



Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória *in vitro* por contato do composto isolado valenceno

Evaluation of the antibacterial activity and modulatory in vitro for contact of the composition isolated valencene

Maria de Fátima Guedes Monteiro¹, Cláudia Miely de Sousa Oliveira², Dárcio Luiz de Sousa Júnior, Cícero Roberto Nascimento Saraiva³, Livia Maria Garcia Leandro⁴ Francisco Yhan Pinto Bezerra⁵

Autor correspondente: Dárcio Luiz de Sousa Júnior *E-mail:* darciolsjr@gmail.com

RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana e moduladora *in vitro* por contato gasoso do composto isolado Valenceno. Foram utilizadas as linhagens padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Escherichia coli* 25922 e multirresistentes de *S. aureus* 358, *E. coli* 27, para o ensaio de modulação foram usados discos dos antibióticos amicacina, gentamicina, ciprofloxacina e norfloxacina. Através da técnica de contato gasoso, foi verificada a ação direta do Valenceno sobre as cepas bacterianas e o potencial modificador da atividade dos antibióticos quando associados, com os resultados sendo avaliados a partir do tamanho do halo de inibição de crescimento microbiano. Os ensaios foram realizados em triplicata, e expressos como a média geométrica. Na análise estatística foi aplicada ANOVA two-way seguida do teste de Bonferroni, considerando significância de $p \leq 0,05$. Na atividade direta do Valenceno não foi obtido resultados para ambas as cepas. Nos testes de modulação foi apresentado resultado estatisticamente significante quando o valenceno foi associado às bactérias padrão e multirresistentes de *E. coli*, e *S. aureus*. Novas e aprofundadas pesquisas devem ser desenvolvidas em busca da ampliação e comprovação do conhecimento do composto estudado. Os resultados obtidos são promissores e poderão estimular no desenvolvimento de outras novas pesquisas.

Palavras-chave: Composto Isolado, Efeito Modulador, Resistência Bacteriana Valenceno.

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the *in vitro* antibacterial and modulating activity by gas contact of the isolated compound Valencene. The standard strains of *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Escherichia coli* 25922 and multidrug-resistant *S. aureus* 358, *E. coli* 27 were used, and disks of the antibiotics amikacin, gentamicin, ciprofloxacin and norfloxacin were used for the modulation test. Using the gas contact technique, the direct action of Valencene on the bacterial strains and the potential for modifying the activity of the antibiotics when associated were verified, with the results being evaluated based on the size of the microbial growth inhibition halo. The tests were carried out in triplicate and expressed as the geometric mean. For statistical analysis, a two-way ANOVA was applied followed by the Bonferroni test, considering a significance level of $p \leq 0.05$. Valencene's direct activity, no results were obtained for either strain. The modulation tests showed statistically significant results when valencene was associated with standard and multi-resistant *E. coli* and *S. aureus* bacteria. Further in-depth research should be carried out to expand and prove the knowledge of the compound studied. The results obtained are promising and could stimulate further research.

Keywords: Bacterial Resistance, Composed Isolated, Effect Modulator, Valenceno.

¹ Graduado em Biomedicina pelo Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (2019). Experiência em Bioquímica, Hematologia, Microbiologia, Parasitologia e Uroanálise. Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular pelo Centro Universitário Doutor Leão Sampaio; Saúde Pública e Vigilância Sanitária pela FAVENI.

² Graduação em Biomedicina pelo Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (2019). Pós-graduação: Bioquímica e Biologia Molecular pelo Centro Universitário Doutor Leão Sampaio.

³ Graduação em Biomedicina pelo Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (2014). Mestrado Química Biológica pela Universidade Regional do Cariri (2020). Doutorado no Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Cariri.

⁴ Biomedicina pelo Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (2013).

⁵ Biomedicina pelo Centro Universitário Doutor Leão Sampaio – UNILEÃO (2013). Especialização em Hematologia e Citologia pela UNILEÃO.



