

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO DR. LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

EDINARDO FAGNER FERREIRA MATIAS

**PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Piper arboreum PARA DESENVOLVIMENTO E MELHORAMENTO DE
ENXAGUATÓRIO BUCAL**

JUAZEIRO DO NORTE, CEARÁ.
2021

EDINARDO FAGNER FERREIRA MATIAS

**PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Piper arboreum PARA DESENVOLVIMENTO E MELHORAMENTO DE
ENXAGUATÓRIO BUCAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Odontologia do Centro
Universitário Doutor Leão Sampaio, como pré-
requisito para aprovação na disciplina.

Orientador: Prof. Me. Vilson Rocha Cortez Teles
de Alencar.

Coorientador: Prof. Dr. Henrique Douglas Melo
Coutinho.

JUAZEIRO DO NORTE, CEARÁ.

2021

EDINARDO FAGNER FERREIRA MATIAS

**PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE
PIPER ARBOREUM PARA DESENVOLVIMENTO E MELHORAMENTO DE
ENXAGUATÓRIO BUCAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso de Graduação em
Odontologia do Centro Universitário Doutor Leão
Sampaio, como pré-requisito para obtenção do grau
de Bacharel.

Aprovado em 10/12/2021.

BANCA EXAMINADORA

**PROFESSOR (A) MESTRE (A) VILSON ROCHA CORTEZ TELES DE ALENCAR
ORIENTADOR (A)**

**PROFESSOR (A) DOUTOR (A) IVO CAVALCANTE PITA NETO
MEMBRO EFETIVO**

**PROFESSOR (A) ESPECIALISTA EDUARDO FERNANDO CHAVES MORENO
MEMBRO EFETIVO**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que me apoiaram durante essa caminhada e acreditaram que seria capaz de concluir este mais esta etapa da minha formação acadêmica e profissional com humildade e a sensação do dever cumprido diante de todos que confiaram em mim.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por se fazer sempre muito presente, dando-me forças para enfrentar todos os momentos dessa caminhada e iluminando-me nos momentos obscuros da vida.

Aos meus pais, **Edilson Matias da Silva** e **Maria de Fátima Ferreira Matias**, por terem me dado a vida, não tão somente ela, mas tudo de bom que aprendi foram por seus ensinamentos, conselhos e amor; e com ela pude chegar até onde estou hoje, sempre com muito carinho, dedicação e atenção.

Às minhas amadas filhas, **Maria Isabelly Brasil Matias** e **Maria Sophia Sobral Matias**, por existirem na minha vida, sendo a principal fonte de energia necessária para romper barreiras e vencer todos os obstáculos que surgem durante as batalhas da vida.

A minha noiva **Amanda Máximo de Lima Miranda**, pela paciência e dedicação diária e por todo apoio e incentivo para que esse momento fosse concretizado, muitíssimo obrigado.

Às minhas irmãs queridas, **Flávia Ferreira Matias** e **Elizabete Ferreira Matias**, por serem além de irmãs, grandes amigas, e nos momentos que mais precisei estava sempre ao meu lado.

Aos meus irmãos, **Eduardo Ferreira Matias** e **Edson Ferreira Matias**, pelo incentivo de amigos e por tudo que fizeram durante minha vida.

A toda minha família, por sempre estarem participando das minhas conquistas, sempre presentes em tudo que conquistava, mesmo nos momentos de dificuldades tive o apoio de todos.

Ao meu amigo e mentor Orientador prof. **Me. Vilson Rocha Cortez Teles de Alencar**, pelos ensinamentos do dia a dia, pela oportunidade, pela confiança que sempre depositou em mim, pelo apoio nos momentos de dificuldade que passei serei sempre grato, pois precisamos além do saber, a forma de encontrá-lo, incentivando a encarar os desafios como forma de engrandecimento durante todo desenvolvimento profissional.

Ao amigo e Co-Orientador prof. **Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho**, por ter gentilmente cedido horas de seu tempo para discutirmos sobre metodologias e resultados, além do espaço do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular - LMBM, ajudando, orientando e incentivando nossos experimentos, mostrando que nos caminhos tortuosos sempre existe uma saída sábia, compartilhando de toda sua sabedoria e inteligência conosco, além de sua grandiosa humildade que faz com que tenhamos um enorme carinho pelo seu trabalho científico.

Aos alunos **Ana Paula Dantas Pereira, Ana Valéria de Oliveira Braz, Mariana Carvalho Rodrigues, Jussara de Lima Silva, Philippe Alencar Araujo Maia** do programa de iniciação científica da Faculdade CECAPE, que tiveram papel fundamental durante a fase experimental e auxiliando em diversas etapas do desenvolvimento do projeto.

À **Faculdade CECAPE, Diretores e Coordenadores**, pela colaboração, liberação de minhas atividades profissionais e acesso aos laboratórios para realização das atividades experimentais e desta forma tornando possível a concretização desta etapa da formação acadêmica e profissional.

Aos professores do Curso de Graduação, por terem transmitido com muita dignidade seus conhecimentos, os quais adquiriram com muito esforço e dedicação.

