

Isolamento e bioatividades de composto terpênico da espécie *Eugenia uniflora* L.

Isolation and bioactivities of a terpenic compound of the species *Eugenia uniflora* L.

RESUMO

Marcos Felipe Maciel Pereira
marcosfmpereira@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil.

Jociani Ascari (orientadora)
jascari@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil.

Erika Izumi (colaborador)
erikaizumi@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil.

Fernanda Zantedeschi Rodrigues (colaborador)
fernandarodrigues.1998@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil.

Antonio Augusto Ignacio (colaborador)
ignacio@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil.

A espécie *Eugenia uniflora* L., nativa do Brasil e pertence à família Myrtaceae, popularmente conhecida como pitangueira, ocorre nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul. O chá das suas folhas utilizado na medicina popular serve para diminuir febre, pressão sanguínea e combater infecções. Para tratamento de doenças o óleo essencial de *E. uniflora* compõe com diversos compostos químicos importantes que exerce atividade farmacológica como antimicrobiano, antifúngico e antitumoral. O objetivo do trabalho foi o isolamento, purificação e elucidação estrutural do composto terpênico selina1,3,7(11)-trien-8-ona e a avaliação da atividade antimicrobiana. Utilizou-se a técnica de microdiluição em caldo para determinar a concentração inibitória mínima (CIM). Observou-se que o composto apresentou atividade antimicrobiana frente as cepas de *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* CIM de 1000µg/mL, *Staphylococcus aureus* CIM de 500µg/mL e concentração bactericida mínima de 1000µg/mL. Dessa forma, este trabalho torna-se promissor para desenvolvimento tecnológico de novos produtos e para dar prosseguimento a pesquisa no intuito de buscar aplicações para tratamentos medicinais, tais como creme dental, micose de unha, pomada vaginal para candidíase e entre outros.

PALAVRAS-CHAVE: Antimicrobiano, tecnológico, selina1,3,7(11)-trien-8-ona.

ABSTRACT

The species *Eugenia uniflora* L., native to Brazil and belongs to the Myrtaceae family, popularly known as pitangueira, occurs in the Northeast, Midwest, Southeast and South regions. The tea from its leaves used in folk medicine serves to reduce fever, blood pressure and fight infections. For the treatment of diseases, *E. uniflora* essential oil is composed of several important chemical compounds that exert pharmacological activity such as antimicrobial, antifungal and antitumor. The objective of the work was the isolation, purification and structural elucidation of the terpene compound selina1,3,7 (11) -trien-8-one and the evaluation of antimicrobial activity. The broth microdilution technique was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). It was observed that the compound showed antimicrobial activity against strains of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* CIM of 1000µg / mL, *Staphylococcus aureus* CIM of 500µg / mL and minimum bactericidal concentration of 1000µg / mL. Thus, this work is promising for the technological development of new products and to continue research in order to seek applications for medicinal treatments, such as toothpaste, nail fungus, vaginal ointment for candidiasis and others.

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.





KEYWORDS: Antimicrobial, technological, selina1,3,7(11)-trien-8-one.

INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae, é uma das mais importantes e maiores famílias botânicas das Angiospermas no Brasil, são entre 140 gêneros com 4000 espécies. Estão localizadas nas regiões subtropicais e tropicais da América. No Brasil encontra-se do Norte ao Sul. O uso comum popular das espécies desta família é para tratamentos de diversas doenças como diarreia, pressão baixa, hemorragias, dores e entre outros (CRUZ; KAPLAN, 2004; MORAIS *et al.*, 2014).

A espécie *Eugenia uniflora* L., pertence à família Myrtaceae e é popularmente conhecida como pitangueira e cerejeira brasileira. A espécie é nativa do Brasil, porém não endêmica, ocorre nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul. A origem indígena do nome comum, descende do tupi *pi'tãg*, que significa vermelho, pela cor que o fruto apresenta. O chá das folhas é utilizado na medicina popular para diminuir a febre, pressão sanguínea e combater infecções. A *E. uniflora*, tem como característica ser uma pequena árvore ou arbusto que mede 2 a 4 m de altura, o tronco frequentemente tortuoso, com muitos galhos, folhas pequenas e verdes escuras, aroma forte característico, flores brancas e suavemente perfumadas, fruto é uma baga com casca muito fina, poupa macia, succulenta, doce e aromática (CONSOLINI *et al.*, 1999; DONADIO *et al.*, 2002; SILVA, 2006).