1 INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana aos antibióticos é um problema de saúde pública. O aumento dos casos de resistência é amplamente reconhecido como uma grave ameaça à saúde. Um exemplo de relevância clínica são as infecções causadas por *Staphylococcus aureus*, tanto hospitalares quanto domiciliares, apresentando morbidade e mortalidade elevadas, (RATTI & SOUSA, 2009). *Escherichia coli* é uma bactéria gram-negativa conhecida por propiciar infecções do trato urinário, também apresenta resistência aos antibióticos, como o grupo das quilononas (CRUZ et al., 2015).

Nas últimas décadas, a resistência dos microrganismos a novos antibióticos ou drogas modificadas vem aumentando. Nesse sentido surge a preocupação para a procura de novas alternativas terapêuticas para o combate de infecções (DIAS et al., 2017). É observado um maior número de pesquisas relacionadas ao potencial terapêutico das plantas medicinais, associando os produtos vegetais e/ou seus subprodutos com drogas antimicrobianas, onde pode inibir ou intensificar o efeito terapêutico dos medicamentos convencionais (SARAIVA, 2012).

Os produtos naturais, essencialmente os de origem vegetal, tem

se destacado tanto por mostrar uma eficácia na atividade antibacteriana, como pela sua competência em potencializar o exercício antibiótico. Sendo assim, o uso de itens oriundos dos produtos naturais, pode ser uma via relevante, já que pesquisas demonstram a sua eficiência em reduzir resistência microbiana (TINTINO et al., 2015).

As plantas medicinais aromáticas possuem na sua composição óleos essenciais. Estes são oriundos do metabolismo secundário das plantas e apresentam composição química complexa, destacando-se a presença de terpenos e fenilpropanóides. Esses óleos são encontrados em vários órgãos vegetais, realizando atividades importantes para a sobrevivência deste, particularmente, na defesa contra microrganismos (CORTEZ et al., 2015).

Dentre as substâncias oriundas dos óleos essenciais, encontra-se o Valenceno, que é um sesquiterpeno, composto cítrico proveniente de diversas espécies de citrinos e do óleo essencial de laranja valência. Esse composto possui uma enzima conhecida como valencene sintase que quando comparada a outras sintases sesquiterpênicas possui um desempenho eficiente sob microrganismos (BEEKWILDER et al., 2014; SONG et al., 2024). O composto Valenceno, C₁₅H₂₄ é detectado em pequena concentração em

vegetais cítricos, sendo elaborado biosinteticamente a partir do difosfato de farnesila pela rota bioquímica do mevalonato (ZAMPIERI, 2006).

Estudos envolvendo plantas medicinais que contém o valenceno na composição de seus óleos essenciais foram realizados e apresentaram efeitos antibacterianos e anticancerígenos em diversas cepas de importância clínica, acentuando ainda mais a utilização deste metabólito em pesquisas dessa finalidade (ANUNCIACÃO et al., 2020; MAJEED et al., 2023; CHAKROUN et al., 2023).

Além de ter um valor comercial e industrial importante o valenceno possui algumas bioatividades consideráveis relatadas na literatura, sendo um potente antioxidante revertendo o aumento de espécies reativas de oxigênio e sendo um imunomodulador de citocinas e proteínas específicas (CHEN et al., 2023; CHANDRAN et al., 2024). Este metabólito tem ação intrínseca contra cepas importantes de *S. aureus*, além de bloquear bombas de efluxo das mesmas, demonstrando efeito direto em mecanismos de ação microbiano (OLIVEIRA-TINTINO et al., 2023).

Em decorrência do aumento da resistência de microrganismos patogênicos a múltiplas drogas, surge a preocupação pela busca de novas alternativas terapêuticas. Nesse contexto as atividades

sinérgicas antimicrobianas de compostos isolados extraídos de vegetais necessitam ser estudadas. Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antibacteriana e modulatória *in vitro* por contato gasoso do composto isolado Valencene.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 TIPO DE ESTUDO

O presente estudo trata-se do tipo experimental, visto que foram realizados ensaios para evidenciar a atividade antimicrobiana do material vegetal, bem como avaliar o efeito modulador diante a antibióticos utilizados na clínica.