Aos colegas da Graduação, por termos juntos vencidos tantas disciplinas, estágios, atendimentos, práticas laboratoriais e avaliações com um saldo maravilhoso, que em um ambiente solidário de paz e amizade é necessário para que crescamos juntos em tudo.

A FUNCAP por ter colaborado financeiramente durante todo o desenvolvimento da pesquisa.

RESUMO

Estudos mostram que mais consumidores estão usando produtos naturais para a saúde no mundo moderno. Observamos que enxaguatórios bucais contendo compostos naturais mostraram um crescimento na demanda nos mercados e na comunidade profissional. O Objetivo deste estudo foi realizar a caracterização química e o potencial microbiológico do óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa), fornecendo dados que possibilite o desenvolvimento de uma formulação de enxaguatório bucal de baixo custo voltada para comunidades vulneráveis. A avaliação da atividade antibacteriana e moduladora da resistência bacteriana foi realizada pelo método de microdiluição para determinar a concentração inibitória mínima (MIC). Os componentes químicos foram caracterizados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, identificou 20 constituintes químicos, sendo Caryophyllene oxide, Myristicin, Spathulenol, E-Caryophyllene e Humulene Epoxide II os compostos majoritário. O EOPa apresentou concentração inibitória mínima CIM ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$ para todas as linhagens bacterianas utilizadas nos testes. Quando avaliada a atividade moduladora do EOPa combinado com clorexidina, enxaguante bucal e os antibiótico (ampicilina, gentamicina e penicilina G) frente a resistência bacteriana, o óleo demonstrou atividade sinérgica significativa, reduzindo a CIM dos produtos testados em combinação, percentualmente entre 37% a 87,5%. Portanto, recomendamos ampliação dos testes com maior variação de combinações de concentração do EOPa e os produtos utilizados neste estudo, bem como avaliação de toxicidade e ensaios *in vivo*, buscando o desenvolvimento de uma possível formulação de enxaguatório bucal de baixo custo e acessível a população mais vulnerável.

PALAVRAS-CHAVES: atividade antibacteriana. infecção bacteriana. modulação da resistência. saúde bucal. higiene oral.

ABSTRACT

Studies show that more consumers are using natural health products in the modern world. We have noticed that mouthwashes contain natural compounds a growing demand in markets and the professional community. The objective of this study was to carry out the chemical characterization and microbiological potential of essential oil *Piper arboreum* (EOPa), providing data that enable the development of a low-cost mouthwash aimed at vulnerable communities. The evaluation of antibacterial and bacterial resistance modulating activity was performed by the microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). The chemical components were characterized by gas chromatography coupled with mass spectrometry, identified 20 chemical constituents, being Caryophyllene Oxide, Myristicin, Spathulenol, E-Caryophyllene and Humulene Epoxide II the major compounds. The EOPa minimum inhibitory concentration $MIC \geq 1024 \mu\text{g/mL}$ for all bacterial strains used in the tests. When evaluating the modulating activity of EOPa combined with chlorhexidine, mouthwash and antibiotics (ampicillin, gentamicin and penicillin G) against bacterial resistance, the oil limited synergistic activity, between the MIC of the products tested in combination, percentage 37% to 87.5%. Therefore, we recommend expanding the tests with greater variation in the concentration of EOPa concentration and the products used in this study, as well as toxicity assessment and *in vivo* tests, seeking the development of a possible low-cost mouthwash base that is accessible to the most population vulnerable.

Keyword: antibacterial activity. bacterial infection. resistance modulation. oral health. oral hygiene.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. MATERIAS E MÉTODOS	11
2.1 Linhagens Bacterianas	11
2.2 Preparo e padronização de inóculos bacterianos	12
2.3 Antibióticos e Soluções Enxaguantes bucais.....	12
2.4 Preparação do produto natural obtidos de vegetais	12
2.4.1 Obtenção do óleo essencial.....	12
2.4.2 Análise química do óleo essencial.....	13
2.5 Realização de ensaios antibacterianos.	13
2.5.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) <i>in vitro</i> por contato direto.....	14
2.5.2 Atividade moduladora da ação antibiótica <i>in vitro</i> por contato direto	14
2.5.3 Análise estatística dos ensaios microbiológicos	15
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4. CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

“A cada dia que vivo, mais me convenço de que o desperdício da vida está no amor que não damos, nas forças que não usamos, na prudência egoísta que nada arrisca.”

(Carlos Drummond de Andrade)

1. INTRODUÇÃO

Diversos estudos científicos descrevem algumas atividades biológicas de vegetais, como ação antidiabética (AKPAN *et al.*, 2014), antioxidante (OJO *et al.*, 2014), ansiolítica (VENUPRASAD *et al.*, 2014), sedativa (TANKAM; ITO, 2014), anti-inflamatória (OKOYE *et al.*, 2014), hepatoprotetora (AWOGBIDIN *et al.*, 2014), antitumoral (LIN *et al.*, 2014), gastroprotetora (GEGE-ADEBAYO *et al.*, 2013), e hipolipidêmica (EKOY *et al.*, 2014). As atividades antibacteriana e moduladora da resistência à antibióticos utilizando produtos naturais de origem vegetal estão descritas em estudos utilizando diversas partes das plantas: Extrato das folhas (MATIAS *et al.*, 2010a), óleo das folhas (MATASYOH *et al.*, 2007), extrato das folhas e caule (BANKOLE *et al.*, 2012), óleo das partes aéreas (KPOVIESSI *et al.*, 2012) e óleo das folhas, caule e raízes (ADESEGUN *et al.*, 2013).

