

TESTE DE SINERGISMO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE *Eugenia uniflora* E PRÓPOLIS POR MÉTODO DE *CHECKERBOARD*

Mariana Dalmagro^{a*}; Guilherme Donadel^b; Mariana Moraes Pinc^a; Alyne Leuch Stecanella^c; Getulio Capello Tominc^d; Nathielle Miranda^e; Giuliana Zardeto^e; Odair Alberton^a; Emerson Luiz Botelho Lourenço^{a,b,d} Jaqueline Hoscheid^{a,d}.

^a Programa de Mestrado e Doutorado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Universidade Paranaense - UNIPAR. Praça Mascarenhas de Moraes, 4282 – Centro, Umuarama – PR, 87502-210.

^b Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos, Universidade Paranaense - UNIPAR. Praça Mascarenhas de Moraes, 4282 – Centro, Umuarama – PR, 87502-210.

^c Laboratório de pesquisa pré-clínica de produtos naturais, Universidade Paranaense - UNIPAR. Praça Mascarenhas de Moraes, 4282 – Centro, Umuarama – PR, 87502-210.

^d Programa de Mestrado Profissional e m P lant as M edicinais e F itoterápicos na A tenção B ásica, U niversidade P aranaense - UNIPAR. Praça Mascarenhas de Moraes, 4282 – Centro, Umuarama – PR, 87502-210.

^e Curso de Farmácia, Universidade Paranaense - UNIPAR. Av. Parigot de Souza, 3636 – Jardim Prada, Toledo – PR, 85903-170.

RESUMO

Introdução: A crescente resistência bacteriana aos antibióticos tornou-se uma ameaça à população. Devido ao avanço da fitoterapia nos últimos anos, estudos sobre a ação antimicrobiana de diferentes bioativos têm sido incentivados cada vez mais. De acordo com a literatura, *Eugenia uniflora* apresenta composição química complexa e seus compostos possuem atividade terapêutica anti-inflamatória, hipotensora, hipoglicemiante, antipirética e antibacteriana. No própolis, foram identificados cerca de 300 compostos relacionados a atividades farmacológicas como anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica, hepatoprotetora e antibacteriana. **Objetivo:** Portanto, o trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana individual e combinada dos extratos de *E. uniflora* e Própolis por *checkerboard*. **Metodologia:** Os extratos foram testados em triplicata, frente a *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A incubação foi realizada por 24 horas a 35 ± 2 °C para bactérias, e 48 horas a 25 ± 2 °C para o fungo. A avaliação dos resultados bacterianos foi realizada empregando cloreto de trifeniltetrazólio a 2% e a multiplicação fúngica pela turvação do meio. **Resultados:** Foram encontrados os valores de 62,50 e 7,81 mg/mL para *C. albicans*, *E. coli* 7,81 e 3,90 mg/mL e *S. aureus* 7,81 e 7,81 mg/mL, para própolis e *E. uniflora*, respectivamente, quando combinados. Ao calcular o índice de concentração inibitória fracional, observou-se que os valores se compreenderam entre 0,74 e 1,06, indicando que não ocorreu interação entre os extratos avaliados. **Conclusão:** Assim, apesar da atividade antimicrobiana já comprovada para os extratos de *E. uniflora* e própolis, a combinação dos extratos não apresentou efeito sinérgico nas condições e metodologia avaliada.

Palavras-chave: Bioativos; Concentração inibitória mínima; Efeito sinérgico; Fitoterapia; Pitanga.

