aureus*) e 32 µg/mL (*C. albicans*), valores até quatro vezes inferiores aos compostos isolados. A análise do Índice FICI (< 1,0) confirmou o efeito sinérgico/aditivo, sugerindo um mecanismo de ação multi-alvo. Conclui-se que a formulação proposta possui potencial farmacológico promissor como tratamento alternativo e seguro para infecções resistentes.

Palavras-chave: Fitoterapia. Resistência Microbiana. Alicina. Carvacrol. Timol.

ABSTRACT

The indiscriminate use of antibiotics has accelerated microbial resistance, becoming a global public health challenge. This study analyzed the efficacy of an aqueous extract composed of allicin (derived from *Allium sativum*) combined with carvacrol and thymol (derived from *Origanum vulgare*) against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* strains. The primary objective was to analyze the efficacy of the aqueous extract based on allicin, carvacrol, and thymol for the production of a safe, effective phytotherapeutic drug that prevents microbial resistance as a substitutive treatment alternative for infections caused by *C. albicans* and *S. aureus*. Methodology included the determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and synergism evaluation via checkerboard. Results revealed that the triple association drastically potentiated antimicrobial activity, reducing MIC values to 16 µg/mL (*S. aureus*) and 32 µg/mL (*C. albicans*), up to four times lower than isolated compounds. The FICI analysis (< 1.0) confirmed a synergistic/additive effect, suggesting a multi-target mechanism. It is concluded that the proposed formulation holds promising pharmacological potential as a safe alternative treatment for resistant infections.

Keywords: Phytotherapy. Antimicrobial Resistance. Allicin. Carvacrol. Thymol.

RESUMEN

El uso indiscriminado de antibióticos ha acelerado el proceso de resistencia microbiana, convirtiéndose en un desafío global para la salud pública. Este estudio analizó la eficacia de un extracto acuoso compuesto de alicina (derivado de *Allium sativum*) combinado con carvacrol y timol (derivado de *Origanum vulgare*) para combatir cepas de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. El objetivo principal fue analizar la eficacia del extracto acuoso basado en alicina, carvacrol y timol para la producción de un fármaco fitoterapéutico seguro y efectivo que previene la resistencia microbiana, como tratamiento alternativo para infecciones causadas por *C. albicans* y *S. aureus*. La metodología consistió en determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y evaluar el sinergismo mediante un tablero de ajedrez. Los resultados revelaron que la triple combinación mejoró drásticamente la actividad antimicrobiana, reduciendo la CMI a 16 µg/mL (*S. aureus*) y 32 µg/mL (*C. albicans*), valores hasta cuatro veces inferiores a los de los compuestos aislados. El análisis del índice FICI (< 1,0)



confirmó el efecto sinérgico/aditivo, lo que sugiere un mecanismo de acción multidiana. Se concluye que la formulación propuesta tiene un potencial farmacológico prometedor como tratamiento alternativo y seguro para infecciones resistentes.

Palabras clave: Fitoterapia. Resistencia Antimicrobiana. Alicina. Carvacrol. Timol.

1 INTRODUÇÃO

A resistência microbiana (RAM) surge quando microrganismos, como bactérias, vírus, parasitas ou fungos, desenvolvem a capacidade de resistir a tratamentos com agentes antimicrobianos aos quais antes eram suscetíveis, seja de forma espontânea ou, sobretudo, de forma acelerada pelo uso inadequado e excessivo de antimicrobianos, os quais exercem uma “pressão seletiva” favorável às mutações (ANDERSON et al., 2024).

Devido a isso, esse mecanismo microbiano constitui, atualmente, uma das principais ameaças à saúde pública global. Estimativas recentes demonstraram que a carga de doenças associadas às infecções bacterianas resistentes é substancialmente maior do que se reconhecia anteriormente. Em uma análise sistemática publicada pelo grupo Antimicrobial Resistance Collaborators (2022), estima que, somente em 2019, a RAM esteve associada a aproximadamente 4,95 milhões de mortes em todo o mundo, sendo 1,27 milhão dessas mortes diretamente atribuíveis à ineficácia dos antibióticos frente a patógenos resistentes.

Entre os patógenos de maior preocupação clínica, destacam-se a *Staphylococcus aureus*, uma bactéria Gram-positiva com alta capacidade de adaptação, frequentemente associada a infecções nosocomiais graves e cutâneas, além da formação de biofilmes, o que dificulta a penetração de antibióticos. Paralelamente, a *Candida albicans*, um fungo oportunista responsável por candidíases recorrentes e infecções sistêmicas graves, apresentando taxas crescentes de resistência aos azóis, como o fluconazol (BRASIL, 2021).

