

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

MARCOS FELIPE MACIEL PEREIRA

**ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DE COMPOSTOS SESQUITERPÊNICOS DO
ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS *Eugenia uniflora* L. E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

SANTA HELENA

2022

MARCOS FELIPE MACIEL PEREIRA

**ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DE COMPOSTOS SESQUITERPÊNICOS DO
ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS *Eugenia uniflora* L. E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

**Isolation and purification of sesquiterpenic compounds from essential oil from
Eugenia uniflora L. leaves and evaluation of antimicrobial activity**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Licenciado em Ciências Biológicas na Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientador(a): Prof^a. Dra. Jociani Ascari
Coorientador(a): Prof^a. Dra Erika Izumi

SANTA HELENA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

MARCOS FELIPE MACIEL PEREIRA

**ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DE COMPOSTOS SESQUITERPÊNICOS DO
ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS *Eugenia uniflora* L. E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentada como requisito para obtenção do título de
Licenciado em Ciências Biológicas na Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 07 de Dezembro de 2022

Jociani Ascari
Doutora em Química Orgânica
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Campus Santa Helena

Erika Izumi
Doutora em Microbiologia
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Campus Santa Helena

Vanessa Bueno da Silva
Doutora em Biologia Comparada
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Campus Santa Helena

Andreine Aline Roos
Doutora em Química Aplicada
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Campus Santa Helena

SANTA HELENA

2022

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, especialmente a minha mãe Joziene Maciel, por acreditar no meus sonhos e me apoiar.

A Gabriele Ribeiro minha companheira, por compartilhar experiências ao longo desses anos, como convivência acadêmica.

As Prof^{as}. Dras. Jociani Ascari e Erika Izumi, por não medirem esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte desta minha trajetória acadêmica, o meu muito obrigado.

Agradeço a minha mãe Joziene Maciel, que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis e me fortaleceu.

Sou grato a Gabriele Ribeiro, por compartilhar os inúmeros momentos de aprendizagem acadêmica e se dedicado comigo.

Agradeço a minha orientadora Prof^a. Dra. Jociani Ascari, pela orientação profissional e por depositar confiança em mim.

A todos os meus amigos, por fazerem parte desta jornada durante este tempo de minha vida.

RESUMO

A família Myrtaceae está entre as principais famílias frutíferas do mundo, tendo alto potencial econômico e elevado valor nutricional. O gênero *Eugenia*, pertence à família Myrtaceae e possui várias espécies este gênero possui relevante importância biológica, tais como atividades inseticidas, antibacterianas, antivirais e citotóxicas. A espécie *Eugenia uniflora* L. é nativa do Brasil, conhecida popularmente como pitangueira e cerejeira brasileira, distribuída no Brasil nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul. A espécie *E. uniflora*, é uma árvore densa de 2 a 9 metros de altura, ramificada, formato arredondado, folhas opostas simples, flores hermafroditas (monóica), pétalas coloração branca, fruto em forma de baga, o processo de amadurecimento final do epicarpo vermelho. O óleo essencial das folhas de *E. uniflora* possui compostos químicos da classe sesquiterpênico, sintetizados pelo metabolismo secundário. A espécie possui relevância em suas propriedades biológicas, devido os compostos bioativos, encontrados apenas nessa espécie. Há poucos estudos na literatura sobre os metabólitos secundários isolados da espécie *E. uniflora*, assim como, poucas pesquisas sobre atividades biológicas, tal como atividade antimicrobiana. Portanto, o objetivo do presente trabalho é isolar, purificar e elucidar os metabólitos secundários majoritários furanodieno, selina-1,3,7-trien-8-ona e oxidoselina-1,3,7-trien-8-ona, presentes no óleo essencial das folhas da espécie *E. uniflora*, assim como avaliar a atividade antimicrobiana dos compostos supracitados, visando o desenvolvimento de novas aplicações e produtos tecnológicos. As técnicas cromatográficas de Cromatografia em Camada Delgada e Cromatografia em Coluna de Vidro foram utilizadas para isolar e purificar os compostos sesquiterpênicos. A elucidação estrutural dos compostos foi realizado utilizando-se da técnica de Ressonância Magnética Nuclear. Os compostos isolados e purificados foram avaliados quanto a atividade antimicrobiana, empregando a técnica de microdiluição em caldo em 7 microrganismos para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Com este trabalho foi possível obter os compostos furanodieno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona do óleo essencial das folhas de *E. uniflora* e avaliar a atividade antimicrobiana dos mesmos. O composto furanodieno em 1000 µg/mL não obteve a CIM, logo, não atingindo o efeito inibitório microbicida e bacteriostático. O composto selina-1,3,7(11)-trien-8-ona em de 1000 µg/mL obteve a CIM para *Streptococcus mutans*; para *S. aureus* obteve a CIM em 500 µg/mL e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) em 1000 µg/mL; para o fungo *Candida albicans* obteve a CIM em 1000 µg/mL, sendo concentração fungistática. O composto oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona em 500 µg/mL obteve a CIM para *S. mutans* e a CBM em 1000 µg/mL; para *S. aureus* obteve a CIM em 250 µg/mL e a CBM de 500 µg/mL; para *Enterococcus faecium* obteve a CIM em 500 µg/mL; para o fungo *C. albicans* obteve a CIM em 250 µg/mL, sendo concentração fungistática e obteve Concentração Fungicida Mínima em 500 µg/mL. Este trabalho, permitiu obter os compostos sesquiterpênicos puros, além de avaliar atividade antimicrobiana, evidenciando a susceptibilidade dos microrganismos pela concentração dos compostos, visando ampliação de novos compostos bioativos para desenvolvimento de aplicações e produtos tecnológicos para tratamentos clínicos.

Palavras-chave: Pitanga; Metabólitos secundários; Terpenos; Atividade biológica.