Os óleos essenciais são misturas complexas extraídas das plantas que possuem diversas propriedades biológicas relacionadas à sua sobrevivência e a defesa (SIANI *et al.*, 2000), entretanto, a constituição química desses produtos varia de acordo com o genótipo da planta, origem geográfica, condições ambientais, estação no ano, método de extração e sua conservação (SUHR e NIELSEN, 2003).

A família Piperaceae compreende 1100 espécies vegetais distribuídas em 12 gêneros, sendo o gênero *Piper* com destacada relevância etnobotânica e etnofarmacológica, e amplamente distribuído em regiões subtropicais e conhecida por suas ervas aromáticas. Conhecida popularmente como “pau-de-angola”, “jaborandi”, “pimenta malagueta”, a espécie *Piper arboreum* está relacionada com diversas atividades biológicas como antifúngica, tripanocida, antibacteriana e antioxidante (DA SILVA *et al.*, 2020).

Staphylococcus aureus, é uma bactéria Gram-positiva, constituinte da microbiota natural da pele e mucosa nasal, considerado um patógeno oportunista, está frequentemente associado a infecções adquiridas na comunidade e no ambiente hospitalar. (LOWY *et al.*, 1998; NAIMI *et al.*, 2003; WEINSTEIN e FRIDKIN, 2001; WANG *et al.*, 2017). *Streptococcus mutans*, um dos diversos fatores etiológicos da cárie dentária, é capaz de colonizar a cavidade oral e também de formar biofilme bacteriano. Propriedades adicionais que permitem ao *S. mutans* colonizar a cavidade oral incluem a capacidade de sobreviver em um ambiente ácido e a interação específica com outros microrganismos que colonizam este ecossistema (WEN *et al.*, 2010; KRZYSCIAK *et al.*, 2014; MATSUMOTO-NAKANO,

2018; LEMOS *et al.*, 2019).

A ruptura mecânica do biofilme com a escovação e a escovação interdental é o melhor método de prevenção atualmente para prevenir e reduzir a inflamação gengival. Esta ação mecânica é insuficiente sem o uso de produtos químicos como dentifrícios (ZAZE *et al.*, 2016; DE MENEZES *et al.*, 2020).

Agentes químicos, como triclosan, lauril sulfato de sódio (SLS) e propilparabeno, e alérgenos como metilisotiazolinona e metilcloroisotiazolinona, bem como clorexidina, têm sido adicionados aos dentifrícios para reforçar sua ação antibacteriana. Esses produtos podem representar um risco para a saúde humana. Algumas dessas substâncias apresentam efeitos colaterais indesejáveis, como alteração do paladar e manchas nos dentes, e persistem dúvidas quanto aos impactos prejudiciais na função endócrina, notadamente, na fertilidade. Alguns fabricantes se afastaram do SLS, clorexidina e triclosan e introduziram outros surfactantes menos irritantes, como éteres de polietilenoglicol não iônicos de ácido esteárico (HERVELLA-GARCÉS *et al.*, 2016; HORTENSE *et al.*, 2017; WAND *et al.*, 2017; FIORILLO, 2019; LI *et al.*, 2019).

Os agentes antimicrobianos presentes nos dentifrícios não conseguem penetrar efetivamente em áreas de difícil acesso na cavidade oral, resultando no acúmulo de bactérias que habitam o biofilme nos espaços interdentais (HALDEN *et al.*, 2017; JACOB e NIVEDHITHA, 2018). Nesse sentido, os enxaguatórios bucais de uso diário são um complemento à escovação para melhorar a saúde bucal (SOUZA *et al.*, 2018; SALIASI *et al.*, 2018; SAFRIDA *et al.*, 2020).

Diante dos argumentos apresentados, a pesquisa realizada teve como objetivo realizar a caracterização química e o potencial microbiológico do óleo essencial de *Piper arboreum*, fornecendo dados que possibilite o desenvolvimento de uma formulação de enxaguatório bucal de baixo custo voltada para comunidades vulneráveis.

2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1 Linhagens Bacterianas

Os microrganismos utilizados nos testes foram fornecidos pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular – LMBM, da Universidade Regional do Cariri – URCA,

sob Coordenação do Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho. Foram utilizadas linhagens padrão de bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC25923 e resistente SA10), *Escherichia coli* (ATCC25922 e resistente EC06) e *Streptococcus mutans* ATCC00446.

2.2 Preparo e padronização de inóculos bacterianos

Culturas de bactérias ficaram mantidas a 4°C em Heart Infusion Agar – HIA. Antes dos testes, as linhagens foram repassadas para o meio HIA e incubadas a 35°C por 24 horas. As linhagens bacterianas ativas foram inoculadas em *Brain Heart Infusion* – BHI na concentração recomendada pelo fabricante, e incubadas nas mesmas condições citadas anteriormente. Suspensões com crescimento bacteriano foram diluídas em BHI em concentração de 10% até a obtenção de 10^5 céls/mL (JAVADPOUR *et al.*, 1996).