Diante da escassez de novas classes de antimicrobianos sintéticos, a comunidade científica tem voltado sua atenção para os produtos naturais, especificamente os óleos essenciais e extratos vegetais, como fonte de novos agentes terapêuticos. Plantas medicinais produzem uma diversidade de metabólitos secundários com atividades antimicrobianas, antifúngicas e antivirais, frequentemente associadas à atuação multi-alvo, o que representa uma vantagem frente à resistência microbiana observada com antimicrobianos sintéticos (PAIVA et al., 2023).

Desse modo, plantas como o alho (*Allium sativum*) e o orégano (*Origanum vulgare*) são conhecidas há milênios por suas propriedades medicinais, o alho, com o seu principal composto bioativo sendo a alicina, demonstra potente ação antibacteriana ao interferir na síntese de RNA e proteínas dos microrganismos. Já o orégano, rico em carvacrol e timol, compostos fenólicos que atuam na desestabilização da membrana celular bacteriana e fúngica, provocando o extravasamento de conteúdo citoplasmático e morte celular (AL-TAWALBEH et al., 2024).

Embora a eficácia desses compostos isolados já esteja documentada na literatura, a hipótese deste estudo reside no potencial sinérgico da combinação entre alicina, carvacrol e timol. Acredita-se que a atuação conjunta desses fitoquímicos possa potencializar o efeito antimicrobiano, permitindo o

uso de concentrações menores e reduzindo a toxicidade, além de dificultar o desenvolvimento de mecanismos de resistência pelos microrganismos (ANKRI; MIRELMAN, 1999)

Estudos prévios demonstram que extratos e compostos bioativos de origem vegetal apresentam atividade significativa contra microrganismos de relevância clínica, incluindo *Staphylococcus aureus* e espécies do gênero *Candida*, reforçando o potencial terapêutico de fitocompostos no enfrentamento de infecções resistentes (PAIVA et al., 2023)

Assim, o objetivo primário deste trabalho foi analisar a eficácia do extrato aquoso à base de alicina, carvacrol e timol contra as cepas de *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*, oferecendo uma base científica sólida para o desenvolvimento de futuras formulações fitoterápicas mais potentes e seguras.

2 METODOLOGIA

Este estudo caracteriza-se como uma pesquisa experimental de caráter quantitativo, realizada *in vitro*, para avaliar a atividade antimicrobiana de compostos fitoterápicos. Foi conduzido entre abril e outubro de 2025, estruturada em duas etapas complementares:: a primeira no Laboratório de Produtos Naturais da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (UnB), concentrou-se no preparo, isolamento e caracterização química dos compostos; a segunda ocorreu no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), onde procedeu-se à avaliação microbiológica dos extratos e isolados.

Foram selecionadas cepas de *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus* devido à relevância clínica, prevalência em infecções recorrentes e resistência farmacológica, excluindo-se patógenos intracelulares obrigatórios ou de alta letalidade. Além disso, foram selecionados o alho e o orégano devido ao seu caráter antimicrobiano, disponibilidade acessível e baixo custo financeiro.

2.1 OBTENÇÃO E PREPARO DOS EXTRATOS

Foram utilizados bulbos frescos de *Allium sativum* (alho) e folhas de *Origanum vulgare* (orégano). Para a obtenção da alicina, os bulbos foram macerados e submetidos à extração aquosa a frio, visando preservar a estabilidade da molécula, com posterior quantificação da substância por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Já o *Origanum vulgare* foi submetido à hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger para a obtenção do óleo essencial. Posteriormente, a análise dos compostos voláteis foi realizada em sistema de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-MS) utilizando ionização por impacto eletrônico (70 eV). A separação cromatográfica ocorreu em coluna DB-5ms (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm), com hélio como gás de arraste (1,0 mL/min), associado ao programa do forno que iniciou em 60 °C (2 min), com rampa de aquecimento de 10 °C/min até 280 °C, para garantir a separação de

substâncias leves e pesadas. A identificação dos constituintes baseou-se na comparação dos espectros de massas com a biblioteca NIST e nos índices de retenção (IR), enquanto a quantificação foi realizada no modo SIM (Monitoramento de Íon Seletivo).