ABSTRACT

The Myrtaceae family is among the main fruit families in the world, with high economic potential and high nutritional value. The genus *Eugenia*, belongs to the Myrtaceae family and has several species. This genus has relevant biological importance, such as insecticidal, antibacterial, antiviral and cytotoxic activities. The species *Eugenia uniflora* L. is native to Brazil, popularly known as pitangueira and Brazilian cherry, distributed in Brazil in the Northeast, Midwest, Southeast and South regions. The species *E. uniflora*, is a dense tree from 2 to 9 meters high, branched, rounded shape, simple opposite leaves, hermaphrodite flowers (monoecious), white petals, berry-shaped fruit, the final ripening process of the epicarp red. The essential oil of the leaves of *E. uniflora* has chemical compounds of the sesquiterpene class, synthesized by secondary metabolism. The species has relevance in its biological properties, due to the bioactive compounds, found only in this species. There are few studies in the literature on secondary metabolites isolated from the *E. uniflora* species, as well as little research on biological activities, such as antimicrobial activity. Therefore, the objective of the present work is to isolate, purify and elucidate the major secondary metabolites furanodiene, selina-1,3,7-trien-8-one and oxidoselina-1,3,7-trien-8-one, present in the oil essential oil from the leaves of the species *E. uniflora*, as well as to evaluate the antimicrobial activity of the aforementioned compounds aiming at the development of new applications and technological products. The chromatographic techniques of Thin Layer Chromatography and Glass Column Chromatography were used to isolate and purify the sesquiterpene compounds. The structural elucidation of the compounds was carried out using the Nuclear Magnetic Resonance technique. The isolated and purified compounds were evaluated for antimicrobial activity, using the broth microdilution technique in 7 microorganisms to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). With this work it was possible to obtain the compounds furanodiene, selina-1,3,7(11)-trien-8-one and oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-one from the essential oil of the leaves of *E. uniflora* and evaluate their antimicrobial activity. The furanodiene compound at 1000 µg/mL did not obtain the MIC, therefore, not reaching the microbicidal and bacteriostatic inhibitory effect. The compound selin-1,3,7(11)-trien-8-one in 1000 µg/mL obtained the MIC for *Streptococcus mutans*; for *S. aureus* obtained the MIC at 500 µg/mL and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) at 1000 µg/mL; for the fungus *Candida albicans* obtained the MIC at 1000 µg/mL, being a fungistatic concentration. The compound oxidoselin-1,3,7(11)-trien-8-one at 500 µg/mL obtained MIC for *S. mutans* and MBC at 1000 µg/mL; for *S. aureus* obtained MIC at 250 µg/mL and MBC at 500 µg/mL; for *Enterococcus faecium* obtained the MIC at 500 µg/mL; for the fungus *C. albicans* obtained MIC at 250 µg/mL, being fungistatic concentration and obtained Minimum Fungicide Concentration at 500 µg/mL. This work allowed obtaining pure sesquiterpene compounds, in addition to evaluating antimicrobial activity, evidencing the susceptibility of microorganisms by the concentration of compounds, aiming at expanding new bioactive compounds for the development of applications and technological products for clinical treatments.

Keywords: Pitanga; Secondary metabolites; Terpenes; Biological activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Óleo essencial	15
Figura 2 - Coluna de vidro recheada de sílica	16
Figura 3 - Microplacas para método de microdiluição em caldo	18
Figura 4 - Cromatoplaca apresentando o composto farunodieno	18
Figura 5 - Cromatoplaca apresentando os compostos oxidoselina-1,3,7(11)- trien-8-ona e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona.....	19
Figura 6 - Estrutura dos compostos furanodieno, oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8- ona e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona do OE das folhas de <i>E. uniflora</i>	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação dos dados dos espectros de ^{13}C do furanodieno, oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona isolados do OE de <i>E. uniflora</i> , comparando com os relatados na literatura.	20
Tabela 2 - Atividade antimicrobiana do composto furanodieno.....	21
Tabela 3 - Atividade antimicrobiana do composto selina-1,3,7(11)-trien-8-ona.....	22
Tabela 4 - Atividade antimicrobiana do composto oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona.....	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OE	Óleo essencial
CIM	Concentração inibitória mínima
CBM	Concentração bactericida mínima
CFM	Concentração fungicida mínima
RMN	Ressonância magnética nuclear
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada com espectrômetro de massa
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCV	Cromatográfica de coluna de vidro
TMS	Tetrametilsilano
DMSO	Dimetilsulfóxido
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVO GERAL.....	15
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1	Análise Química.....	15
3.1.1	Técnicas cromatográficas	15
3.1.2	Técnica de elucidação estrutural: Ressonância Magnética Nuclear.....	16
3.2	Atividade antimicrobiana.....	17
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	18
4.1	Isolamento e purificação dos compostos sesquiterpênicos.....	18
4.1.1	Elucidação estrutural dos compostos isolados.....	20
4.2	Atividade antimicrobiana.....	21
5	CONCLUSÃO	24
6	REFERÊNCIAS.....	26

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da civilização as plantas são utilizadas para tratamento e cura de enfermidades, proporcionando uma base importante para o surgimento de fármacos. Essa prática contribuiu significativamente para o fortalecimento da atividade farmacológica, mediante a técnicas de isolamento e purificação de compostos bioativos extraídos principalmente das plantas (FILHO; YUNES, 2001; NIERO *et al.*, 2003).

A família Myrtaceae é uma das principais famílias frutíferas Angiospermas no Brasil, possui três grandes gêneros *Eugenia*, *Syzygium* e *Campomanesia* apresentando variedade de frutos, além de valor nutricional (MORAIS; CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014). As plantas dessa família localiza-se em regiões subtropicais e tropicais da América, Austrália e Ásia. No Brasil ocorre do Norte ao Sul, contendo cerca de 23 gêneros com aproximadamente 1000 espécies, sendo diferenciadas em arbustos e arbóreas (MCVAUGH, 1968; GAIAD; CARVALHO, 2021).

O gênero *Eugenia L.* é o maior gênero em número de espécies da família Myrtaceae, possuindo cerca de 350 espécies no Brasil com importância elevada na medicina popular (LANDRUM; KAWASAKI, 1997). As espécies do gênero *Eugenia* diferenciam-se em árvores ou arbustos, consideradas perenes e semidecíduas. O fruto sendo esférico, normalmente comestível, baga, coroado pelo cálice e achatado (AURICCHIO; BACCHI, 2003).

Os óleos essenciais (OE) extraídos das plantas do gênero *Eugenia* são amplamente estudados por apresentarem atividades biológicas descritas na literatura. A espécie *Eugenia caryophyllata*, extraído o OE da flor, apresenta atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* (OUSSALAH *et al.*, 2007), atividade citotóxica, induz radicais livres e apoptose pelo constituinte eugenol extraído do OE (YOO *et al.*, 2005). A espécie *E. jambolana*, extraído o OE das folhas, obteve a concentração inibitória mínima (CIM) para as bactérias *S. aureus* e *E. coli* (PEREIRA *et al.*, 2017). A espécie *E. uniflora* extraído o OE das folhas, obteve o CIM contra *S. aureus* 0,8 mg/mL e *L. monocytogenes* 1,04 mg/mL (VICTORIA *et al.*, 2012).

A CIM é definida como a menor concentração do OE capaz de impedir o crescimento microbiano, já a Concentração Fungicida Mínima (CFM)/Concentração

Bactericida Mínima (CBM) é determinada com base na menor concentração não possuindo o crescimento fúngico ou bacteriano (SANTURIO *et al.*, 2007).