A composição química do óleo essencial da *E. uniflora*, mostra quantidades expressivas de sesquiterpenos e outros constituintes químicos, além disso são ricos em cálcio, fósforo e vitamina C. Destaca-se a predominância de sesquiterpenos, como selina1,3,7(11)-trien-8-ona, óxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, furanodieno, germacrona, curzereno, β -cariofileno. Os constituintes químicos presentes no óleo essencial extraídos das folhas, possuem diversas atividades farmacológicas tal como, antimicrobiana, antioxidante (OGUNWANDE *et al.*, 2005), antifúngica (VICTORIA *et al.*, 2012) e antitumoral (BORGES, 2013).

Os compostos selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, óxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e germacreno B, foram testados "*in vitro*", como atividade antioxidante contra os radicais livres e hepatoprotetor na peroxidação lipídica basal no fígado e nos rins de camundongos, por intoxicação de acetaminofeno. Uma dose única (10 e 50 mg/kg) do óleo essencial desintoxica o efeito tóxico de acetaminofeno, este benefício está relacionado com as propriedades antioxidantes e hepatoprotetor dos principais compostos químicos (VICTORIA *et al.*, 2013).

Para atividade farmacológica, uma patente foi desenvolvida para tratamento da dor. O invento é um fitoterápico composto por sesquiterpênicos presentes no óleo essencial de *E. uniflora*, são selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, óxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, curzereno, β -cariofileno, germacrona A, B e D (ALVES *et al.*, 2015).

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada a cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando cromatoplasmas de sílica gel Kiesegel 60 HF254 (Merck) com espessura de 0,25 mm e indicador fluorescente e fase móvel de éter de petróleo. As cromatoplasmas foram observadas na lâmpada UV 254nm e reveladas com anisaldeído/H₂SO₄ revelador para compostos sesquiterpênicos.

Para o isolamento dos compostos utilizou-se coluna de vidro de 2 cm de diâmetro recheada com sílica gel 230–400 mesh da Merck com fluxo de \pm 5mL/min (Figura 1).

Figura 1 – Cromatografia em coluna para o isolamento dos compostos do óleo essencial da espécie *E. uniflora*.



Fonte: Autoria própria (2020).

O óleo essencial das folhas de *E. uniflora*, foi adquirido em comércio (Leggê), contendo 2,0 gramas. Este óleo foi submetido ao fracionamento por cromatografia em coluna de sílica, assim foram recolhidas em média 5mL de cada fração, utilizou-se solventes de polaridades crescentes hexano e hexano/acetato de etila 2%. Foram reunidas as frações através da técnica de CCD mediante análise comparativa das manchas reveladas com anisaldeído/H₂SO₄.

Utilizando-se da técnica espectroscópica Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foi elucidado a estrutura do composto selina-1,3,7(11)-trien-8-ona. Os espectros de RMN de ¹H e RMN de ¹³C foram obtidos em espectrômetros da Bruker DRX-400, linha AVANCE do Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá. Os deslocamentos químicos foram registrados em unidade δ e as constantes de acoplamento escalar *J* fornecidas em Hz. O tetrametilsilano, TMS, foi usado com padrão de referência interno. Como solventes, foram utilizados clorofórmio deuterado.

A atividade antimicrobiana foi realizada utilizando-se os seguintes microrganismos: bactérias Gram positivas - *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecium* ATCC 6569 e bactérias Gram negativas - *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031,

Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442 assim como o fungo leveduriforme – *Candida albicans* ATCC 26790.