2.2 LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO DOS TESTES

As atividades foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Leão Sampaio (UNILEÃO), Juazeiro do Norte– CE, no período de Abril a Maio de 2019.

2.3 MEIOS DE CULTURA E OBTENÇÃO DO VALENCENE

O Meio *Brain Heart Infusion* (BHI) e Agar Mueller Hinton (MH) foi o meio de cultura das cepas de escolha, preparado de

acordo com as especificações sugeridas pelo fabricante. O composto Valencene foi obtido comercialmente.

2.4 MICRORGANISMOS

Os microrganismos utilizados nos testes foram as linhagens padrão das seguintes bactérias: *Escherichia coli* 27, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* 358 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, ambas disponibilizadas pelo Centro Universitário Leão Sampaio.

2.5 PREPARO E PADRONIZAÇÃO DO INÓCULO BACTERIANO

As linhagens foram inoculadas em caldo BHI, na concentração indicada pelo fabricante e ficaram incubadas durante 24 horas à temperatura de 37°C para propiciar o desenvolvimento das cepas bacterianas. Estas suspensões acrescidas de bactérias desenvolvidas foram diluídas na proporção de 1:10 em caldo BHI até o equivalente a 10^5 céls/mL (NCCLSI, 2005).

2.6 TESTE DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA POR CONTATO GASOSO

Para realização da semeadura dos microrganismos, foram utilizadas placas de Petri contendo Agar Mueller Hinton (MH). Discos de papéis filtro semelhantes aos de antibiograma que foram colocados no centro de cada placa sobre o semeio e 20 µL do valenceno foi acrescentado sobre eles. Para determinação dos halos de inibição, as placas foram incubadas na estufa a 37°C por 24 horas. Os testes foram realizados em triplicata e para determinação dos halos foi utilizada uma régua milimetrada.

Para a realização atividade moduladora por contato gasoso em placas de Petri contendo Agar Mueller Hinton (MH), foi utilizada a metodologia modificada por Inouye; Takizawa; Yamaguchi (2001). Foram utilizados discos de antibióticos: amicacina, gentamicina, norfloxacina e ciprofloxacina. As placas foram invertidas e 20 µL do valenceno foi acrescentado nas tampas permitindo que a partir da volatilização ocorra a interação com os discos. Outras placas foram preparadas sem o composto para posterior comparação entre placas somente com os antibióticos e placas com antibióticos e composto. Para determinação dos halos de inibição, as placas foram incubadas na estufa a 37°C por 24 horas. Os testes foram realizados em triplicata e para determinação dos halos foi utilizada uma régua milimetrada.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos em média geométrica. Para análise estatística foi aplicada ANOVA two-way seguida do teste de Bonferroni, considerando significância de $p \leq 0,05$.