A espécie *E. uniflora*, comumente conhecida como pitangueira, é considerada uma angiosperma frutífera nativa do Brasil, amplamente distribuída na América do Sul, principalmente na região nordeste do Brasil onde localiza o maior cultivo da espécie (SANTOS *et al.*, 2018). Apresenta compostos químicos caracterizados pela presença de monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides e taninos. (MALAMAN *et al.*, 2011).

O nome comum pitangueira provem de origem indígena que descende do tupi *pi'tãg*, que significa vermelho, em alusão à cor do seu fruto. A *E. uniflora*, é uma árvore de copa densa, possui altura entre 2 a 9 metros, ramificada, formato arredondado, pecíolo medindo aproximadamente 2 milímetros, folhas opostas simples, dispendo coloração verde-amarronzada quando novas, enquanto, folhas adultas apresentam coloração verde-escura, flores hermafroditas contem 4 pétalas na cor branca, anteras de cor amarelada, o fruto forma de baga com amadurecimento do epicarpo de verde para laranja e vermelho para roxo quando maduro (FOUQUÉ, 1981; BEZERRA; JÚNIOR; JÚNIOR, 2017).

O OE das folhas de *E. uniflora*, é constituído por variedade de metabólitos secundários prevalecendo os sesquiterpenos cíclicos, sintetizados pelo metabolismo secundário, produzido por necessidade não nutricional, porém com finalidade de sobrevivência no ecossistema, proteção contra microrganismos e predadores (BEZERRA *et al.*, 2019). De acordo Rocchetti *et al.* (2020) o OE da espécie *E. uniflora* possui propriedades biológicas tais como atividades antidiabéticas, antirreumáticas, antidiarreicas, anti-inflamatórias, antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes e citotóxicas.

Os terpenos ou isoprenoides são compostos químicos de origem vegetal e encontrados no metabolismo secundário das plantas, apresentam uma ampla diversidade estrutural e geralmente são insolúveis em água, são formados pela fusão de unidades isoprênicas de 5 carbonos (C5), sendo subdividido e categorizado em monoterpenos (2 unidades C5), sesquiterpenos (3 unidades C5), diterpenos (4 unidades C5), triterpenos (6 unidades C5); tetraterpenos (8 unidades C5) e politerpenóides (mais de 8 unidades C5) (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A composição química do OE das folhas da espécie *E. uniflora*, foi descrita na literatura por Weyerstahl *et al.* (1988), sendo um dos pioneiros na identificação e

caracterização da espécie *E. uniflora* por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H combinado Cromatografia Gasosa acoplada com espectrômetro de massa (GC-MS). O fracionamento do OE por técnicas cromatográficas, obteve mais de 10 compostos como furanodieno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona os majoritários e os minoritários isofuranoelemeno, curzereno, germacreno B, γ -elemeno, selina-4(14),7(11)-dieno, β -elemeno, cariofileno, germacreno D, biciclogermacreno, β -selineno, atractilona e germacrona.

O estudo realizado por Costa *et al.* (2010), demonstra a atividade antifúngica do OE das folhas *E. uniflora*, avaliado pelo método de macrodiluição em caldo utilizando as concentrações do OE das folhas *E. uniflora*, variando entre 62,5 a 500 $\mu\text{g/mL}$. Os resultados obtidos inibiram completamente o fungo *Paracoccidioides brasiliensis* nas concentrações 62,5, 250 e 500 $\mu\text{g/mL}$.

A patente BR 102019010554-2 A2, apresenta a formulação de uma microemulsão do OE das folhas de *E. uniflora* capaz de inibir a postura de ovos de mosquitos *Aedes aegypti*, logo, reduzindo a proliferação e a transmissão de doenças. Os resultados obtidos neste invento, constataram que na concentração de 5 ppm a microemulsão de OE de *E. uniflora* conseguiu inibir a postura de ovos de mosquitos *A. aegypti* em 65,5% e na concentração de 50 ppm (73,66%), logo, demonstrando a atividade inibitória do OE das folhas de *E. uniflora* contra a ovoposição de mosquitos *A. aegypti* (DE LIMA *et al.*, 2020).

O invento BR 102013023341-2 A2, consiste no uso de compostos sesquiterpênicos do OE das folhas de *E. uniflora*, coletadas no Rio Grande do Sul. Os compostos majoritários presentes no OE foram extraídos, obtendo os constituintes selina-1,3,7-trein-8-ona, oxidoselina-1,3,7-trien-8-ona, curzereno, β -cariofileno, germacrona A, B e D utilizados para o tratamento da dor (ALVES *et al.*, 2015).

Existem poucos estudos na literatura sobre os metabólitos secundários isolados do OE da folha da espécie *E. uniflora*, assim como poucas pesquisas sobre a atividade biológica, tal como atividade antimicrobiana. Objetivando assim o isolamento dos compostos majoritários do OE desta espécie.

2. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo isolar, purificar e elucidar os metabolitos secundários majoritários furanodieno, selina-1,3,7-trein-8-ona e oxidoselina-1,3,7-trien-8-ona, presentes no óleo essencial das folhas da espécie *E. uniflora*, assim avaliar a atividade antimicrobiana.

3. MATERIAL E MÉTODOS

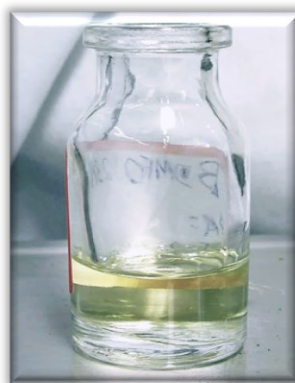
3.1 Análise Química

3.1.1 Técnicas cromatográficas

O estudo fitoquímico, foi realizado no laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Santa Helena sob a orientação da professora Dra. Jociani Ascari.

O OE das folhas de *E. uniflora* (Figura 1), foi adquirido em comércio local (empresa Leggé). A análise prévia da composição química do óleo foi feita por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando-se cromatoplasas sílica gel 60 HG/254 (Macherey-Nagel). A fase móvel utilizada foi em ordem crescente de polaridade: éter de petróleo, hexano e proporção de hexano/acetato de etila 2%. As cromatoplasas foram observadas inicialmente na lâmpada de radiação ultravioleta (UV) 254 nm e posteriormente utilizou-se como revelador químico anisaldeído/ ácido sulfúrico específico para a classe de compostos sesquiterpênicos.