2.3 Antibióticos e Soluções Enxaguantes bucais

Digluconato de clorexidina, Gentamicina, ampicilina e penicilina G foram adquiridos da Sigma Chemical Corporation, St. Louis, MO, EUA. Enxaguante bucal comercial (composição: água, glicerina, propilenglicol, sorbitol, pirofosfato de tetrapotássio, polisorbato 20, pirofosfato tetrasódio, citrato de zinco, copolímero PVM/MA, álcool benzílico, fluoreto de sódio [225 ppm de flúor / 0,05%], sacarina sódica, azul ácido 3 [CI 42051]), adquirido em drogaria. Todas as substâncias foram dissolvidas em água esterilizada antes da utilização.

2.4 Preparação do produto natural obtidos de vegetais

2.4.1 Obtenção do óleo essencial

Folhas de *Piper arboreum* Aubl. (P.ar.), foram coletados na primavera do ano de 2019 na Reserva Biológica do Bom Jesus (S25°13.644'/W48°34.985'), município de Guaraqueçaba, PR, Brasil. Os exemplares foram depositados no Herbário do Museu Botânico Municipal - MBM, em Curitiba, PR, Brasil, sob o número 396412 (P.ar.). O material vegetal foi coletado mediante autorização do Sistema de Autorização e Informações sobre Biodiversidade - SISBIO nº 49770-2. Além disso, as informações sobre a espécie foram registradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimentos Tradicionais Associados (SISGEN) sob o número A216E5A.

As folhas foram secas, à sombra, à temperatura ambiente e submetidas à hidrodestilação em aparelho tipo *Clevenger* modificado (GOTTLIEB e MAGALHÃES, 1960)

no Laboratório de Química e Biologia da Universidade Federal do Paraná, Setor Costeiro. Os óleos foram separados dos hidrolatos com diclorometano bidestilado, seco com sulfato de magnésio anidro, filtrado, concentrado em evaporador rotativo, transferido para um frasco de 5 mL e armazenado em geladeira. A porcentagem de extração de rendimento foi determinada pela razão entre a massa de óleo e a massa do material vegetal utilizado (p / p).

2.4.2 *Análise química do óleo essencial*

A análise em GC-FID e GC-MS da amostra do óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa) foram realizadas usando um Shimadzu 14B GC equipado com uma coluna capilar (DB5 Supelco, 30 μm $\times$ 0,25 μm id $\times$ 0,25 μm espessura de filme) e um Perkin-Elmer Clarus 680 equipado com uma coluna capilar (DB5 Perkin Elmer, 30 μm $\times$ 0,25 μm id $\times$ 0,25 μm espessura de filme) acoplada a um Perkin-Elmer Clarus 600T, respectivamente.

No GC-FID, foram utilizadas as seguintes condições analíticas: o injetor e o detector operavam a 250 °C e 280 °C, respectivamente. Gás transportador hélio, taxa de fluxo de 1 mL min⁻¹, injeção de amostra de 0,4 μL no modo dividido (1:20). A temperatura do forno foi programada de 60 °C (0 minutos) a 240 °C em gradiente de 3 °C min⁻¹, sendo mantida nesta temperatura por 2 min, dando uma análise de comprimento total de 62 min. No GC-MS, foram utilizadas as seguintes condições analíticas: injeção de amostra (1,0 μL), gás carreador hélio, taxa de fluxo 1 mL min⁻¹, modo dividido (1:20), temperatura do injetor 220 °C, fonte de íons a 250 °C e transferência de linha a 240 °C. O detector seletivo de massa foi ajustado para 70 eV e faixa de massa de 40-400 amu. A temperatura do forno foi programada de 60 °C (0 minutos) a 246 °C em gradiente de 3 °C min⁻¹, dando uma análise de comprimento total de 62 min.

A identificação dos componentes foi feita por pesquisa em biblioteca de computador com base no pareamento de espectros de MS (NIST 2008), comparação com dados da literatura (ADAMS, 2007) e índices aritméticos experimentais (AI) (VAN DEN DOOL e KRATZ, 1963), que foram calculados usando uma série homóloga de alcanos lineares analisados sob as mesmas condições do detector de ionização por chama GC (FID) descrito anteriormente. A quantificação de componentes foi baseada em suas áreas de picos de GC sem correção para fatores de resposta.