ABSTRACT

Introduction: The growing bacterial resistance to antibiotics has become a threat to the population. Due to the advancement of phytotherapy in recent years, studies on the antimicrobial action of different bioactives have been increasingly encouraged. According to the literature, *E. uniflora* has a complex chemical

***Autor correspondente:** Mariana Dalmagro, Especialista em Farmacologia e Interações Medicamentosas, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282 – Centro, Umuarama – PR, 87502-210; mariana.dal@edu.unipar.br.

composition and its compounds have anti-inflammatory, hypotensive, hypoglycemic, antipyretic and antibacterial therapeutic activity. In propolis, about 300 compounds related to pharmacological activities such as anti-inflammatory, antioxidant, antifungal, hepatoprotective and antibacterial were identified. Therefore, the objective of this work was to evaluate the individual and combined antimicrobial activity of *E. uniflora* and Propolis extracts by *checkerboard*. **Methodology:** The extracts were tested in triplicate against *Candida albicans*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Incubation was carried out for 24 hours at 35 ± 2 °C for bacteria, and 48 hours at 25 ± 2 °C for the fungus. The evaluation of bacterial results was performed using 2% triphenyltetrazolium chloride and fungal multiplication by turbidity of the medium. **Results:** Values of 62.50 and 7.81 mg/mL were found for *C. albicans*, *E. coli* 7.81 and 3.90 mg/mL and *S. aureus* 7.81 and 7.81 mg/mL, for propolis and *E. uniflora*, respectively, when combined. When calculating the fractional inhibitory concentration index, it was observed that the values were between 0.74 and 1.06, indicating that there was no interaction between the evaluated extracts. **Conclusion:** Thus, despite the antimicrobial activity already proven for the extracts of *E. uniflora* and propolis, the combination of extracts did not present a synergistic effect under the conditions and methodology evaluated.

Keywords: Bioactive; Minimum inhibitory concentration; Synergistic effect; Phytotherapy; Pitanga.

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Eugenia*, pertencente à família Myrtaceae, contém mais de 500 espécies, das quais cerca de 400 estão localizadas no Brasil. Neste gênero se destaca a *Eugenia uniflora* L., popularmente conhecida como pitangueira, um arbusto ou árvore semidecídua, de 4 a 10 m de altura, copa estreita, e tronco liso de cor pardo clara. As folhas são simples, cartáceas, de 3 a 7 cm de comprimento, com aroma característico. As flores são de cor branca, solitárias ou em grupos de 2-3 nas axilas e nas extremidades dos ramos. Os frutos possuem forma drupa, globosos e sulcados, brilhantes e de cor vermelha, amarela ou preta, com polpa carnosa e agridoce, contendo de 1 a 2 sementes (LORENZI e MATOS, 2002).

E. uniflora foi incluída na medicina popular pelos índios da tribo Guaranis no século XV. As folhas da pitangueira são utilizadas popularmente na forma de infusão ou decocção, para auxílio na diurese, bem como para fins preventivos e para tratamento de doenças como hipertensão, desordens gástricas e digestivas (CARVALHO; DE ALMEIDA SANTOS; DE CARVALHO SANTOS, 2016).

De acordo com a literatura, *E. uniflora* apresenta composição química complexa tanto nos frutos quanto nas folhas. Seus compostos estão relacionados a atividades terapêuticas já comprovadas cientificamente, destacando-se as ações anti-inflamatória, hipotensora, hipoglicemiante, antipirética e antibacteriana (TAUFNER; FERRAÇO; RIBEIRO, 2006; STEFANELLO; PASCOAL; SALVADOR, 2011; BESCHORNER e BÜNDCHEN, 2020).

A utilização medicinal do própolis vem sendo descrita desde, pelo menos, 300 a.C., pelos assírios, gregos, romanos, incas e egípcios, e se estendendo até a contemporaneidade. O uso do própolis é antigo, especialmente na medicina tradicional, sendo hoje um produto apícola de amplo uso em todo o mundo (DOS SANTOS LOIOLA; ETHUR; WEBER, 2020).

A palavra própolis é derivada do grego, sendo que, ‘Pro’ significa “na frente de” e ‘polis’ significa ‘comunidade’ ou ‘cidade’, o que remete à substância de defesa da colmeia. É coletada por abelhas operárias, a partir de grandes secreções resinosas de plantas, como mucilagem, gomas, resinas e treliças, e de botões de folhas de espécies diferentes de plantas como palmeira, pinheiro, amieiro, choupo, faia, conífera e bétula, e posteriormente misturados com secreções salivares e enzimáticas (ANJUM *et al.*, 2019).