Figura 1- Óleo essencial



Fonte: Autoria própria (2022)

Para o isolamento dos compostos utilizou-se a técnica cromatográfica de coluna de vidro (CCV) (Figura 2). Aproximadamente 2 mL do OE foi utilizado para o isolamento dos compostos. A fase estacionária utilizada foi sílica gel 230–400 mesh (Merck) e na fase móvel utilizou-se solventes com polaridade crescente, hexano e proporção de hexano/acetato de etila 2% com fluxo de ± 5 mL/min. As frações foram reunidas através da técnica de CCD mediante análise comparativa das manchas por coloração reveladas com anisaldeído/ácido sulfúrico.

Figura 2 - Coluna de vidro recheada de sílica



Fonte: Autoria própria (2022)

3.1.2 Técnica de elucidação estrutural: Ressonância Magnética Nuclear

A técnica Espectroscópica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), foi realizada no Laboratório de Química da Universidade Estadual de Maringá sob a supervisão do professor Dr. Ernani Bastos.

Os espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C , foram obtidos em espectrômetro 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 como padrão de referência interno e o clorofórmio deuterado como solvente.

3.2 Atividade antimicrobiana

A técnica de microdiluição em caldo foi realizada no Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Santa Helena, sob a orientação da professora Dra. Erika Izumi.

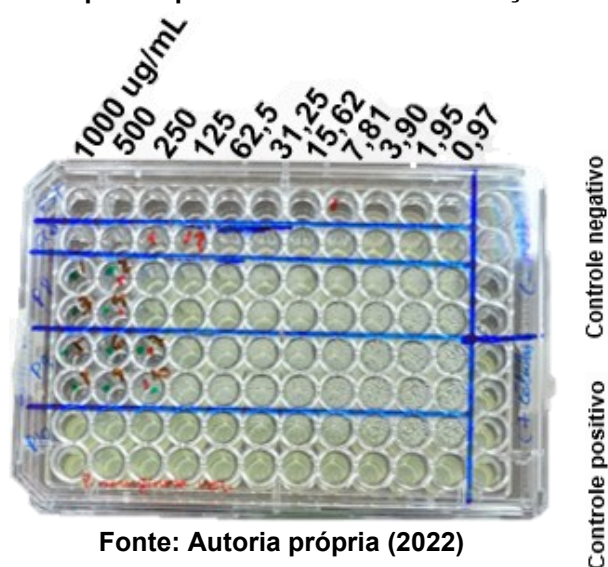
A atividade antimicrobiana foi realizada contra os seguintes microrganismos: bactérias Gram positivas – *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecium* ATCC 6569; bactérias Gram negativas – *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442; fungo leveduriforme – *Candida albicans* ATCC 26790.

Os compostos isolados foram preparados para o teste de microdiluição em caldo na concentração de 2000 µg/mL, em meio de cultivo, contendo 2,5% de dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente. Foi realizada a diluição seriada 1:2 nos poços, fazendo com que a maior concentração do composto no teste fosse 1000 µg/mL contendo 1,25% de DMSO, evitando assim seu efeito tóxico em concentrações superiores. O DMSO na concentração em 5%, 10% e 20% é capaz de inibir crescimento bacteriano apresentando atividade tóxica, porém a utilização em baixas concentrações atua como solvente orgânico devido a característica anfipática (Farias *et al.*, 2018).

A atividade antimicrobiana, foi realizada através do método de microdiluição em caldo, seguindo as instruções do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2002, 2003), com modificações. Os meios de cultivo foram Mueller Hinton para bactérias e Sabouraud 2% para levedura. Os compostos furanodieno, oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona foram adicionados nos microrganismos, seguindo a diluição seriada. Após a incubação de 24h para bactéria e 48h para fungo, determinou-se a CIM, CBM e CFM por observação direta de crescimento nos poços e leitura das microplacas em (Leitora de microplacas de ELISA – LMR-96) 630 nm para análise de absorbância. Os poços que não ocorreram proliferação tiveram alíquotas semeadas em meio sólido para designar a concentração microbicida e microbiostática. Foi utilizada como controle positivo os padrões cloranfenicol, fluconazol e clorexidina na concentração máxima 15,63 µg/mL

até a concentração mínima 0,007 µg/mL diluído no meio de cultura e para o controle negativo apenas o meio de cultura. (Figura 3).

Figura 3 - Microplacas para método de microdiluição em caldo



Fonte: Autoria própria (2022)

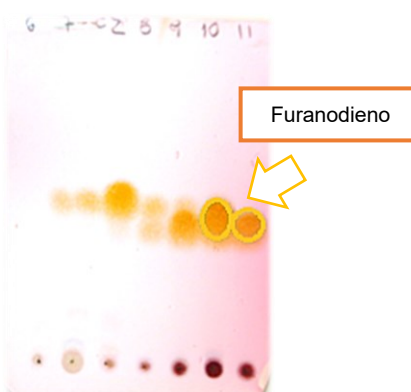
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Isolamento e purificação dos compostos sesquiterpênicos

Os compostos da classe sesquiterpênicos, foram isolados e purificados do OE das folhas de *E. uniflora*, empregando técnicas cromatográficas.

O composto furanodieno (Figura 4), apresentou viscosidade e coloração incolor, obtendo-se a massa de 146,1 mg (7,30%) em relação a aplicação do OE na CCV e isolado com a fase móvel hexano. Quando submetido à CCD, utilizando fase móvel hexano e revelação com anisaldeído/ácido sulfúrico sob aquecimento, apresentou uma única mancha de coloração marrom escura.

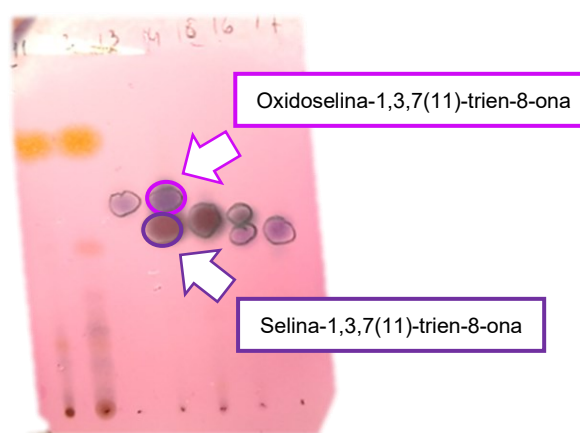
Figura 4 – Cromatoplaca apresentando o composto farunodieno



Fonte: Autoria própria (2022)