2.5 Realização de ensaios antibacterianos.

2.5.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) *in vitro* por contato direto

Os ensaios para determinação da CIM do óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa) [1024 µg/mL], antibióticos (Ampicilina, Gentamicina, Penicilina G) [1000 µg/mL], Clorexidina (CLX) [0,06%], e enxaguante bucal comercial [100%] foram efetuados através do Método de Microdiluição em Caldo, com concentrações que variaram [$C_{inicial}/2$] a [$C_{inicial}/11$]. As suspensões bacterianas foram diluídas 1:10 em Caldo BHI para obtenção da concentração final de 10^5 cels/mL (SADER *et al.*, 2003). As amostras de produtos de teste foram preparadas em concentração dobrada, onde as concentrações iniciais ($C_{inicial}$) foram: EOPa [1024 µg/mL], antibióticos [1000 µg/ml], Clorexidina (CLX) [0,06%], e enxaguante bucal comercial (EN) [100%] em relação a concentração inicial e volumes de 100µL serão diluídos seriadamente 1:1 em caldo BHI 10%. Em cada cavidade com 100µL do meio de cultura uma amostra suspensão bacteriana diluída 1:10. Controles negativos com o meio de cultura, controles positivos (meio + inóculo) e controles de inibição utilizando os produtos testados foram incluídos nos ensaios. As placas preenchidas serão incubadas a 35°C por 24 horas (JAVADPOUR *et al.*, 1996). Para evidenciar a CIM das amostras, foi utilizada uma solução indicadora de resazurina sódica (Sigma) em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v). Após a incubação, 20µL da solução indicadora foram adicionados em cada cavidade e as placas foram incubadas por 1 hora em temperatura ambiente. A mudança de coloração azul para rosa devido a redução da resazurina indicara o crescimento bacteriano (PALOMINO *et al.*, 2002), auxiliando a visualização da CIM, definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano, evidenciado pela cor azul inalterada.

2.5.2 Atividade moduladora da ação antibiótica *in vitro* por contato direto

Para avaliar o óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa) como modulador da ação antibacteriana dos antibióticos (Ampicilina, Gentamicina, Penicilina G) [1000 µg/mL], clorexidina (CLX) [0,06%] e enxaguante bucal comercial (EN) 100%, a CIM foram avaliadas na presença e na ausência do EOPa em microplacas de 96 poços estéreis.

EOPa foi misturado em caldo BHI 10% em concentrações subinibitórias (CIM/8). As soluções de antibióticos foram preparadas com água destilada estéril em concentração dobrada (1000 µg/mL) em relação a concentração inicial definida e volumes de 100 µL serão diluídos seriadamente 1:1 em caldo BHI 10%. Em cada cavidade com 100 µL do meio de

cultura contem a suspensão bacteriana diluída (1:10). Os mesmos controles utilizados na avaliação da CIM para os produtos de teste foram utilizados (SATO *et al.*, 2004, modificado). As placas preenchidas serão incubadas a 35°C por 24 horas e a leitura foi evidenciada pelo uso de resazurina sódica como citado anteriormente.

2.5.3 *Análise estatística dos ensaios microbiológicos*

Os resultados da CIM obtidos em triplicata nos testes de modulação da resistência bacteriana serão tabulados em planilha utilizando software Microsoft Excel 2010, e aplicando a fórmula de média geométrica e cálculo do desvio obtendo dados paramétricos e possíveis de submissão a análise estatística e teste de significância.

Para a análise estatística os dados expressos pela média geométrica $\pm$ erro padrão da média (EPM) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de significância Bonferroni, considerando diferença significativa quando $p < 0,001$, utilizando o software *GraphPad Prisma* 5.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisas e investigações para identificação e desenvolvimento de novos medicamentos derivados de produtos naturais tem intensificou-se nos últimos anos, onde estudos relataram que drogas de 225 fontes naturais estavam no fase de desenvolvimento, e destes, cerca de 80% foram extraídas de plantas (THOMFORD *et al.*, 2018; LIANG *et al.*, 2019). A busca por medicamentos e genes da natureza tem sido promovido como um uso não destrutivo de habitats, que promovem a saúde humana, bem como apoiam desenvolvimento econômico e conservação (FERREIRA *et al.*, 2011).

Após análise em GC-FID e GC-MS da amostra do óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa), foram identificados 20 constituintes químicos, que corresponderam a 67,53% da composição total da amostra, conforme representado na Tabela 1. Ainda com base nesta análise química, Caryophyllene oxide (No. 18) foi o composto majoritário, com 30,50%, seguido pelo Myristicin (No. 14), Spathulenol (No. 17), *E*-Caryophyllene (No. 5) e Humulene Epoxide II (No. 19), com 7%, 6,20%, 5,10% e 5,10%, respectivamente.

Tabela 1: Composição química do óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa).

No.	Constituinte	TR (min)			EOPa [%]
		CG-MS (EOPa)	IA _{exp}	IA _{lit}	
1	Linalool	11,34	1097	1095	0,50
2	δ-Elemene	21,19	1331	1335	1,00
3	α-Copaene	22,86	1372	1374	2,00
4	β-Elemene	23,44	1386	1389	0,93
5	<i>E</i> -Caryophyllene	24,65	1417	1389	5,10
6	α-Humulene	26,08	1452	1452	0,96
7	Germacrene D	27,13	1478	1484	1,20
8	β-Selinene (1489)	27,44	1486	1484	1,52
9	γ-Amorphene	27,72	1492	1495	0,60
10	α-Muurolene	27,86	1495	1495	0,50
11	α-Bulnesene	27,97	1498	1500	0,55
12	δ-Amorphene	-	1515	1509	-
13	<i>trans</i> -Calamenene	-	1517	1511	-
14	Myristicin	28,71	1518	1517	7,00
15	Elemol	29,81	1549	1548	2,00
16	<i>E</i> -Nerolidol	-	1556	1561	-
17	Spathulenol	30,88	1577	1577	6,20
18	Caryophyllene oxide	31,08	1582	1582	30,50
19	Humulene Epoxide II	32,08	1608	1608	5,10
20	1,10-Di- <i>epi</i> -Cubenol	32,34	1613	1618	1,87
Total caracterizado					67,53