Já foram encontrados e identificados cerca de 300 compostos em diferentes amostras de própolis relacionados a diversos benefícios, dentre eles: ésteres de ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos, b-esteroides, álcoois e aldeídos aromáticos, sesquiterpenos, naftalenos, dentre outros (DOS SANTOS LOIOLA; ETHUR; WEBER, 2020).

Devido a diversidade de compostos, há uma variedade de atividades farmacológicas relatadas, como anti-inflamatória, anestésica, antioxidante, antitumoral, anticâncer, antifúngica, antiprotozoária, hepatoprotetora, antimutagênica, antisséptica, antiviral e antibacteriana. Estudos comprovam um grande potencial do própolis contra diferentes tipos de microrganismos, dentre eles, parasitas, bactérias, vírus e leveduras (ALMUHAYAWI, 2020).

As infecções causadas por bactérias são um importante problema de saúde pública devido a presença de microrganismos multirresistentes em hospitais e outros locais. A investigação de novas moléculas provenientes de produtos naturais, como as encontradas nos extratos de própolis e de *E. uniflora* com potencial bactericida apresenta uma infinidade de possibilidades e tem sido explorada em diferentes cenários (FIDELIS *et al.*, 2022).

A necessidade de novos produtos e novas estratégias terapêuticas, associado ao avanço da fitoterapia nos últimos anos, alavancou estudos relacionados à ação antimicrobiana de bioativos (DOS SANTOS LOIOLA; ETHUR; WEBER, 2020). Assim, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar a atividade antimicrobiana individual e o efeito sinérgico dos extratos de *Eugenia uniflora* e Própolis por metodologia de *checkerboard*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos materiais

2.1.1 *Eugenia uniflora*

Folhas de *Eugenia uniflora*, previamente identificadas, foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da UNIPAR (Universidade Paranaense), campus Umuarama (Brasil), e secas em estufas com circulação forçada de ar à 40 °C até peso constante. Após a secagem, foram submetidas à pulverização em moinho de facas e conservadas ao abrigo de luz e umidade até o preparo do extrato.

2.1.2 Própolis

Própolis de *Apis mellifera* foi obtido diretamente de uma empresa apiária localizada na cidade de Maringá (-23.377195692014222, -51.937145626632656), na região noroeste do Paraná, Brasil. A amostra foi conservada ao abrigo de luz e umidade até o preparo do extrato.

2.2 Preparo dos extratos

2.2.1 *Eugenia uniflora*

O material vegetal seco e moído (100 g) foi submetido ao processo de extração por infusão em 1 L de água fervente. A extração foi realizada por 5 horas, para que o meio extrator atingisse a temperatura

ambiente. O resíduo sólido foi separado por filtração e o extrato obtido foi concentrado em evaporador rotatório até um volume de 200 mL. O produto obtido foi tratado em proporção 1:3, ou seja, 600 mL de etanol para 200 mL do infuso, para a precipitação de proteínas e polissacarídeos. Dessa forma foi obtido um precipitado etanólico do infuso (PEI), que foi descartado, e um sobrenadante etanólico do infuso, o qual foi liofilizado e armazenado em freezer (-20 °C) até a sua utilização (LORENZI e MATOS, 2002).

2.2.2 Própolis

Preparou-se o extrato contendo 30% (p/p) de própolis em etanol 96 °GL. Para tanto, 300 g de própolis foram acondicionados em turbo extrator e a massa foi completada para 1000 g com álcool, permanecendo em repouso durante 24 horas. Transcorrido o período, a massa volatilizada foi novamente repostada com o mesmo solvente, e o material submetido a turbo extração durante 15 minutos. O extrato foi submetido à refrigeração (8 °C) por 1 hora e em seguida filtrado sob vácuo, acondicionado em frasco de vidro âmbar com batoque interno de vedação e tampa rosca (BRUSCHI *et al.*, 2002; BRUSCHI, 2006).