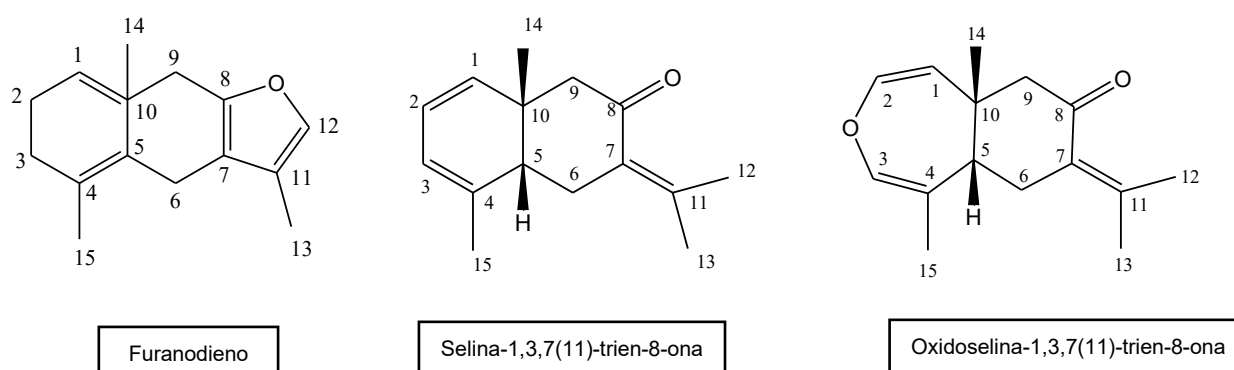
Os constituintes oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (Figura 5), apresentaram características viscosa e incolor, obtendo massa de 82,5 (4,12%) e 75,6 mg (3,78%). Esses compostos foram isolados com a fase móvel Hexano: Acetato de etila 2% na CCV. Quando submetido à CCD, utilizando fase móvel Hexano:Acetato de etila 2% e revelação com anisaldeído/ácido sulfúrico sob aquecimento, apresentaram mancha de coloração roxo claro para oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona e escuro para selina-1,3,7(11)-trien-8-ona.

Figura 5 – Cromatoplaça apresentando os compostos oxidoselina-1,3,7(11)- trien-8-ona e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona



Fonte: Autoria própria (2022)

Figura 6 – Estrutura dos compostos furanodieno, oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona do OE das folhas de *E. uniflora*



Fonte: Autoria própria, utilizando ChewDraw (2022)

4.1.1 Elucidação estrutural dos compostos isolados

A elucidação estrutural dos compostos, foi realizada utilizando a técnica de RMN de ^1H e ^{13}C . O furanodieno, apresentou no espectro de RMN de ^1H sinais de dois simpletos em δ_{H} 1,60 e δ_{H} 1,27, atribuídos a hidrogênios de grupos metila sendo eles H-14 e H-15. Observou-se, também, um duplete em δ_{H} 1,92, referente aos hidrogênios da metila H-13 o qual acopla-se com o hidrogênio metínico H-12 em δ_{H} 7,08, como descrito na literatura (Santos, 2015). O espectro apresentou, dois dupletos duplos em δ_{H} 4,95 e δ_{H} 4,73, atribuídos aos hidrogênicos metínicos H-1 e H-5, respectivamente, demonstrando a presença de duplas trissubstituídas. O espectro de RMN ^{13}C (Tabela 1), apresentou sinal em δ_{C} 149,69 (C-8 do anel furânico), quatro sinais relativos a carbonos quaternários em δ_{C} 128,84, 118,86, 121,88 e 134,33, atribuídos aos carbonos C-10, C-7, C-11 e C-4, respectivamente. Além de um sinal relativo a carbono metínico aromático em δ_{C} 135,95 referente ao C-12. As atribuições de sinais de RMN de ^1H e ^{13}C foram confirmadas com comparação a literatura (Santos, 2015).

Tabela 1 - Comparação dos dados dos espectros de ^{13}C do furanodieno, oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona isolados do OE de *E. uniflora*, comparando com os relatados na literatura

C	Furanodieno	Literatura (SANTOS, 2015)	Oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona	Literatura (WEYERSTAH <i>et al.</i> , 1988)	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	Literatura (WEYERSTAH <i>L et al.</i> , 1988)
	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
1	129,00	129,85	110,4	110,4	131,7	131,7
2	26,80	27,37	140,6	140,5	123	122,9
3	39,45	40,01	137,8	137,7	118	117,9
4	134,33	134,78	119,1	119,0	138,3	138,2
5	127,55	128,39	50,9	51,0	46,1	46,1
6	24,32	24,85	32,9	32,9	29,8	29,7
7	118,86	119,61	130,7	130,7	132,6	132,5
8	149,69	150,13	202,7	202,3	203,9	200,8
9	40,89	41,39	57,8	57,8	53,4	53,3
10	128,84	129,30	41,0	41,0	38,5	38,4
11	121,88	122,57	143,6	143,2	139,6	139,5
12	135,95	136,95	22,3	22,3	21,7	21,7
13	8,88	8,89	23,2	23,1	22,6	22,6
14	16,44	16,55	31,1	31,1	26,7	26,7
15	16,19	16,38	21,6	21,6	22,2	22,2

Carbono (C): É a numeração do carbono na estrutura química.

Fonte: Autoria própria (2022)

Os sinais obtidos para a selina-1,3,7(11)-trien-8-ona referente ao ^1H e ^{13}C RMN foram comparados com a literatura Weyerstahl *et al.* (1988). O espectro de RMN de ^1H mostrou sinais em δ_{H} 2,47 (d, $J=14,5$ Hz) e δ_{H} 2,30 (d, $J=14,5$ Hz) referentes aos hidrogênios diastereotópicos H-9 e H-9'. Em δ_{H} 5,76 (dd, $J=9, 4, 5, 3$ Hz), um sinal de duplo dubleto correspondendo ao hidrogênio metínico H-2. O espectro ^{13}C (Tabela 1) mostrou um sinal a δ_{C} 203,9 para carbono carbonílico e quatro carbonos metílicos em δ_{C} 21,7 (C-12 ou C-13), δ_{C} 22,6 (C-12 ou C-13), δ_{C} 26,7 (C-14) e δ_{C} 22,2 (C-15). Bem como quatro carbonos metílicos a δ_{C} 131,7 (C-1), δ_{C} 123 (C-2), δ_{C} 118 (C-3) e δ_{C} 46,1 (C-5).

O composto oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona, foi identificado pelo espectro de RMN de ^1H e ^{13}C comparado com Weyerstahl *et al.* (1988). O espectro de ^1H RMN mostrou sinais em δ_{H} 2,40 (d, $J = 15,0$ Hz) e δ_{H} 2,19 (d, $J = 13,7$ Hz) para hidrogênios diastereotópicos H-9 e H-9'. Em δ_{H} 6,02 (d, $J = 7,7$ Hz) e em δ_{H} 6,13 (s) estão os sinais correspondentes aos hidrogênios metínicos H-2 e H-3. Quatro grupos metílicos foram observados nos seguintes deslocamentos δ_{H} 1,98 (d, $J = 1,8$ Hz, H-12 ou H-13), δ_{H} 1,80 (s, H-12 ou H-13), δ_{H} 1,24 (s, H-14), e δ_{H} 1,77 (s, H-15). O espectro ^{13}C (Tabela 1) mostrou sinal δ_{C} 202,7 para carbono carbonílico. Observou-se quatro carbonos metílicos em δ_{C} 23,2 (C-12 ou C-13), δ_{C} 22,3 (C-12 ou C-13), δ_{C} 31,1 (C-14) e δ_{C} 21,6 (C-15) e quatro carbonos metílicos a δ_{C} 110,4 (C-1), δ_{C} 140,6 (C-2), δ_{C} 137,8 (C-3) e δ_{C} 50,9 (C-5).