IA_{exp}: Índice de retenção aritmético experimental; IA_{lit}: Índice de retenção aritmético da literatura (ADAMS, 2007); *tr*: traços (<0,1%); 1: identificado somente por CG-MS.

O caryophyllene oxide, assim como os sesquiterpenos derivados: Spathulenol, *E*-caryophyllene e Humulene Epoxide II, encontrado em diferentes amostras de óleos essenciais de diversos vegetais, tem demonstrado a capacidade de modular diversas atividades farmacológicas, ampliando seu efeito. Entre estas atividades podemos relacionar: antiproliferativo, anti-inflamatório e antibacteriano (AMBROŽ *et al.*, 2019; ABD-ELGAWAD *et al.*, 2021).

A substância myristicin foi identificada pela primeira vez na semente da noz-moscada (*Myristica fragrans*) e foi descrito nas colônias francesas em meados do século 18, nas ilhas Maluku. Além da alta concentração nessa semente, a myristicin também pode ser encontrada na canela, na salsa, em alguns tipos de pimenta e em outros temperos nativos da Ásia. A noz-moscada era usada desde antiguidade para tratar ansiedade, cólicas estomacais, náuseas e diarreia. Além disso, tem sido descrita como conservante de alimentos, por apresentar atividades antimicrobianas, são relacionadas as atividade: antioxidante, anti-inflamatório, analgésica, antiproliferativa, inseticida e larvicida. Porém, quando usada em quantidades muito elevadas, a myristicin pode ter efeitos tóxicos, levando à degeneração do fígado e confusão mental, pois é tóxica para o sistema nervoso central (SENEME *et al.*, 2021).

Quando avaliado o potencial antibacteriana do óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa), com a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), o EOPa apresentou $CIM \geq 1024 \mu\text{g/mL}$ para todas as linhagens bacterianas utilizadas nos testes.

Os resultados deste estudo indicaram que o EOPa, não tem atividade antibacteriana de relevância clínica. No entanto, outros estudos demonstraram que embora um produto ou substância natural não apresente potencial antibacteriano, pode ser um modulador da resistência bacteriana quando combinado com antibióticos, melhorando seu efeito (MATIAS *et al.*, 2016).

Os resultados referentes a atividade moduladora da resistência bacteriana, foram organizados e demonstrados em 5 figuras, assim facilitar a compreensão da combinação do EOPa com clorexidina, enxaguante bucal, ampicilina, gentamicina e penicilina G.

EOPa quando combinado com clorexidina, observou que a clorexidina apresentou redução de 50% da CIM frente as linhagens bacterianas *S. aureus* SA10 e *E. coli* EC06, enquanto frente a *S. mutans* ATCC00446 a redução da CIM de clorexidina foi 75,1%, indicando efeito sinérgico nas situações avaliadas, conforme demonstrado na figura 1.