2.2.3 Avaliação fitoquímica preliminar

Foram realizadas as análises para a determinação de saponinas, alcaloides, flavonoides, taninos e antraquinonas conforme as metodologias descritas pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009).

2.2.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada para os extratos de *E. uniflora* e própolis, isolados e combinados, em caldo infusão cérebro coração (BHI), pela técnica de *checkerboard* em microplacas de 96 poços, frente os microrganismos *Candida albicans* (ATCC 10231), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). A concentração inicial de trabalho foi definida em 1.000 mg/mL de cada extrato. A incubação foi realizada por 24 horas a 35 ± 2 °C para as bactérias, e para o fungo, por 48 horas, a 25 ± 2 °C. A avaliação dos resultados bacterianos foi realizada empregando cloreto de trifeniltetrazólio a 2%. Já a multiplicação fúngica foi avaliada pela turvação do meio (ENDO, 2007). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.2.5 Determinação do Índice da Concentração Inibitória Fracionária (FICI)

Dentre os métodos existentes para calcular as interações entre substâncias ativas, utilizou-se o Índice da Concentração Inibitória Fracionária (FICI), descrito por Segatore *et al.* (2012), o qual:

$$FICI = FIC_A + FIC_B = (CIM_{AB} \div CIM_A) + (CIM_{BA} \div CIM_B)$$

Onde, CIM_A e CIM_B são as CIMs das substâncias ativas A e B quando agem isoladamente, enquanto CIM_{AB} e CIM_{BA} são as CIM das substâncias ativas A e B quando agem em combinação. A atividade combinada das substâncias é considerada sinérgica quando o FICI for $\leq 0,5$, não ocorre interação quando $0,5 \leq FICI \leq 4$, e antagonica quando o FICI ≥ 4 (ODDS, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma vez que teste fitoquímicos preliminares podem auxiliar na prospecção das atividades biológicas e farmacológicas dos extratos vegetais, a triagem para as principais classes de metabólitos secundários foi realizada para *E. uniflora* e Própolis e encontra-se representada na tabela 1.

Tabela 1: Resultados triagem fitoquímica de *E. uniflora* e Própolis.

| Reações de identificação | Própolis | <i>E. uniflora</i> |
|--------------------------|----------|--------------------|
| Saponinas | - | + |
| Alcaloides | - | - |
| Flavonoides | + | + |
| Taninos | + | + |
| Antraquinonas | - | - |

(-) indica ausência de reação; (+) indica a presença de reação e consequentemente da classe de bioativos.

Segundo Moura *et al.* (2018) vários estudos demonstram a presença de antraquinonas, esteroides, triterpenos, heterosídeos de flavonoides, de saponina e de taninos, sesquiterpenos, compostos fenólicos, antocianinas, flavonoides e carotenoides nas folhas de *E. uniflora*, sugerindo assim, um importante potencial fitoterápico a ser investigado.

A presença de flavonoides e taninos foi indicada por meio de reações colorimétricas e de precipitação, contudo saponinas e antraquinonas não foram observadas em quantidades suficientes para detecção frente às reações preliminares de identificação, divergindo de Moura *et al.* (2018). É importante enfatizar que a presença dos metabólitos secundários pode ser influenciada por diversos fatores, como condições do solo, alterações climáticas, presença ou ausência de predadores naturais e outros (COSTA; LAMEIRA, 2021), justificando assim, resultados distintos do presente trabalho com a literatura encontrada.

Estudos anteriores já relataram a presença de diversos bioativos derivados de flavonoides, como flavononas, xantonas, flavonóis, chalconas e auronas, catequinas e leucoantocianidinas, em amostras de Própolis (SILVA *et al.*, 2018). Este resultado corrobora com os dados apresentados, onde detectou-se a presença de flavonoides no extrato. A presença de flavonoides, taninos e saponinas são indicativos de uma possível atividade antimicrobiana, sendo que a presença destas classes de bioativos, em diversas ocasiões já foi relacionada a inibição de microrganismos (BAKY *et al.*, 2021; DE ARAÚJO *et al.*, 2021; CHUKWUDOZIE; EZEONU, 2021; KISA *et al.*, 2022). Logo, conforme esperando, ambos os extratos apresentaram atividade antimicrobiana (tabela 2), e o efeito da combinação foi avaliado.