A partir das análises RMN e a literatura foi possível confirmar as estruturas furanodieno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona.

4.2 Atividade antimicrobiana

Os resultados obtidos da atividade antimicrobiana do furanodieno e a inibição do controle padrão são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Atividade antimicrobiana do composto furanodieno.

Microrganismos	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM ($\mu\text{g/mL}$)	Controle Padrão ($\mu\text{g/mL}$)
Gram positivas			
<i>Staphylococcus aureus</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol 15,62
<i>Enterococcus faecium</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol 15,62
Gram negativas			
<i>Escherichia coli</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol 15,62
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol 15,62
Levedura		CFM ($\mu\text{g/mL}$)	
<i>Candida albicans</i>	>1000	>1000	Fluconazol 125,00

Fonte: Autoria própria (2022)

O composto furanodieno não atingiu a CIM até a máxima concentração avaliada de 1000 µg/mL diante aos microrganismos, logo, não atingiu o efeito inibitório microbicida e bacteriostático. Entretanto, não podemos descartar a possibilidade de ação antimicrobiana em concentrações superiores ou em protocolos metodológicos diferentes deste, como a utilização de outro solvente.

Os resultados obtidos para as substâncias isoladas selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (Tabela 3) e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona (Tabela 4), foi determinada pelo método de teste em microdiluição em caldo para expressar a CIM, CBM, CFM e do controle padrão.

Tabela 3 – Atividade antimicrobiana do composto selina-1,3,7(11)-trien-8-ona.

Microrganismos	CIM(µg/mL)	CBM(µg/mL)	Controle Padrão(µg/mL)
Gram positivas			
<i>Streptococcus mutans</i>	1000	>1000	Clorexidina 0,007
<i>Staphylococcus aureus</i>	500	1000	Cloranfenicol 7,812
<i>Enterococcus faecium</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol <15,625
Gram negativas			
<i>Escherichia coli</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol 3,906
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol <15,625
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol <15,625
Levedura	CIM(µg/mL)	CFM(µg/mL)	
<i>Candida albicans</i>	1000	>1000	Fluconazol 15,625

Fonte: Autoria própria (2022)

Tabela 4 – Atividade antimicrobiana do composto oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona.

Microrganismos	CIM(µg/mL)	CBM(µg/mL)	Controle Padrão(µg/mL)
Gram positivas			
<i>Streptococcus mutans</i>	500	1000	Clorexidina 0,007
<i>Staphylococcus aureus</i>	250	500	Cloranfenicol 7,812
<i>Enterococcus faecium</i>	500	>1000	Cloranfenicol <15,625
Gram negativas			
<i>Escherichia coli</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol 3,906
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol <15,625
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>1000	>1000	Cloranfenicol <15,625
Levedura	CIM(µg/mL)	CFM(µg/mL)	
<i>Candida albicans</i>	250	500	Fluconazol 15,625

Fonte: Autoria própria (2022)

O resultado da CIM para *S. mutans* frente ao composto selina-1,3,7(11)-trien-8-ona foi de 1000 µg/mL, sendo essa concentração considerada bacteriostática e a CBM foi acima de 1000 µg/mL. O composto oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona foi de 500 µg/mL sendo uma concentração bacteriostática e a CBM foi de 1000 µg/mL. Como patógeno humano, a *S. mutans* é uma bactéria facultativamente anaeróbica, Gram positiva, comumente encontrada na cavidade oral humana, que está grudada na superfície dos dentes se alimentando de diversos carboidratos e produzindo ácido que provoca cavidades dentais. Essa bactéria é o principal agente causador de cárie dental (degeneração de dente) e pode causar endocardite infecciosa, que é quando

S. mutans alcança a corrente sanguínea e se instala nas válvulas cardíacas provocando uma infecção (LEMOS, *et al.* 2019).

Não há na literatura trabalhos mostrando a atividade antimicrobiana dos compostos descritos neste estudo, entretanto o efeito antibacteriano e antifúngico de diversas moléculas terpênicas, provenientes de diversas espécies vegetais, tem sido amplamente divulgado em outros trabalhos. Os compostos terpenos timol e terpineol demonstraram resultados antibacterianos, como mostrado pelo invento de Saji e Sinha de 2011, patente BR 112013013085-7 B1, onde 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, que em combinação com sal de zinco forneceu eficácia no extermínio de *S. mutans*. Uma outra invenção para tratamento de biofilme do *S. mutans*, utilizou o triterpeno 3 β -6 β -16 β -trihidroxilup-20(29)-eno extraído e isolado de folhas de *Combretum leprosum* e foi submetido ao teste antibacteriano resultando na CIM em 7,8 $\mu\text{g/mL}$ (TEIXEIRA, *et al.* 2018).

Para *S. aureus* o composto selina-1,3,7(11)-trien-8-ona obteve a CIM em 500 $\mu\text{g/mL}$, sendo essa concentração bacteriostática e a CBM de 1000 $\mu\text{g/mL}$. O composto oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona, alcançou CIM em 250 $\mu\text{g/mL}$ e CBM de 500 $\mu\text{g/mL}$. O microrganismo *S. aureus* na patologia humana é o grande causador de infecções de pele e doenças associadas, infecções endovasculares, pneumonia, artrite séptica e infecções por corpos estranhos. É caracterizado por ter uma enorme capacidade de adaptação, adquirindo mecanismos de resistência contra antibióticos, principalmente à meticilina (EGEA, *et al.* 2014). Novamente sobre os terpenos, foi feita atividade antibacteriana do terpeno farnesol contra cepa de *S. aureus*, que mostrou-se ativo na inibição da proliferação bacteriana e apresentou a CIM de 16 $\mu\text{g/mL}$ (HADA, *et al.* 2003).

O composto selina-1,3,7(11)-trien-8-ona não obteve CIM para *E. faecium* devido a CIM estar acima de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Entretanto, o constituinte oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona atingiu CIM em 500 $\mu\text{g/mL}$. A bactéria *E. faecium* é responsável por uma proporção significativa de infecções hospitalares, como infecção do trato urinário, infecção em feridas e endocardite (VU; CARVALHO, 2011).