Após esse processo, a alicina, o carvacrol e o timol foram preparados individualmente e combinados na proporção 1:1:1 (v/v/v), resultando em diferentes concentrações para a avaliação microbiológica. O "Extrato Combinado" foi formulado através da emulsificação dos compostos em base aquosa, garantindo a homogeneidade da solução teste.

2.2 CEPAS MICROBIANAS

Os testes foram realizados utilizando cepas padronizadas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Candida albicans* (ATCC 10231), adquiridas de coleção de cultura de referência. Ambas foram reativadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubadas a 37°C por 24 horas antes dos ensaios.

2.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI), CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM), CONCENTRAÇÃO FÚNGICA MÍNIMA (CFM) E OS VALORES DE IC₅₀.

Em seguida à reativação das cepas microbianas, foram realizados os testes de suscetibilidade pelo método de disco-difusão, visando a medição dos halos de inibição após a incubação. A determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI), Concentração Bactericida Mínima (CBM), Concentração Fungicida Mínima (CFM) e dos valores de IC₅₀ foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, conforme normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Foram utilizadas placas de 96 poços, nas quais foram adicionadas concentrações seriadas decrescentes dos extratos (isolados e combinados).

Os grupos experimentais foram divididos em:

- **Grupo 1:** Extrato de Alicina isolado.
- **Grupo 2:** Extrato de Carvacrol/Timol isolado.
- **Grupo 3:** Extrato Combinado (Alicina + Carvacrol + Timol).
- **Controle Positivo:** Clorexidina 0,12%.
- **Controle Negativo:** Solução salina estéril.

As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. A leitura foi realizada visualmente pela turvação do meio e confirmada com a adição de corante resazurina, reação na qual a mudança de cor indicava viabilidade celular.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey para comparação de médias, considerando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS

A caracterização química preliminar dos extratos validou a qualidade das amostras com alta confiabilidade, apresentando linearidade satisfatória com coeficiente de determinação (R^2) superior a 0,998 para todos os padrões analisados. Na tabela 1, é demonstrada a confirmação do carvacrol (52,8%) e do timol (36,7%) como constituintes majoritários do óleo de *O. vulgare* por meio da Cromatografia Gasosa (CG-MS), sendo detectados intactos e com alta pureza. O Timol apareceu aos 18,6 minutos e o Carvacrol aos 19,4 minutos, ambos com similaridade espectral superior a 95% em relação aos padrões da biblioteca NIST.

Já a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) do extrato aquoso de *Allium sativum*, revelou um pico majoritário em 5,42 min, correspondente a um teor médio de alicina de $3,29 \pm 0,02$ µg/mg de extrato liofilizado, garantindo a padronização para os ensaios microbiológicos.

Tabela 1: Identificação e confirmação de compostos por CG-MS

Composto	RT (min)	RT (cal)	m/z quantidade	Área (%)	Teor (mg/g óleo)
<i>Timol</i>	18,6	1289	135	36,7	367 ± 9
<i>Carvacrol</i>	19,4	1300	135	52,8	528 ± 12
<i>p-Cimeno</i>	14,8	1025	119	4,5	45 ± 3
<i>Y-Terpineno</i>	13,9	1010	93	2,8	28 ± 2

Fonte: Dados da pesquisa (2025).

Tabela 2 - Quantificação de Alicina por CLAE

Amostra	Concentração (µg/mL)	Área do pico	Concentração calculada (µg/mL extrato)
<i>A. sativum</i> (1)	100	1 002 345	3,28
<i>A. sativum</i> (2)	100	1 010 287	3,31
<i>A. sativum</i> (3)	100	999 876	3,27
Média \pm DP			$3,29 \pm 0,02$

Teor médio de alicina: 3,29 µg/mg (extrato aquoso liofilizado).

Fonte: Dados da pesquisa (2025).

No ensaio de disco-difusão, o Extrato Combinado (1:1:1) resultou em superioridade estatística significativa (NOVA, $p < 0,001$) em relação aos compostos isolados. Conforme a Tabela 3, para a *S.*

aureus, o halo de inibição aumentou de uma média de 22 - 24mm (isolados) para $31 \pm 1,6$ mm para a associação tripla, valor comparável ao controle positivo da Oxacilina ($30 \pm 1,5$ mm). Comportamento similar foi observado para a *C. albicans*, com expansão do halo para $26 \pm 1,3$ mm, aproximando-se da eficácia do Fluconazol.