Tabela 2: Concentração inibitória mínima (mg/mL) e índice de concentração inibitória fracional dos extratos de própolis e *E. uniflora* frente aos microrganismos testados

| CIM | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | <i>C. albicans</i> |
|-------------------------------|------------------|----------------|--------------------|
| Própolis isolado | 250,00 | 125,00 | 125,00 |
| <i>E. uniflora</i> isolado | 7,81 | 3,90 | 31,25 |
| Própolis + <i>E. uniflora</i> | 7,81 + 7,81 | 7,81 + 3,90 | 62,50 + 7,81 |
| FICI | 1,03 | 1,06 | 0,74 |

Estudos anteriores já haviam relatado a atividade isolada de extratos de *E. uniflora* e própolis sobre diversos microrganismos. Souza *et al.* (2018) demonstraram que o extrato das folhas de *E. uniflora*

foi capaz de reduzir a adesão de células epiteliais orais humanas à formação de biofilme e alteraram a hidrofobicidade da superfície celular de *C. albicans*. Vicã *et al.* (2021), atestaram a ação antimicrobiana de extratos de própolis, provenientes de diferentes municípios, frente aos microrganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *C. albicans*, e sugeriram que o efeito antimicrobiano poderia ser explicado pela presença de quercetina, e pela elevada concentração de polifenóis e flavonoides.

Apesar da atividade antimicrobiana já comprovada cientificamente para os extratos isolados, ao calcular o FICI foi observado que os valores permaneceram compreendidos entre 0,74 e 1,06, indicando que não ocorreu interação entre os extratos avaliados, ou seja, não houve efeito sinérgico que justifique a utilização dos extratos em conjunto no intuito de potencializar a atividade antimicrobiana. Tampouco não foi encontrado efeito antagônico para a combinação, justificando que a associação dos extratos pode exercer efeitos complementares para o tratamento de outras patologias já confirmadas cientificamente.

4 CONCLUSÃO

A resistência aos antimicrobianos já disponíveis têm aumentado significativamente, sendo necessário buscas por alternativas para solucionar esse problema. Diversos produtos de origem natural apresentam eficácia no controle das infecções microbianas, o que justifica a pesquisa por novas drogas a partir de plantas medicinais, bem como o estudo sobre o potencial efeito sinérgico de associações.

Verificou-se que os extratos de *E. uniflora* e própolis apresentaram atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* como esperado, contudo, a combinação dos extratos, frente as condições e metodologias avaliadas, não apresentou efeito sinérgico que justifique a utilização conjunta com objetivo de potencializar o efeito microbicida.

Assim, espera-se conscientizar a população sobre a utilização segura e eficaz de plantas medicinais, bem como sobre os efeitos das associações, oferecendo orientações adequadas para o uso correto de bioativos e fitoterápicos.

CONFLITOS DE INTERESSE:

Não há conflitos de interesse

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMUHAYAWI, M. S. Própolis as a novel antibacterial agent. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 11, p. 3079, 2020.

ANJUM, S. I. *et al.* Composição e propriedades funcionais da própolis (cola de abelha): uma revisão. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 7, p. 1695- 1703, 2019.

BAKY, M. H. *et al.* Flavonoids from Manilkara hexandra and antimicrobial and antioxidant activities. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 100, p. 104375, 2022.

BESCHORNER, A. B.; BÜNDCHEN, M. Análise anatômica e histoquímica das folhas de *Eugenia uniflora*. **ScientiaTec**, v. 7, n. 03, 2020.