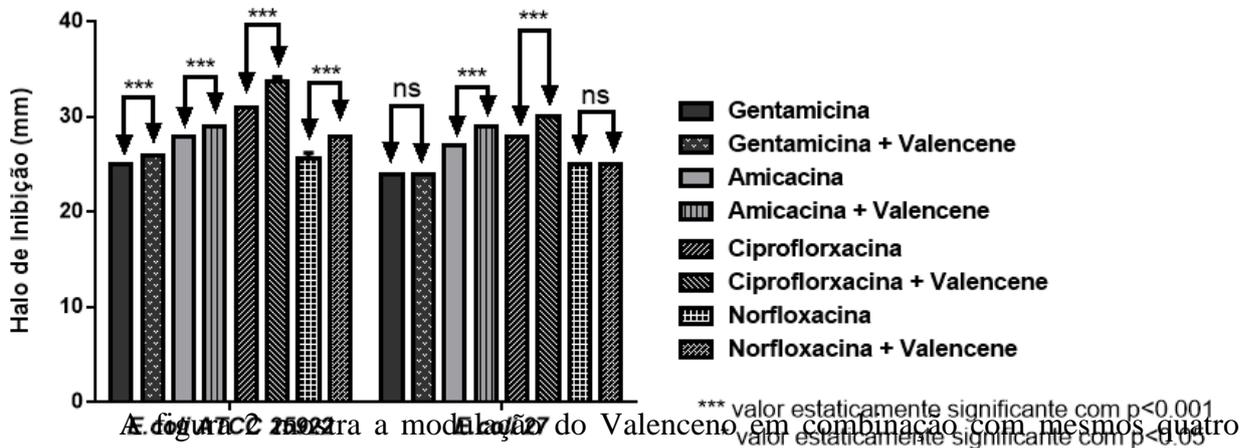
3 RESULTADOS

Na análise da atividade direta, a qual foi realizada apenas com o valenceno, foi analisada a capacidade de formar um

halo de inibição pelo método de contato gasoso, entretanto o terpeno não apresentou atividade bacteriana frente às cepas de *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358.

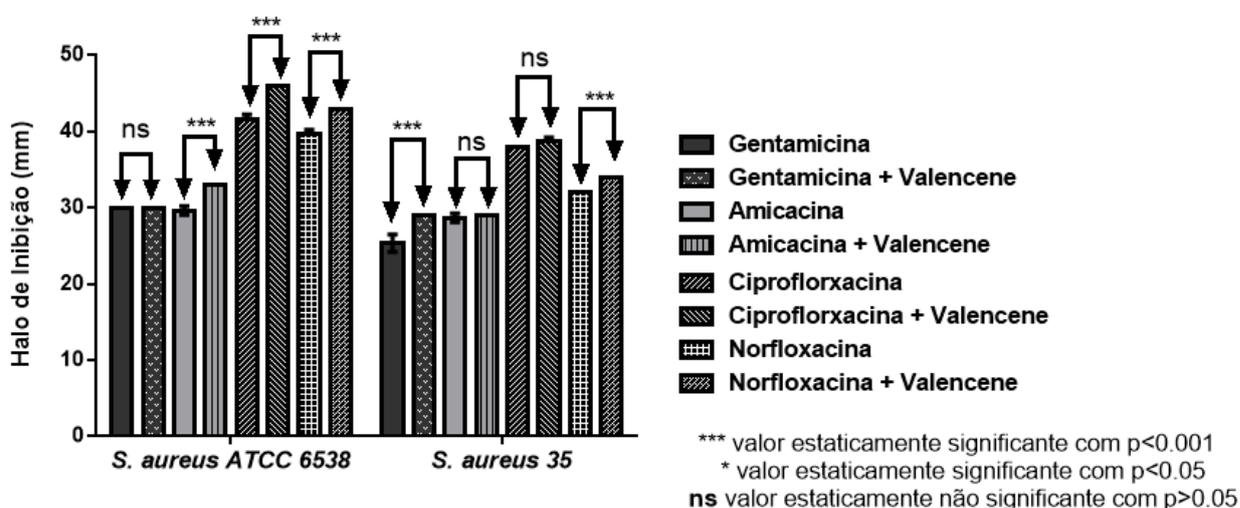
A figura 1 está apresentando os resultados do teste de modulação por contato gasoso do composto isolado Valenceno frente aos antibióticos da classe dos aminoglicosídeos amicacina e gentamicina e da classe das quinolonas norfloxacina e ciprofloxacina. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando o valor de $p \leq 0,001$.

Gráfico 1. Efeito combinado do Valenceno e dos antibióticos frente as cepas padrão e multirresistentes de *E. coli*.



antibióticos utilizados anteriormente pela técnica de contato gasoso frente as cepas de *Staphylococcus aureus*. A CIM dos antibióticos isoladamente quando comparadas a CIM dos mesmos associados ao Valenceno, demonstrou que essa associação modulou a atividade da droga sinergicamente na maioria das drogas testadas. Os resultados são expressos em halos de inibição com valor estatisticamente significativo de $p \leq 0,001$.

Gráfico 2. Efeito combinado do Valenceno e dos antibióticos frente as cepas padrão e multirresistentes de *S. aureus*.