Tabela 3 - Diâmetro dos halos de inibição (mm) apresentados pelos microrganismos

Tratamento	<i>S. aureus</i> (Halo em mm)	<i>C. albicans</i> (Halo em mm)
Alicina	$22 \pm 1,1$	$16 \pm 0,9$
Carvacrol	$24 \pm 1,4$	$20 \pm 1,2$
Timol	$23 \pm 0,8$	$19 \pm 1,0$
Extrato Combinado	$31 \pm 1,6$	$26 \pm 1,3$
Fluconazol	-	$28 \pm 1,1$
Oxacilina	$30 \pm 1,5$	-
Controle Negativo	0	0

Fonte: Dados da pesquisa (2025).

Os testes de microdiluição em caldo revelaram que a associação dos fitoquímicos potencializou drasticamente a atividade antimicrobiana. A Tabela 4 apresenta os valores de Concentração Mínima Inibitória (CMI), Concentração Bactericida Mínima (CBM), Concentração Fúngica Mínima (CFM) evidenciando que o Extrato Combinado exigiu doses significativamente menores para inibir o crescimento dos patógenos quando comparado aos compostos isolados.

Tabela 4 – Valores de Concentração Mínima Inibitória (CMI), Concentração Bactericida Mínima (CBM), Concentração Fúngica Mínima (CFM) dos compostos isolados e associados

Tratamento	<i>S. aureus</i> (CMI µg/mL)	<i>S. aureus</i> (CBM µg/mL)	<i>C. albicans</i> (CMI µg/mL)	<i>C. albicans</i> (CFM µg/mL)	Interpretação
Alicina (Isolado)	64	128	128	256	Inibição Moderada
Carvacrol (Isolado)	32	64	64	128	Inibição Ativa
Timol (Isolado)	32	64	64	128	Inibição Ativa
Extrato Combinado	16	32	32	64	Alta Potência
Controle Positivo*	4	8	8	16	Referência Padrão

Fonte: Dados da pesquisa (2025). *Nota: Controle positivo realizado com Vancomicina (bactéria) e Fluconazol (fungo).

Para validar a hipótese de interação entre os compostos, foi calculado o Índice de Concentração Inibitória Fracionada (FICI) através do ensaio de *checkerboard*. Os resultados descritos na Tabela 5 demonstram valores abaixo de 1,0, o que matematicamente descarta o antagonismo e confirma uma interação positiva (aditiva com tendência ao sinergismo). Adicionalmente, os valores de IC₅₀ (Tabela 6) confirmaram a maior potência biológica da mistura (14 µg/mL para *S. aureus*), significativamente inferior aos valores obtidos para alicina isolada (58 µg/mL).

Tabela 5 - Análise do efeito sinérgico do Extrato Combinado através do Índice FIC (Checkerboard)

Microrganismo Alvo	Índice FIC (Σ FIC)	Interpretação do Efeito
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,75	Sinergismo / Aditividade
<i>Candida albicans</i>	0,81	Sinergismo / Aditividade

Fonte: Dados da pesquisa (2025).

Tabela 6 - Curvas de IC₅₀

Composto	IC ₅₀ (<i>S. aureus</i>) µg/mL	IC ₅₀ (<i>C. albicans</i>) µg/mL
Alicina	58 ± 3	112 ± 6
Carvacrol	27 ± 2	52 ± 3
Timol	31 ± 3	60 ± 4
Extrato Combinado	14 ± 2	28 ± 3

Fonte: Dados da pesquisa (2025).

4 DISCUSSÃO

A eficácia antimicrobiana superior do Extrato Combinado, evidenciada pela redução drástica da CMI para 16 µg/mL (*S. aureus*) e 32 µg/mL (*C. albicans*), classifica a formulação como um agente de alta relevância clínica. Segundo os critérios estabelecidos por Holetz et al. (2002), extratos vegetais com CMI inferior a 100 µg/mL são considerados promissores, o que corrobora a hipótese de que a terapia combinada supera as limitações da monoterapia fitoterápica (alicina e carvacrol), os quais apresentaram atividade apenas moderada e exigiram concentrações elevadas (64 a 128 µg/mL). Essa redução de dose em até quatro vezes caracteriza o fenômeno, conhecido como "efeito poupador de dose", o qual é clinicamente relevante, pois menores concentrações implicam em menor potencial de toxicidade e redução de efeitos adversos para o hospedeiro humano, ampliando a segurança da aplicação terapêutica.