Seguindo instruções do NCCLS (2002, 2003) com modificações, a avaliação antimicrobiana do composto isolado foi realizada através do teste de microdiluição em caldo. Utilizou-se meios de cultivos Mueller Hinton para bactérias e Sabouraud para levedura. O terpeno selina-1,3,7(11)-trien-8-ona foi testado na concentração máxima de 1000 µg/mL seguindo diluição seriada 1:2 até 15,625 µg/mL. Após a incubação, determinou-se a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) por observação de crescimento no poço e por leitura das microplacas em 630 nm. Onde não houve o crescimento do microrganismo tiveram alíquotas semeadas em meio sólido para determinação de concentração microbicida e microbiostática.

Figura 2 – Microplacas preparadas para o teste de microdiluição em caldo.



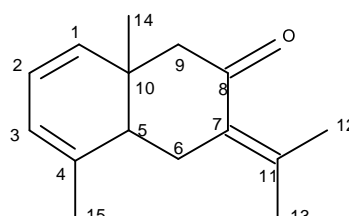
Fonte: Autoria própria (2020).

O composto selina-1,3,7(11)-trien-8-ona foi preparado para o teste antimicrobiano na concentração de 2000 µg/mL, em meio de cultivo, contendo 2,5% de DMSO como solvente. Concentração do composto no teste fosse 1000 µg/mL contendo 1,25% de DMSO, evitando assim seu efeito tóxico em concentrações superiores.

RESULTADO E DISCUSSÕES

O constituinte químico selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (Figura 3) foi isolado e purificado a partir do fracionamento do óleo essencial de *E. uniflora* em sílica gel e fase móvel C₆H₁₄: AcOEt 2%. O óleo apresentou-se de coloração incolor e a análise por CCD utilizando-se fase móvel C₆H₁₄/ AcOEt 2% e revelado com anisalaldeído/H₂SO₄ sob aquecimento apresentou uma única mancha de coloração marrom clara, inferindo estar puro.

Figura 3 – Estrutura da Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona.



Fonte: Autoria própria utilizando ChewDraw.

A identificação foi feita utilizando a técnica de RMN mono e bidimensional e por comparação com a literatura (KANAZAWA *et al.*, 2000). Os sinais de ^1H e ^{13}C RMN da Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (Tabela 1) foram atribuídos com base na análise completa dos espectros de COSY, HSQC e HMBC. O espectro de RMN de ^1H mostrou sinais em δH 2,47 (d, $J=14,5$ Hz) e δH 2,30 (d, $J=14,5$ Hz) referentes aos hidrogênios diastereotópicos H-9 e H-9'. Em δH 5,76 (dd, $J=9,4, 5,3$ Hz), um sinal de duplo dubleto correspondendo ao hidrogênio metínico H-2.

O espectro ^{13}C mostrou um sinal a δC 203,9 para carbono carbonílico e quatro carbonos metílicos a δC 21,7 (C-12 ou C-13), δC 22,6 (C-12 ou C-13), δC 26,7 (C-14) e δC 22,2 (C-15). Bem como quatro carbonos metínicos a δC 131,7 (C-1), δC 123 (C-2), δC 118 (C-3) e δC 46,1 (C-5). Com o COSY, foi possível correlacionar os acoplamentos entre os sinais em δH 5,33 (d, $J=9,4$ Hz, H-3) com δH 5,76 (d, $J=9,4, 5,3$ Hz, H-2) e δH 2,66 (dd, $J=10,6, 4,8$ Hz, H-6) com δH 2,24 (m, H-6') e δH 2,00 (dd, $J=10,6, 4,8$ Hz, H-5). A análise do espectro HMBC mostrou correlação de C-7 (δC 132,6) com H-6 (δH 2,66), H-6' (δH 2,24), H-12 ou H-13 (δH 1,79) e H-12 ou H-13 (δH 1,94). A posição do grupo carbonila C-8 (δC 203,9) correlacionou-se com os hidrogênios diastereotópicos H-6 (δH 2,66), H-6' (δH 2,24) e H-9 (δH 2,47), H-9' (δH 2,30).