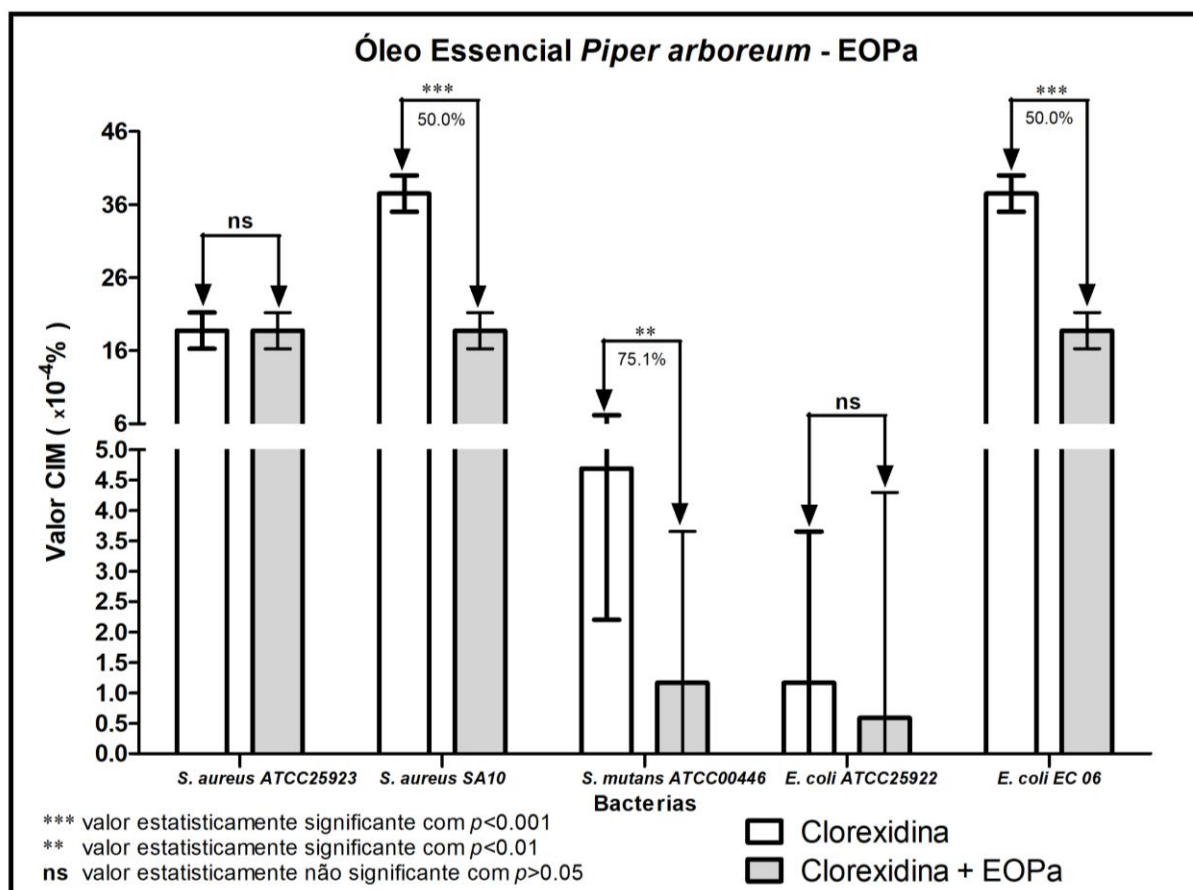


Figura 1 – Avaliação da atividade moduladora da combinação do Óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa) com Clorexidina frente linhagens bacterianas Gram positiva e Gram negativa.

Na figura 2 foi representado o resultado da combinação do EOPa com enxaguante bucal, observando que o enxaguante bucal apresentou redução de 50% da CIM frente as linhagens bacterianas *S. mutans* ATCC00446, *E. coli* ATCC25922, e *E. coli* EC06, enquanto frente a *S. aureus* SA10 a redução da CIM do enxaguante bucal foi 37%, indicando efeito sinérgico da combinação relatada.