4 DISCUSSÃO

Para as cepas de *E. coli* foi observado que, na cepa padrão (*E. coli* ATCC 25922) houve potencialização do efeito de todos os antibióticos quando associados ao valenceno volatilizado, entretanto, na cepa multirresistente (*E. coli* 27) essa combinação só beneficiou a atividade da amicacina e da ciprofloxacina, não apresentando diferença significativa com os demais fármacos.

Nos ensaios com as cepas de *S. aureus* foram obtidos resultados diferentes quando comparados as cepas gram-negativas. Na cepa padrão (*S. aureus* ATCC 6538) a associação da amicacina, ciprofloxacina e norfloxacina com o valenceno acabou potencializando a ação inicial desses fármacos, não sendo observado esse efeito na gentamicina,

contudo, na cepa multirresistente (*S. aureus* 358) houve um efeito combinado e potencializador, não só com a gentamicina, mas também com a norfloxacina.

De acordo com Beekwilder et al. (2014) o Valenceno está incluso em diversas espécies de citrus, como no óleo essencial da laranja de Valência. Em trabalho realizado por Heberle et al. (2016), foi observado que o óleo essencial extraído principalmente da casca da laranja de valência apresentou uma pequena resposta antibacteriana contra bactérias gram-positivas, destacando-se *Staphylococcus aureus*, no entanto não teve atividade frente as bactérias gram-negativas que foi o caso da bactéria *Escherichia coli*.

Bactérias gram-positivas, tais como *S. aureus* são mais susceptíveis aos óleos essenciais que as bactérias gram-negativas, tais como *Escherichia coli*. Este fato pode ser devido à interação direta das membranas das células com componentes hidrofóbicos dos óleos (CALO et al., 2015).

De acordo com Yang; Dong-ung; Shin, (2014) o Valenceno é um integrante dos sesquiterpenos (denominação dos terpenos), e o composto bioativo mais reputado isolado dos rizomas de *Cyperus rotundus* que é uma planta medicinal que vem sendo utilizada no tratamento de diversas doenças. Pesquisas relatam que o Valenceno possui um amplo espectro farmacológico especificamente como antisséptico, antioxidante e atividade antialérgica.

Estudos recentes realizados por Macedo et al., (2018) mostram que a *Cyperus rotundus*, apesar de possuir bioatividades, sendo assim fonte potencial de antioxidantes naturais, também apresenta citotoxicidade estando esses efeitos biológicos relacionados a compostos fenólicos como os taninos e flavonóides. A pesquisa realizada não apresentou resultados antibacterianos e modulatórios.

No entanto uma avaliação feita por Sharma e Singh (2011), a partir do extrato etanólico de rizomas de *Cyperus rotundus* comprovou a atividade

antibacteriana e modulatória contra a bactéria *Escherichia coli* podendo esse resultado ser referente à presença de metabólitos secundários tais como os terpenos e esteróides.

Em estudo realizado por Parekh e Chanda (2006), para avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato etanólico de plantas inteiras de *C. rotundus* foi relatado que o extrato etanólico de *C. rotundus* apresentou cerca de 70 % de atividade antimicrobiana em todos os microrganismos investigados, tendo mais eficiência contra a maioria das bactérias gram-negativas testadas como a *E. coli*.

Podendo assim explicar os resultados apresentados no presente trabalho, já que o Valenceno é um composto isolado da *C. rotundus*.

Segundo Freitas et al., (2013) as bactérias gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, geralmente são mais sensíveis aos antibióticos que bactérias gram-negativas. Acredita-se que o efeito antimicrobiano está relacionado, principalmente, à modificação na permeabilidade e integridade da membrana celular bacteriana onde, os compostos sesquiterpenicos são capazes de dissolverem-se dentro da membrana plasmática e desta forma penetrar na célula, afetando o metabolismo microbiano.