Tabela 1 – Comparação dos dados de RMN de ^1H (δ , 400 MHz, CD_3OD) e ^{13}C (δ , 100 MHz, CD_3OD)

Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona		
H/C	δ ^1H / ppm (mult., J / Hz)	δ ^{13}C / ppm
1	5.63 (d, 1H, $J=5.2$ Hz)	131.7
2	5.76 (dd, 1H, $J=9.4, 5.3$ Hz)	123.0
3	5.33 (d, 1H, $J=9.4$ Hz)	118.0
4		138.3
5	2.00 (dd, 1H, $J=10.6, 4.8$ Hz)	46.1
6	2.66 (dd, 1H, $J=10.6, 4.8$ Hz)	29.8
6'	2.24 (1H, m)	29.8
7		132.6
8		203.9
9	2.47 (d, 1H, $J=14.5$ Hz)	53.4
9'	2.30 (d, 1H, $J=14.5$ Hz)	53.4
10		38.5
11		139.6
12	1.79 (s, 3H)	21.7
13	1.94 (d, 3H, $J=1.6$ Hz)	22.6
14	1.04 (s, 3H)	26.7
15	1.85 (s, 3H)	22.2

Fonte: Autoria própria (2020).

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO COMPOSTO SELINA-1,3,7(11)-TRIEN-8-ONA

O composto terpeno selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, foi aplicado no teste de microdiluição em caldo, expressando-se a CIM, CBM e concentração fungicida mínima (CFM), dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 – Avaliação microbicida e microbiostática da selina-1,3,7(11)-trien-8-ona frente à cepas bactérias e o fúngico.

Microrganismos	CIM($\mu\text{g/mL}$)	CBM($\mu\text{g/mL}$)	Controle Positivo($\mu\text{g/mL}$)
Gram positivas			
<i>S. mutans</i>	1000	>1000	Clorexidina 0,00781
<i>S. aureus</i>	500	1000	Cloranfenicol 7,8125
<i>E. faecium</i>	>1000	>1000	<15,625
Gram negativas			
<i>E. coli</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol 3,90625
<i>K. pneumoniae</i>	>1000	>1000	<15,625
<i>P. aeruginosa</i>	>1000	>1000	<15,625
Levedura			
<i>C. albicans</i>	CIM($\mu\text{g/mL}$) 1000	CFM($\mu\text{g/mL}$) >1000	Fluconazol 15,625

Fonte: Autoria própria (2020).

O resultado obtido para atividade antimicrobiana retratou que as bactérias gram-positivas tanto o *S. mutans* quanto o *S. aureus* apresentaram susceptibilidade para o composto isolado, sendo que os organismos gram-negativos *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* são menos susceptíveis a ação de antibacterianos por apresentarem uma membrana externa envolvendo a parede celular que restringe a difusão de compostos hidrofóbicos através da cobertura lipopolissacarídica (RATLEDGE; WILKINSON, 1988; VAARA, 1992).

A bactéria gram-positiva *S. mutans* é encontrada na cavidade oral humana, que se adere na superfície dos dentes se alimentando de carboidratos e produzindo ácido que provoca cavidades dentais. Além disso, é o maior agente causador de carie dental (degeneração de dente), contudo pode ocorrer endocardite infecciosa, é quando a bactéria chega nas válvulas cardíacas provocando uma infecção (LEMOS *et al.*, 2019). Em comparação com o composto terpeno selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, com os compostos terpenos timol e terpineol demonstrando resultados antibacteriano. O invento de Maya e Ritesh de 2011, patente BR 11 2013 013085-7 B1, destacou-se a composição de terpenos com cuidados orais, enxaguante bucal, creme dental, dentífrico e método para desinfetar a cavidade oral, por meio de constituintes químicos timol e terpineol em combinação com sal de zinco forneceu eficácia no extermínio de *S. mutans* (SAJI; SINHA, 2011).

O microrganismo *S. aureus* é um grande causador de infecções de pele, endovasculares e pneumonia, além disso, é caracterizado por ter adquirido mecanismos de resistência contra antibióticos principalmente à metilina. Em analogia sobre os terpenos, a substância química selina-1,3,7(11)-trien-8-ona em relação a substância farnesol. Foi feita atividade antibacteriana do terpeno farnesol contra cepa *S. aureus*, nesse estudo o farnesol mostrou-se ativo no atraso da proliferação da bactéria e, expressando contra *S. aureus* com a CIM de 16 $\mu\text{g/mL}$ (EGEA *et al.*, 2014; HADA *et al.*, 2003; SCCMEC, 2009).