BRUSCHI, M. L. *et al.* Contribuição ao protocolo de controle de qualidade da própolis e de seus extratos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 23, n. 2, p. 289-306, 2002.

BRUSCHI, M. L. *et al.* Sistemas de liberação de fármaco intrabolsa periodontal. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 29-47, 2006.

CARVALHO, A. A.; DE ALMEIDA SANTOS, P. M.; DE CARVALHO SANTOS, W. Prospecção tecnológica de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). **Revista GEINTEC. Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 6, n. 2, p. 3109-3120, 2016.

CHUKWUDOZIE, I. K.; EZEONU, I. M. ANTIMICROBIAL PROPERTIES AND ACUTE TOXICITY EVALUATION OF *Pycnanthus angolensis* STEM BARK. **Scientific African**, p. e01185, 2022.

COSTA, A. S.; LAMEIRA, O. A. Estudo fitoquímico do oleoresina extraído da *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioidade) em uma área de manejo sustentável. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 16, p. e154101622305-e154101622305, 2021.

DE ARAÚJO, F. F. *et al.* Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. **Food Chemistry**, v. 338, p. 127535, 2021.

DOS SANTOS LOIOLA, N.; ETHUR, E. M.; WEBER, A. C. Atividade antimicrobiana in vitro de extrato etanólico de própolis da abelha *Scaptotrigona aff. Postica* (Latreille, 1807). **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 6, p. 612-620, 2020.

ENDO, E. H. **Efeito Antifúngico de Extrato Bruto e Frações de *Punica granatum* Contra *Candida albicans* e Sinergismo com Fluconazol**. 2007. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêutica) Universidade Estadual de Maringá, Maringá, p. 27, 2007.

FIDELIS, E. M. *et al.* Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) as a source of bioactive compounds for health benefits: A review. **Arabian Journal of Chemistry**, p. 103691, 2022.

KISA, D. *et al.* Assessment of antimicrobial and enzymes inhibition effects of *Allium kastambulense* with in silico studies: Analysis of its phenolic compounds and flavonoid contents. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 15, n. 6, p. 103810, 2022.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, p. 512, 2002.

MOURA, G. S. *et al.* *Eugenia uniflora* L.: potential uses as a bioactive plant. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, 2018.

ODDS, F. C. Synergy, antagonism, and whats the checkerboard puts between them. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 52, n. 1, p. 1, 2003.

SEGATORE, B. *et al.* In vitro interaction of usnic acid in combination with antimicrobial agents against methicillinresistant Staphylococcus aureus clinical isolates determined by FICI and ΔE model methods. **Phytomedicine**, v. 19, p. 341– 347, 2012.

SILVA, F. R. G. *et al.* Triagem fitoquimico e atividade antibacteriana, antifúngica, antioxidante e antitumoral in vitro da propólis vermelha de Alagoas. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, p. 452-459, 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. **Alcaloides**. 2009. Disponível em: <<http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/alcaloides.html>>.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. **Antraquinonas**. 2009. Disponível em: <<http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/antraquinonas.html>>.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. **Flavonoides**. 2009. Disponível em: <<http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/flavonoides.html>>.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. **Saponinas**. 2009. Disponível em: <<http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/saponinas.html>>.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. **Taninos**. 2009. Disponível em: <<http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/taninos.html>>.

SOUZA, L. B. F. C. *et al.* Influence of *Eugenia uniflora* extract on adhesion to human buccal epithelial cells, biofilm formation, and cell surface hydrophobicity of *Candida* spp. from the oral cavity of kidney transplant recipients. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2418, 2018.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, p. 73-94, 2011.

TAUFNER, C. F.; FERRAÇO, E. B.; RIBEIRO, L. F. Uso de plantas medicinais como alternativa fitoterápica nas unidades de Saúde Pública de Santa Teresa e Marilândia, ES. **Natureza on line**, v. 4, p. 30-39, 2006.

VICĂ, M. L. *et al.* The antimicrobial activity of honey and propolis extracts from the central region of Romania. **Food Bioscience**, v. 41, p. 101014, 2021.