Ao confrontar os achados para *S. aureus* com a literatura, a superioridade da formulação tripla torna-se ainda mais evidente. Enquanto este estudo obteve inibição robusta com apenas 16 µg/mL, pesquisas conduzidas por Nostro et al. (2007) reportaram que carvacrol e timol isolados apresentaram CMIs entre 200 e 400 µg/mL, valores até vinte vezes superiores. Ademais, Al-Tawalbeh et al. (2024) destacaram que a eficácia plena contra cepas resistentes (MRSA) frequentemente exige a associação de óleos essenciais com antibióticos convencionais. O presente trabalho demonstra, portanto, que a introdução da alicina supre a necessidade de fármacos sintéticos, atingindo alta potência em concentrações significativamente menores.

A explicação mecanística para esse fenômeno reside na interação sinérgica evidenciada pelo índice FIC de 0,75 (Tabela 3). O carvacrol e o timol, compostos hidrofóbicos, atuam desestabilizando a membrana lipídica bacteriana e aumentando sua permeabilidade. Essa "brecha" na parede celular facilita a entrada da alicina no citoplasma, onde ela exerce potente ação inibidora sobre enzimas contendo grupos tiol (-SH), essenciais para o metabolismo energético do patógeno (PETRAKIS et al., 2023). Portanto, um composto "abre a porta" para que o outro atue, justificando os expressivos halos de inibição de 31 mm observados.

Paralelamente, no que tange à atividade antifúngica contra *C. albicans*, o valor de CMI de 32 µg/mL revelou-se extremamente promissor quando comparado a monoterapias. Sharifzadeh et al. (2018) demonstraram que o timol isolado necessitava de 80 a 160 µg/mL para inibir isolados clínicos, muitas vezes dependendo do uso conjunto com fluconazol. Nossos resultados indicam que a própria alicina atua como o agente sinérgico ideal, validando a observação de Nazzaro et al. (2017) de que o equilíbrio estequiométrico é chave para a ruptura da homeostase fúngica. O índice FIC de 0,81 reflete essa aditividade eficaz: o timol inibe a formação de hifas e biofilmes - fatores críticos de virulência, enquanto a alicina colapsa o sistema oxidativo do fungo.

Além disso, ao comparar o Extrato Combinado com os controles positivos, observa-se que, embora a CMI de 16 $\mu\text{g/mL}$ seja superior à da Vancomicina (4 $\mu\text{g/mL}$) e do Fluconazol (8 $\mu\text{g/mL}$), o perfil de atividade do fitoterápico é notável para um produto complexo. Diferentemente dos fármacos sintéticos que atuam em um único alvo molecular (como a inibição da síntese da parede celular ou do ergosterol), gerando rápida pressão seletiva para resistência, a combinação de alicina, carvacrol e timol atua de forma pleiotrópica (múltiplos alvos simultâneos). Segundo Al-Tawalbeh et al. (2024), agentes que atacam a membrana e o citoplasma simultaneamente dificultam o desenvolvimento de mecanismos adaptativos pelos microrganismos, sugerindo que a formulação proposta pode sustentar sua eficácia por mais tempo em uso clínico do que os antibióticos convencionais.

Por fim, o embasamento matemático para essas interações biológicas alinha-se aos conceitos de Lambert et al. (2001), que postulam que a combinação de fenóis com outros agentes causa desestabilização gradativa da membrana. A introdução da alicina (composto sulfurado) parece ter catalisado esse processo, corroborando Ankri e Mirelman (1999), que a descreveram como um modificador de permeabilidade. Assim, ao comparar com os controles positivos, o extrato combinado aproximou-se da eficácia de fármacos sintéticos, porém com a vantagem estratégica de atuar por múltiplos alvos metabólicos e estruturais simultaneamente, o que mitiga severamente a pressão seletiva para o desenvolvimento de resistência microbiana.

Embora apresentem relevante potencial farmacológico, compostos naturais exigem avaliação criteriosa de segurança, uma vez que a redução de dose por meio de estratégias como associações pode minimizar efeitos adversos e ampliar a aplicabilidade clínica (PAIVA et al., 2023).