A bactéria *E. faecium* é responsável por uma proporção significativa de infecções hospitalares, como infecção do trato urinário, infecção em feridas, bacteremia e endocardite (VU; CARVALHO, 2011).

Para virulência mais comumente de *E. coli* ocorre por infecção extra-intestinal, infecção do trato urinário e responsável por meningite (KAPER *et al.*, 2004).

A *K. pneumoniae* está presente principalmente no ambiente hospitalar, pacientes com longos períodos de hospitalização estão propensos a desenvolver a infecção pela bactéria, assim sendo envolvidas tipos de infecções extra intestinais, do trato urinário, da corrente sanguínea e de feridas cirúrgicas (KUAL *et al.*, 2013).

A *P. aeruginosa* é um patógeno comum associado a infecções do trato respiratório em diversos contextos clínicos, é corriqueiro causa de infecção hospitalar em pacientes hospitalizados, as doenças mais frequentes são pneumonia aguda e sepse (SADIKOT *et al.*, 2005).

A incidência de doenças causadas por *C. albicans* sendo as principais dois tipos em infecções humanas: infecções superficiais, como candidíase oral ou vaginal, e infecções sistêmicas (GASCER *et al.*, 2019). Correlacionando a selina-1,3,7(11)-trien-8-ona com o terpeno eugenol, tendo em vista que os dois constituintes químicos manifestam atividade antimicrobiana. A patente de invenção diz a respeito de uma pomada para uso odontológico para tratamento de diversas infecções na cavidade oral, formado por três princípios ativos, eugenol, extrato de *Salvia officinalis* e triclosan, inibindo significativamente o crescimento da levedura *C. albicans*, foram aplicados alíquotas de cinco massas diferentes da pomada 2,4,6,8 e 10 mg, portanto resultando os halos 13,1, 13,3, 14,8, 15 e 15,7 (MOTA, 2014).

CONCLUSÃO

O presente estudo, pela primeira vez na literatura, apresentou eficácia potencial antibacteriano e antifúngico do composto isolado terpeno selina-1,3,7(11)-trien-8-ona da espécie *E. uniflora* frente aos microrganismos patogênicos. Obteve resultados contra as cepas *S. mutans* e *C. albicans* CIM de 1000µg/mL, *S. aureus* CIM de 500µg/mL e CBM de 1000µg/mL. Assim sendo, pertinente o prosseguimento na pesquisa e na realização desenvolvimento de novos produtos tecnológicos para aplicações de forma farmacêutica para tratamentos de complicações clínicas.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Jociani Ascari e Prof.^a Dr.^a Erika Izumi, pelo suporte no pouco tempo que lhe cabiam, pelas suas correções e incentivos.

À UTFPR-SH, casa de ensinamentos e grandes lições que serão levadas para a vida.