De acordo com Costa et al., (2008) o Valenceno foi encontrado como sendo um dos compostos majoritários da *Lantana camara* L., Verbenaceae, que é uma planta encontrada em regiões tropicais e subtropicais do mundo. Os ensaios de atividade antimicrobiana *in vitro* mostraram o óleo dessa planta como inibidor do crescimento de quase todas as bactérias testadas, aparecendo *S. aureus* como resistente à ação dos componentes presentes no óleo.

Os resultados obtidos nesse trabalho divergem dos descritos por Costa (2008), onde não houve sensibilidade para *S. aureus*, assim como no estudo de Majeed et al. (2023), o qual o óleo essencial testado, que continha valenceno não demonstrou atividade melhor que os antibióticos controle, já no trabalho de Chakroun et al. (2023) apenas o extrato polar foi mais eficaz contra bactérias gram-positivas. É importante salientar que extratos e óleos essenciais testados podem apresentar resultados mais promissores ou não quando comparados com seus metabólitos secundários isoladamente, além disso os solventes utilizados também podem influenciar na bioatividade desse material, além disso o valenceno isolado pode ter influência indireta na atividade antibacteriana, como é visto nos ensaios de Oliveira-Tintino et al. (2023), no qual ele age em um

mecanismo específico de resistência, como as bombas de efluxo.

CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho corroboram com a ideia de que o Valenceno por ter apresentado atividades modulatórias significantes contra as cepas de bactérias multirresistente, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, pode ser peça importante e promissora no combate a resistência bacteriana, no entanto há necessidade de estudos complementares para confirmar esses achados e possibilitar a sua aplicação clínica.

REFERÊNCIAS

ANUNCIACAO, T. A. et al. In vitro and in vivo inhibition of HCT116 cells by essential oils from bark and leaves of *Virola surinamensis* (Rol. ex Rottb.) Warb.(Myristicaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 262, p. 113166, 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113166>.

BEEKWILDER, J. et al. Valencene synthase from the heartwood of Nootka cypress (*Callitropsis nootkatensis*) for biotechnological production of valencene. *Plant Biotechnology Journal*. v.12, n.5, Março-Agosto, 2014. DOI:

<https://doi.org/10.1111/pbi.12124>.

CALO, J. R. et al. Essential oils as antimicrobials in food systems- A review. *Food Control*, v.54, n.7, Abril-Maio, 2015. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040>.

CHAKROUN, Ibtissem et al. Phytochemical constituents and potential applications of Thomson navel orange (*Citrus × aurantium* var. *sinensis* L.) peel extracts: antioxidant, antimicrobial and antiproliferative properties. *Industrial Crops and Products*, v. 206, p. 117597, 2023.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117597>.

CHANDRAN, Mahesh et al. Valencene ameliorates ox-LDL induced foam cell formation by suppressing inflammation and modulating key proteins involved in the atherogenesis on THP-1 derived macrophages. *Human Gene*, v. 42, p. 201330, 2024.

<https://doi.org/10.1016/j.humgen.2024.201330>.

CHEN, Sheng et al. An in vitro and in vivo study: Valencene protects cartilage and alleviates the progression of osteoarthritis by anti-oxidative stress and anti-inflammatory effects. *International Immunopharmacology*, v. 123, p. 110726, 2023.

<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110726>.

CORTEZ, L. E. R. et al. Evaluation of antifungal activity of essential oils of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) e *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (Poaceae). **O Mundo da Saúde**, v. 39, n. 4, p. 433–440, 2015. DOI: 10.15343/0104-7809.20153904433440.

COSTA, J.G.M, et al. Chemical composition, evaluation of antibacterial activity and toxicity of the essential oils from *Lantana camara* L. and *Lantana* sp. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.3, Agosto-Setembro, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000500010>.

CRUZ, A. J. F. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora dos extratos metanólico e hexânico da folha de *Allium cepa*. **Revista Ciências de la Salud**, v.14, n.2, Maio-Junho, 2016. DOI: <https://doi.org/10.12804/revsalud14.02.2016.04>.