Na metodologia testada não foi possível encontrar a CIM e CBM para a *E. coli*, devido estar acima de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Para virulência mais comumente de *E. coli* ocorre

por infecção extra intestinal, infecção do trato urinário e responsável por meningite (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

Para a bactéria *K. pneumoniae* não houve CIM e CBM para os compostos selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona, por estar acima de 1000 µg/mL. 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 (MOURA, *et al.* 2007).

A bactéria *P. aeruginosa* não foi possível observar o CIM e CBM para os compostos selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona por estar acima de 1000 µg/mL. A *P. aeruginosa* é um patógeno comum associado a infecções do trato respiratório em diversos contextos clínicos, é corriqueiro e causa infecção hospitalar em pacientes hospitalizados, as doenças mais frequentes são pneumonia aguda e sepse (SADIKOT, *et al.* 2005).

O fungo *C. albicans* para selina-1,3,7(11)-trien-8-ona atingiu a CIM em 1000 µg/mL, sendo essa concentração fungistática e a CFM foi acima de 1000 µg/mL. Ademais, para oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona a CIM foi de 250 µg/mL, sendo concentração fungistática e obteve CFM em 500 µg/mL. A incidência de doenças humanas causadas por *C. albicans* podem ser de dois tipos: infecções superficiais, como candidíase oral ou vaginal, e infecções sistêmicas (GACSER; SINGH; TOTH, 2019). Em uma patente, com o terpeno antimicrobiano eugenol, foi desenvolvida 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. A pomada inibiu significativamente o crescimento da levedura *C. albicans*, mostrando o potencial que os terpenos possuem para o desenvolvimento de diferentes produtos ativos (MOTA, 2014).

5. CONCLUSÃO

O presente estudo, apresenta técnicas cromatográficas de isolamento, purificação e elucidação estrutural, por CCD, CCV e RMN para viabilizar o fitoquímico puro furanodieno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona pertencente ao grupo químico sesquiterpeno, extraído do OE da espécie *E. uniflora*. Ademais, este trabalho, permitiu constatar a avaliação antimicrobiana do constituído furanodieno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona contra os

microrganismos patógenos de origem clínica e alimentar, evidenciando a susceptibilidade e o potencial antimicrobiano.

Os dados apresentados possibilitam o desenvolvimento de aplicações e produtos tecnológicos para ampliação de novos compostos químicos de modo alternativo dos convencionais, por tratamento clínico para pacientes com restrições a medicamentos clássicos comercialmente, desse modo, diversificando formulações para necessidade da saúde sendo de ampla importância.

6. REFERÊNCIAS

ALVES, S. D., LENADÃO J. E., VICTÓRIA N. F., PERIN, GELSON, SAVEGNAGO, L., JACOB, G. R. (2015). **Fitoterápicos sesquiterpênicos para o tratamento da dor**. Titular: Universidade Federal de Pelotas. 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: 08 ago. 2022.

AURICCHIO, M.; BACCHI, E.M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 1, p. 55 - 61, 2003. Disponível em: <<https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2003/ses-156/ses-156-4258.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2022.

BEZERRA, F. I. C.; DE MORAES RAMOS, R. T.; ASSUNÇÃO FERREIRA, M. R. H.; LIRA SOARES, L. A. Optimization Strategy for Extraction of Active Polyphenols from Leaves of *Eugenia uniflora* Linn. **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 3, p. 735–750, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01691-5>>. Acesso em: 30 ago. 2022.

BEZERRA, J. E. F.; LIRA JUNIOR, J. S. de; SILVA JUNIOR, J. F. da. (2017). Conservação dos recursos genéticos de espécies frutíferas no Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA): situação atual. **Revista RG News**, Brasília, DF, v. 3, n. 2, p. 167, 2017. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1089134>. Acesso em: 13 set. 2022.

COSTA, D. P., ALVES FILHO, E. G., SILVA, L. M. A., SANTOS, S. C., PASSOS, X. S., SILVA, M. DO R. R., FERRI, P. H. (2010). Influence of fruit biotypes on the chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 21(5), 851–858. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532010000500012>. Acesso em: 15 set. 2022.

DE LIMA, E. B. *et al.* **Deterrente de oviposição para o *Aedes aegypti* da microemulsão do óleo de *Eugenia uniflora***. UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, 2020. Disponível em: <https://busca.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=1511534&SearchParameter=EDNA%20BARBOZA%20DE%20LIMA%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>. Acesso em: 20 set. 2022.

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.

Doi:10.1016/j.ijmm.2014.08.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25240872/>. Acesso em: 20 set. 2022.

FARIAS, C. S., JUNIOR, R. S. C. A., TRJANO, R. M. I., JUNIOR, S. N. J. Potencial antimicrobiano do dimetilsulfóxido (dmsO) frente a diversas cepas bacterianas. Anais III CONBRACIS... Campina Grande: **Realize Editora**, 2018. Disponível em: <<https://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/41292>>. Acesso em: 11 dez. 2022

FILHO, C. V.; YUNES, R. A. Em Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna; Yunes, R. A.; Calixto, J. B., eds.; **Argos Ed. Universitária**: Chapecó, 2001.

FOUQUÉ, A. Les plantes médicinales présentes en Forêt Guyanaise. **Fruits**, 36(10), 567- 592, 1981.

GAIAD, S; CARVALHO, R, E, P. Myrtaceae. 2021. Embrapa. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/especies-arboreas-brasileiras/myrtaceae>>. Acesso em: 07 out. 2022.

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=>>. Acesso em: 5 out. 2022

LANDRUM, L. R., KAWASAKI, M. L. (1997). The Genera of Myrtaceae in Brazil: An Illustrated Synoptic Treatment and Identification Keys. **Brittonia**, 49(4), 508. doi:10.2307/280774210.2307/2807742. Disponível em:<<https://link.springer.com/article/10.2307/2807742>>. Acesso em: 10 out. 2022

LEMOS, 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). Doi: 10.1128/microbiolspec.gpp3-0051-2018. Disponível em:<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30657107/>>. Acesso em: 11 out. 2022

MALAMAN, F. S.; MORAES, L. A. B.; WEST, C.; FERREIRA, N. J.; OLIVEIRA, A. L. Supercritical fluid extracts from the Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.): Relationship between the extracted compounds and the characteristic flavour intensity of the fruit. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 85–92, 2011. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.109>>. Acesso em: 12 out. 2022

MCVAUGH, R. 1968. The genera of American Myrtaceae – an interim report. *taxon* 17: 354–418. Disponível em:<<https://doi.org/10.2307/1217393>>. Acesso em: 15 out. 2022

MOURA, M. E. B., CAMPELO, S. M. DE A., BRITO, F. C. P. DE, BATISTA, O. M. A., ARAÚJO, T. M. E. DE, OLIVEIRA, A. D. DA S. (2007). Infecção hospitalar: estudo de prevalência em um hospital público de ensino. **Revista Brasileira de Enfermagem**, 60(4), 416–421. Disponível em:<<https://doi.org/10.1590/S0034-71672007000400011>>. Acesso em: 18 out. 2022

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: 10 out. 2022.