Ao CNPq, por uma bolsa de Iniciação Científica e apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ALVES, S. D.; LENADÃO J. E.; VICTÓRIA N. F.; PERIN, G.; SAVEGNAGO, L.; JACOB, G. R. **Fitoterápicos sesquiterpênicos para o tratamento da dor**. Titular: Universidade Federal de Pelotas. 2015. BR 10 2013 023341-2 A2. Depósito: 12 setembro 2013. Concessão: 11 agosto 2015. Disponível em: <<https://gru.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=952675&SearchParameter=SESQUITERP%CANICOS%20%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>>. Acesso em: 21 ago. 2020.
- BORGES, J. S. **Análise comparativa do proteoma e metaboloma de raízes de dois clones de *E. grandis* x *E. camaldulensis*, sendo um tolerante e um susceptível a condições de estresse hídrico**. 2013. 199f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, São Paulo 2013. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11137/tde-26062013-143137/publico/Janaina_de_Santana_Borges.pdf. Acesso em: 19 ago. 2020.
- CLASSIFICATION OF STAPHYLOCOCCAL CASSETTE CHROMOSOME MEC (SCCmec): **Guidelines for Reporting Novel SCCmec Elements**. 2009. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 53(12), 4961–4967. Disponível em: <https://aac.asm.org/content/53/12/4961>. Acesso em: 23 ago. 2020.
- CONSOLINI, A. E.; BALDINI, O. A. N.; AMAT, A. G. **Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive**. J Ethnopharmacol 66: 33-39. 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874198001949?via%3Dihub>. Acesso em: 19 ago. 2020.
- CRUZ, A. V. M.; KAPLAN, M. A. C. **Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil**. Floram, v.11, n. 1, p. 48-50, 2004. Disponível em: <https://www.floram.org/article/588e2208e710ab87018b460c/pdf/floram-11-1-47.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2020.
- DONADIO, L.C; MÔRO, F.V; SERVIDONE, A.A. 2002. **Frutas Brasileiras**. Jaboticabal: Novos Talentos, 288p.
- EGEA, A. L.; GAGETTI, P.; LAMBERGHINI, R.; FACCONI, D.; LUCERO, C.; VINDEL, A., Sola, C. 2014. New patterns of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones, community-associated MRSA genotypes behave like healthcare-associated MRSA genotypes within hospitals, Argentina. International Journal of Medical Microbiology, 304(8), 1086–1099. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25240872/>. Acesso em: 22 ago. 2020.
- GACSER A.; SINGH D.K. and TOTH R. 2019. **Mechanisms of pathogenic *Candida* species to evade the host complement attack**. Front. Cell. Infect. Microbiol. 10:94. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.00094/full>. Acesso em: 24 ago. 2020.

HADA, T.; SHIRAIISHI, A.; FURUSE, S.; INOUE, Y.; HAMASHIMA, H.; MATSUMOTO, Y.; MASUDA, K.; SHIOJIMA, K.; SHIMADA, J. 2003. **Inhibitory effects of terpenes on the growth of *Staphylococcus aureus***. Showa Pharmaceutical University, Natural Medicines 57 (2), 64-67. Disponível em: https://dl.ndl.go.jp/view/download/digidepo_10760035_po_ART0009809411.pdf?contentNo=1&alternativeNo=%3E. Acesso em: 23 ago. 2020.

KANAZAWA, A.; PATIN, A.; GREENE, A. E. 2000. **Efficient, Highly Enantioselective Synthesis of Selina-1,3,7(11)-trien-8-one, a Major Component of the Essential Oil of *Eugeniauniflora***. Journal of Natural Products, 63(9), 1292–1294. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/11000042>. Acesso em: 21 ago. 2020.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. 2004. **Pathogenic *Escherichia coli***. Nature Reviews Microbiology, 2(2), 123–140. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro818>. Acesso em: 23 ago. 2020.

KUAI, S.; SHAO, H.; HUANG, L.; PEI, H.; LU, Z.; WANG, W.; LIU, J. 2013. **KPC-2 carbapenemase and DHA-1 AmpC determinants carried on the same plasmid in *Enterobacter aerogenes***. Journal of Medical Microbiology, 63(Pt_3), 367–370. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.054627-0>. Acesso em: 23 ago. 2020.

LEMOIS, J. A.; PALMER, S. R.; ZENG, L.; WEN, Z. T.; KAJFASZ, J. K.; FREIRES, I. A.; BRADY, L. J. 2019. **The Biology of *Streptococcus mutans***. Microbiology Spectrum, 7(1). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30657107/>. Acesso em: 22 ago. 2020.

MORAIS, L. M. F.; CONCEIÇÃO, G. M. da.; NASCIMENTO, J. de M. Família **Myrtaceae**: análise morfológica e distribuição Geográfica de uma coleção botânica. Agrarian Academy, Centro Científico Conhecer, v.1, n.1, p. 318, 2014. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/Agrarian%20Academy/2014a/familia.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2020.