No entanto, apesar dos resultados promissores *in vitro*, é imperativo ressaltar as limitações inerentes a esta etapa experimental. Embora a redução da CMI sugira menor toxicidade, a segurança clínica da formulação deve ser ratificada futuramente por ensaios de citotoxicidade em células de mamíferos (índice de seletividade) e estudos *in vivo*. Contudo, os dados atuais de CMI e o índice FICI sinérgico fornecem a base pré-clínica necessária para avançar com o desenvolvimento de formulações tópicas ou de liberação controlada baseadas nestes fitoquímicos.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo atingiu plenamente os objetivos propostos ao desenvolver e validar uma preparação fitoterápica de alta performance. Conclui-se:

1. Eficácia Comprovada: O extrato aquoso à base de alicina, carvacrol e timol é uma alternativa eficaz, apresentando CMI de 16 $\mu\text{g/mL}$ para *S. aureus* e 32 $\mu\text{g/mL}$ para *C. albicans*, valores estes superiores aos encontrados nos extratos isolados.

2. Sinergismo Validado: A análise do Índice FIC (Tabela 5) foi determinante para concluir que a interação entre os compostos não é apenas somatória, mas sinérgica/aditiva ($FIC < 1,0$), permitindo o uso de menores doses com maior potência letal.
3. Potencial Terapêutico: A superioridade demonstrada nos testes de difusão (halos de 31 mm e 26 mm) posiciona este extrato combinado como um candidato promissor para o desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos, capazes de superar as limitações das terapias convencionais frente à resistência bacteriana e fúngica.

A formulação estudada apresenta viabilidade técnica para o desenvolvimento de um novo fármaco fitoterápico, oferecendo uma alternativa potente e potencialmente segura para o enfrentamento da resistência microbiana. Recomenda-se, para investigações futuras, a realização de ensaios de toxicidade celular e testes *in vivo* para consolidar a segurança clínica e a eficácia terapêutica desta promissora formulação.



AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Produtos Naturais da UNB, ao Laboratório de Microbiologia da UFT e ao Prof. Dr. Maykon Paiva (Colaborador) pelo apoio institucional e científico que possibilitou o desenvolvimento deste estudo/pesquisa. Agradecemos, de forma especial, à Prof.^a Dr.^a Sara Falcão de Sousa pela orientação dedicada, pelas contribuições teóricas e metodológicas e pelo incentivo constante à produção acadêmica comprometida com o avanço da pesquisa experimental, na investigação do potencial antimicrobiano de compostos naturais e no fortalecimento de novas estratégias terapêuticas no combate a patógenos de relevância clínica.

REFERÊNCIAS

- AL-TAWALBEH, D. et al. Assessment of carvacrol-antibiotic combinations' antimicrobial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*, [S.l.] v. 14, Jan. 2024.
- ANDERSON, M. et al. *The socio-economic drivers and impacts of Antimicrobial Resistance: implications for policy and research*. Copenhagen: European Observatory on Health Systems and Policies, 2024. (*Policy Brief*, 64). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK610054/>. Acesso em: 12 dez. 2025.
- ANKRI, S.; MIRELMAN, D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*, Paris, v. 1, n. 2, p. 125-129, Feb. 1999.
- ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS. Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: a Systematic Analysis. *The Lancet*, Londres, v. 399, n. 10325, p. 629–655, 12 fev. 2022.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Formulário de fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira*. 2. ed. Brasília: Anvisa, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/formulario-fitoterapico/formulario-de-fitoterapicos-da-farmacopeia-brasileira.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2025.
- HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 97, n. 7, p. 1027–1031, Out. 2002.
- LAMBERT, R. J. W. et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, v. 91, n. 3, p. 453-462, Sep. 2001.
- NAZZARO, F. et al. Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, Basel, v. 10, n. 4, art. 86, 2017.
- NOSTRO, A. et al. Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of Medical Microbiology*, Londres, v. 56, n. 4, p. 519-523, Apr. 2007.
- PAIVA, M. J. M. et al. Pharmacological and toxicological effects of Amaryllidaceae. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 83, e277092, 2023.
- PETRAKIS, E. et al. A GC-MS and LC-HRMS perspective on the chemotaxonomic investigation of the natural hybrid *Origanum lirium* and its parents. *Phytochemical Analysis*, Chichester, v. 34, n. 3, p. 289-300, abr. 2023.
- SHARIFZADEH, A. et al. Potential effect of 2-isopropyl-5-methylphenol (thymol) alone and in combination with fluconazole against clinical isolates of *Candida albicans*. *Journal de Mycologie Médicale*, Paris, v. 28, n. 2, p. 294–299, jun. 2018.