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=BR%2010%202014%20030115%201%20%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>>>. Acesso em: 12 out. 2022.

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:<https://clsi.org/media/1928/m07ed11_sample.pdf>. Acesso em: 22 out. 2022.

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://www7.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPAS1M38-A.pdf>. Acesso em: 25 out. 2022.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v.18, p.414 - 420, 2007. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.009>>. Acesso em: 28 out. 2022.

PEREIRA, N. L. F., AQUINO, P. E. A., JÚNIOR, J. G. A. S., CRISTO, J. S., VIEIRA FILHO, M. A., MOURA, F. F., GUEDES, M. I. F. (2017). Antibacterial activity and antibiotic modulating potential of the essential oil obtained from *Eugenia jambolana* in association with led lights. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 174, 144–149. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.07.027>>. Acesso em: 30 out. 2022.

ROCCHETTI, G.; BERNADO, L.; PATEIRO, M.; BARBA, J. F.; MUNEKATA, S. E. P.; TREVISAN, M.; LORENZO, M. J.; LUCINI, L. (2020). Impact of a Pitanga Leaf Extract to Prevent Lipid Oxidation Processes during Shelf Life of Packaged Pork Burgers: An Untargeted Metabolomic Approach. **Journal Foods**. Volume 9 (1668): 1-16. DOI: 10.3390/foods9111668. Disponível em:<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33203110/>>. Acesso em: 02 nov. 2022.

SADIKOT, R.T., BLACKWELL, T.S., CHRISTMAN, J.W. E PRINCE, A.S. (2005). Pathogen–Host Interactions in *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, 171 (11), 1209–1223. Doi: 10.1164 / rccm.200408so. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2718459/>>. Acesso em: 10 nov. 2022

SANTURIO, M.J.; SANTURIO, D.F.; POZZATI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P.R.; ALVES, S.H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* de origem avícola. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.37, n.3, p.803-808, 2007. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cr/a/yQx5FHXgDtw5NKhJCLfBqc/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 11 dez. 2022

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=COMPOSIÇÃO%20DE%20CUIDADOS%20ORAIS,%20ENXAGUANTE%20BUCAL,%20CREME%20DENTAL,%20DENTÍFRICO,%20MÉTODO%20PARA%20DESINFETAR%20A%20CAVIDADE%20ORAL%20E%20USO%20DE%20UMA%20COMPOSIÇÃO%20%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>>>. Acesso em: 16 out. 2022

SANTOS, J. F. S. DOS; ROCHA, J. E.; BEZERRA, C. F.; SILVA, M. K. DO N.; MATOS, Y. M. L. S. DE; FREITAS, T. S. DE; SANTOS, A. T. L. DOS; CRUZ, R. P. DA; MACHADO, A. J. T.; RODRIGUES, T. H. S.; BRITO, E. S. DE; SALES, D. L.; ALMEIDA, W. DE O.; COSTA, J. G. M. DA; COUTINHO, H. D. M.; MORAIS-BRAGA, M. F. B. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. **Food Chemistry**, v. 261, p. 233–239, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.015>>. Acesso em: 18 out. 2022

SANTOS, F. R.; BRAZ-FILHO, R.; CASTRO, R. N. Influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* L. na composição química do óleo essencial. **Química. Nova**, v. 38, n. 762-768, ed. 6, 30 abr. 2015. DOI doi.org/10.5935/0100-4042.20150072. Disponível em: <https://www.crossref.org/iPage?doi=10.5935%2F0100-4042.20150072>. Acesso em: 20 out. 2022.

Taiz, L.; Zeiger, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed., Artmed, 2009. 345 p. Disponível em: <<https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/tecnologia/luciamariacararetoalves/metabolitos-secundarios-cap-13-fisiologia-vegetal.pdf>>. Acesso em: 11 dez. 2022.

TEIXEIRA, H. E., ALBUQUERQUE, R. J. R. M., BANDEIRA, N. P., SANTOS, S. H., CAVADA, S. B., NASCIMENTO, S. K., FRANCISCO, F. V. E., ARRUDA, S. V. F. (2013). **Processo de isolamento de um triterpeno de *Combretum leprosum* e sua utilização como agente antimicrobiano sobre estreptococos do grupo mutans**. BR 102013021145-1 A2. Depósito: 19 agosto 2013. Concessão: 05 julho 2016. Disponível em: <<https://gru.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&Cod>>

Pedido=1012461&SearchParameter=PROCESSO%20DE%20ISOLAMENTO%20DE%20UM%20TRITERPENO%20DE%20COMBRETUM%20LEPROSUM%20E%20SU%20UTILIZAÇÃO%20COMO%20AGENTE%20ANTIMICROBIANO%20SOBRE%20ESTREPTOCOCOS%20DO%20GRUPO%20MUTANS%20%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>. Acesso em: 22 out. 2022.

VICTORIA, F. N., LENARDÃO, E. J., SAVEGNAGO, L., PERIN, G., JACOB, R. G., ALVES, D., NASCENTE, P. DA S. (2012). Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food and Chemical Toxicology**, 50(8), 2668–2674. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.05.002>>. Acesso em: 24 out. 2022.

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. doi:10.1007/s11515-011-1167-x. Disponível em:<<https://link.springer.com/article/10.1007/s11515-011-1167-x>>. Acesso em: 25 out. 2022.

WEYERSTAHL, P.; MARSCHALL-WEYERSTAHL, H.; CHRISTIANSEN, C. OGUNTIMEIN, B.; ADEOYE, A. Constituintes voláteis do óleo da folha de *Eugenia uniflora*. **Planta Med.** 1988, 54, 546-549. DOI: 10.1055/s-2006-962544. Disponível em:<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3212089/>>. Acesso em: 28 out. 2022.

YOO, C.; HAN, K.; CHO, K.; HA, J.; PARK, H.; NAM, J.; KIL, U.; LEE, K. Eugenol isolated from the essential oil of *Eugenia caryophyllata* induces a reactive oxygen species-mediated apoptosis in HL-60 human promyelocytic leukemia cells. **Cancer Letters**, v. 225, n. 1, p. 41-52, 2005. Disponível em:<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15922856/>>. Acesso em: 11 dez. 2022.