DIAS, E. C. M. et al. Uso de fitoterápicos e potenciais riscos de interações medicamentosas: reflexões para prática segura. **Revista Baiana de Saúde Pública**, São Paulo, v.41, n.2, Abril-Junho, 2017. DOI: <https://doi.org/10.22278/2318-2660.2017.v41.n2.a2306>.

FREITAS, M. A. et al. Avaliação in Vitro da atividade antimicrobiana do carvacrol através dos métodos de contato direto e gasoso. **Bioscience Journal**, Uberlândia, MG, v. 29, n. 3, p. 781–786, 2013.

Disponível em:

<https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/17128>.

HEBERLE, J. et al. Atividade antimicrobiana de óleo essencial de laranja. In: **XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos: Alimentação: A árvore que sustenta a vida**. 2016. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1065713>.

INOUE, S.; TAKIZAWA, T.; YAMAGUCHI, H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 47, n. 5, Janeiro-Março, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/47.5.565>.

MACEDO, N. S. et al. Prospecção fitoquímica e modulação da atividade antibiótica de *Cyperus rotundus* L. contra bactérias multirresistentes. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, [S.l.], v. 23, n. 2, Maio, 2018. ISSN 1028-4796. Disponível

em:

<https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/596/314>.

MAJEED, Aasiya et al. Antioxidant capacity and combinatorial antimicrobial effects of *Nardostachys jatamansi* essential oil with conventional antibiotics against some drug resistant bacteria. *Current Research in Biotechnology*, v. 5, p. 100118, 2023.

<https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2022.100118>.

NCCLS. Clinical and Laboratory Standards Institute. **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.

OLIVEIRA-TINTINO, Cícera Datiane de Moraes et al. Valencene, Nootkatone and Their Liposomal Nanoformulations as Potential Inhibitors of NorA, Tet (K), MsrA, and MepA Efflux Pumps in *Staphylococcus aureus* Strains. *Pharmaceutics*, v. 15, n. 10, p. 2400, 2023. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15102400>.

PAREKH, J.; CHANDA, S. In vitro antimicrobial activities of extracts of *Launaea procumbens* (Labiatae), *Vitis vinifera* l. (Vitaceae) and *Cyperus rotundus* l. (Cyperaceae). *African Journal of Biomedical Research*, v. 9, n. 2, Novembro-Dezembro, 2006. DOI: <https://doi.org/10.4314/ajbr.v9i2.48780>.

SARAIVA, R.M.C. **Atividade antibacteriana de plantas medicinais frente á bactérias multirresistentes e a sua interação com drogas antimicrobianas**. 2012. Dissertação (Pós-

Graduação em Ciências Farmacêuticas) Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém-PA, 2012. Disponível em:

<https://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/5619>.

SHARMA, S. K.; SINGH, A. P. Antimicrobial investigations on rhizomes of *Cyperus rotundus* Linn. *Der Pharmacia Lettre*, v. 3, n. 3, p. 427-431, 2011.

Disponível em:

<https://www.scholarsresearchlibrary.com/articles/antimicrobial-investigations-on-rhizomes-of-cyperus-rotundus-linn.pdf>.

SONG, Yafeng et al. Application of valencene and prospects for its production in engineered microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, v. 15, p. 1444099, 2024.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1444099>.

TINTINO, S.R, et al. Atividade antimicrobiana e efeito combinado sobre drogas antifúngicas e antibacterianas do fruto de *Morinda citrifolia* L. *Acta Biológica Colombiana*, v. 20, n.3, Setembro-Dezembro, 2015. DOI: <https://doi.org/10.15446/abc.v20n3.45601>.

YANG, I.J; DONG-UNG, L; SHIN, H.M. Inhibitory Effect of Valencene on the Development of Atopic Dermatitis-Like Skin Lesions in NC/Nga Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Republic of Korea v.8, n.4, Maio-Julho, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/9370893>.

ZAMPIERI, L.A. **Bioxidação Fúngica de Valenceno a Nootkatona, Bioflavorizante de Grapefruit**. 2006. Dissertação (Mestrado em Química na Área de Química Orgânica) Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP, 2006. DOI: <https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2006.382951>.