MOTA, F. A. 2014. **FORMULAÇÃO DE POMADA PARA USO ODONTOLÓGICO EM ORABASE CONTENDO COMBINAÇÃO SINÉRGICA DOS ATIVOS EUGENOL, EXTRATO DE SALVIA OFFICINALIS E TRICLOSAN**. Titular: André Ferreira Mota. BR 10 2014 030115 1 A2. Depósito: 02 dezembro 2014. Concessão: 11 julho 2020. Disponível em: <https://gru.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=1016215&SearchParameter=FORMULA%C7%C3%20DE%20POMADA%20PARA%20USO%20ODONTOL%C3%20GICO%20EM%20ORABASE%20CONTENDO%20COMBINA%C7%C3%20SIN%C9RGICA%20DOS%20ATIVOS%20EUGENOL,%20EXTRATO%20DE%20SALVIA%20OFFICINALIS%20E%20TRICLOSAN%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>. Acesso em: 24 ago. 2020.

NCCLS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Sixth Edition**. NCCLS document M7-A6

[ISBN 1-56238-486-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003. Tradução pela ANVISA com permissão do CLSI. Disponível em:

http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_opasm7_a6.pdf.

Acesso em: 21 ago. 2020.

NCCLS. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras; Norma Aprovada—Segunda Edição.** NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, Estados Unidos, 2002. Tradução pela ANVISA com permissão do CLSI. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPAS1M27-A2.pdf. Acesso em: 21 ago. 2020.

OGUNWANDE, I.; OLAWORE, N.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T.; SCHMIDT, J.; SETZER, W. 2005. **Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of L.** *International Journal of Aromatherapy*, 15(3), 147–152
Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096245620500038X>.

Acesso em: 19 ago. 2020.

RATLEDGE, C; WILKINSON, S. G. **An overview of microbial lipid.** In: Ratledge C, Wilkinson SG (eds): *Microbial lipids*, Vol. 1 (pp 3- 22). London: Academic Press; 1988.

SADIKOT, R.T.; BLACKWELL, T.S.; CHRISTMAN, J.W.; PRINCE, A.S. 2005. **Interações patógeno-hospedeiro em Pseudomonas aeruginosa Pneumonia.** *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 171 (11), 1209–1223.

Disponível em: <https://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/rccm.200408-1044SO>. Acesso em: 24 ago. 2020.

SAJI, T. M.; SINHA, K. R. 2011. **COMPOSIÇÃO DE CUIDADOS ORAIS, ENXAGUANTE BUCAL, CREME DENTAL, DENTÍFRICO, MÉTODO PARA DESINFETAR A CAVIDADE ORAL E USO DE UMA COMPOSIÇÃO.** Titular: Unilever N. V. BR 11 2013 013085-7 B1. Depósito: 17 novembro 2011. Concessão: 14 fevereiro 2018. Disponível em: <https://gru.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=958722&SearchParameter=COMPOSIC7%C3O%20DE%20CUIDADOS%20ORAI,%20ENXAGUANTE%20BUCAL,%20CREME%20DENTAL,%20DENT%20CDFRICO,%20M%20C9TODO%20PARA%20DESINFETAR%20A%20CAVIDADE%20ORAL%20E%20USO%20DE%20UMA%20COMPOSIC7%C3O%20%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>. Acesso em: 22 ago. 2020

SILVA, S. M. **Pitanga.** *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 28, p.1–1, 2006.
Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v28n1/29675.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2020.

VAARA M. **Agents that increase the permeability of the outer membrane.** *Microbiol Rev.* 1992;56(3):395–411. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC372877/>. Acesso em: 22 ago. 2020.

VICTORIA, F.N.; R.G ANVERSA; L. SAVEGNAGO, E.J. LENARDÃO. "Essential oils of *E. uniflora* leaves protect liver injury induced by acetaminophen" Food bioscience 4, 1 2013: 50-57. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212429213000618>.

Acesso em: 20 ago. 2020.

VICTORIA, F. N.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; SILVA, W. P.; MOTTA, A. S.; NASCENTE, P. S. **Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: antioxidant and antimicrobial properties.**; Food Chem.Toxicol. 2012, 50, 2668. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S027869151200333X?via%3Dihub>. Acesso em: 20 ago. 2020.

VU, J.; CARVALHO, J. 2011. **Enterococcus**: review of its physiology, pathogenesis, diseases and the challenges it poses for clinical microbiology. Frontiers in Biology, 6(5), 357–366. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11515-011-1167-x>. Acesso em: 23 ago. 2020.