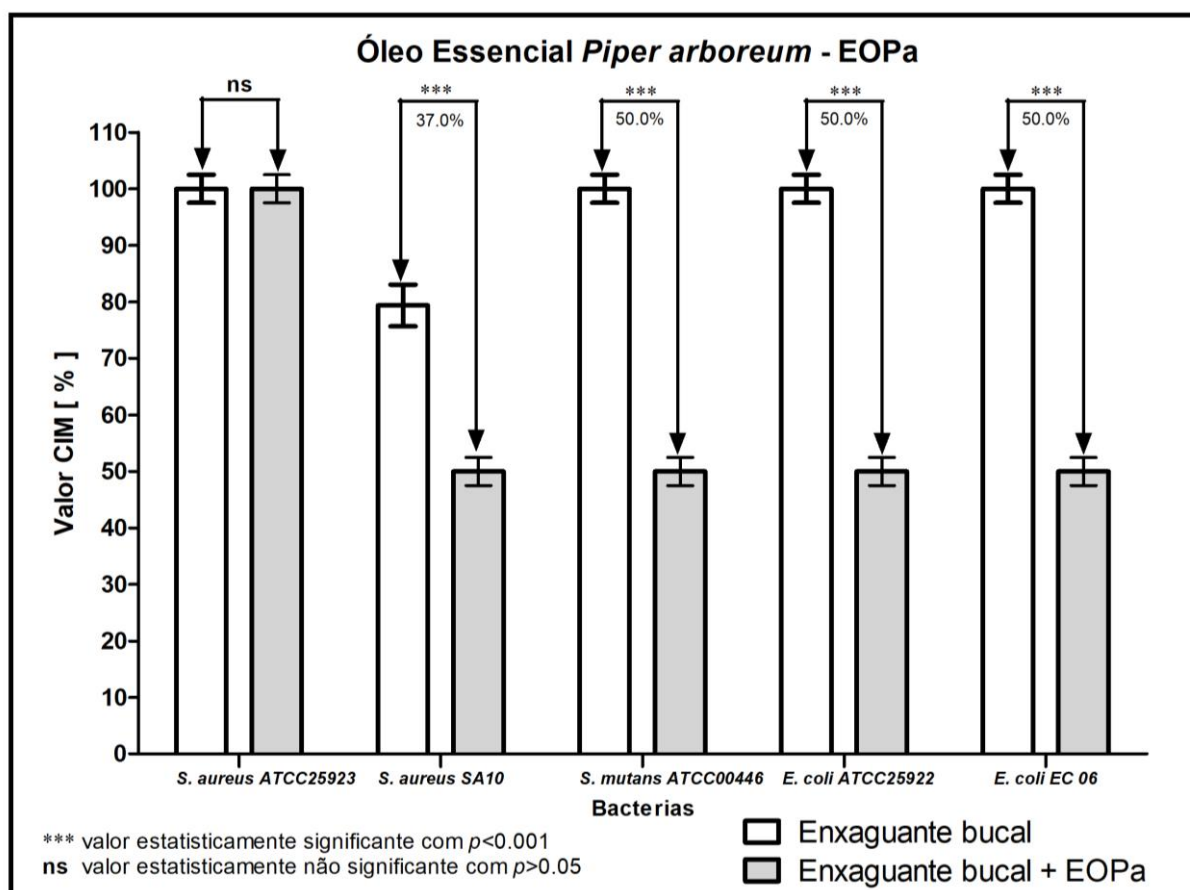


Figura 2 – Avaliação da atividade moduladora da combinação do Óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa) com Enxaguante bucal frente linhagens bacterianas Gram positiva e Gram negativa.

Na figura 3 foi representado o resultado da combinação do EOPa com ampicilina, e foi observado redução de 50% da CIM deste antibiótico frente as linhagens bacterianas de *S. aureus* SA10, *S. mutans* ATCC00446, *E. coli* ATCC25922, e *E. coli* EC06, indicando efeito sinérgico desta combinação de produtos.

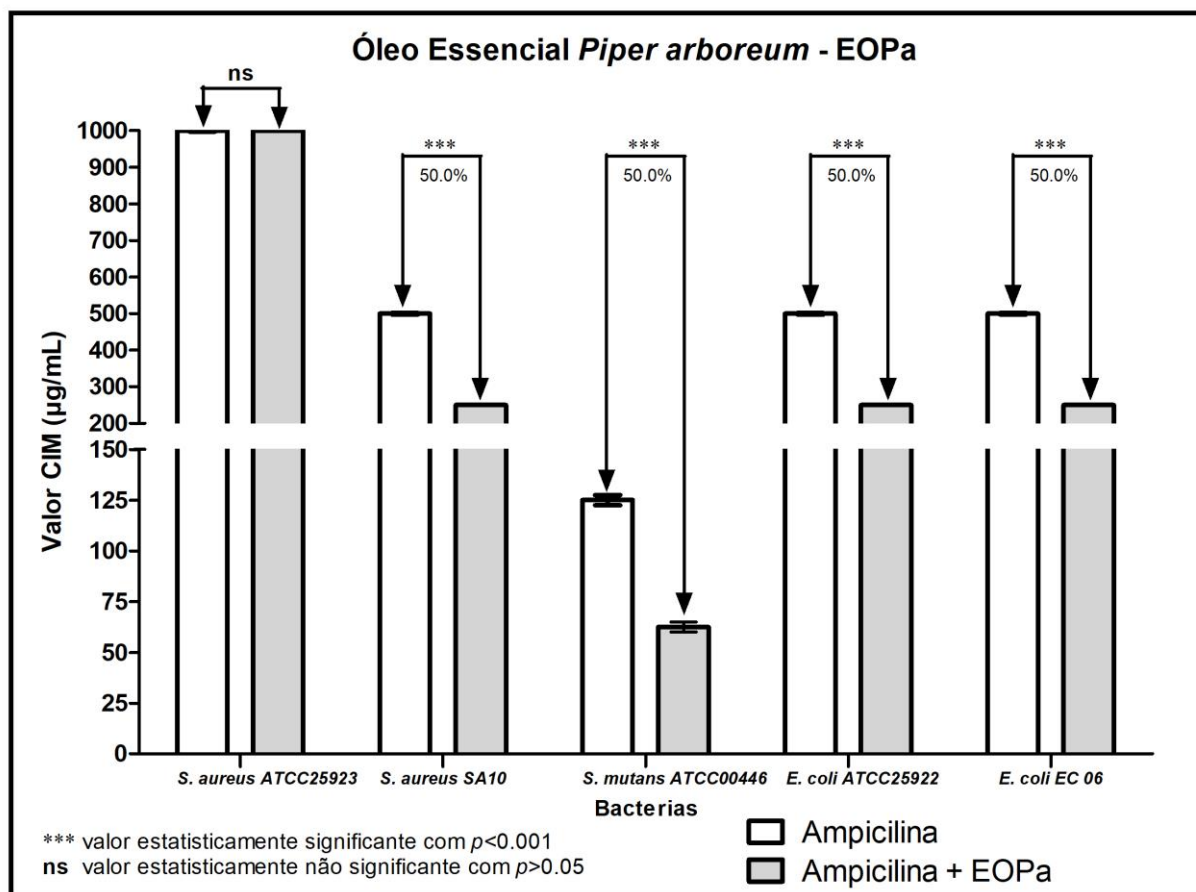


Figura 3 – Avaliação da atividade moduladora da combinação do Óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa) com Ampicilina frente linhagens bacterianas Gram positiva e Gram negativa.

Quando testada a combinação do EOPa com gentamicina, o resultado observado foi redução de 68,5% da CIM deste antibiótico frente apenas a linhagem bacteriana de *S. aureus* SA10, indicando efeito sinérgico da combinação, de acordo com apresentado na figura 4.

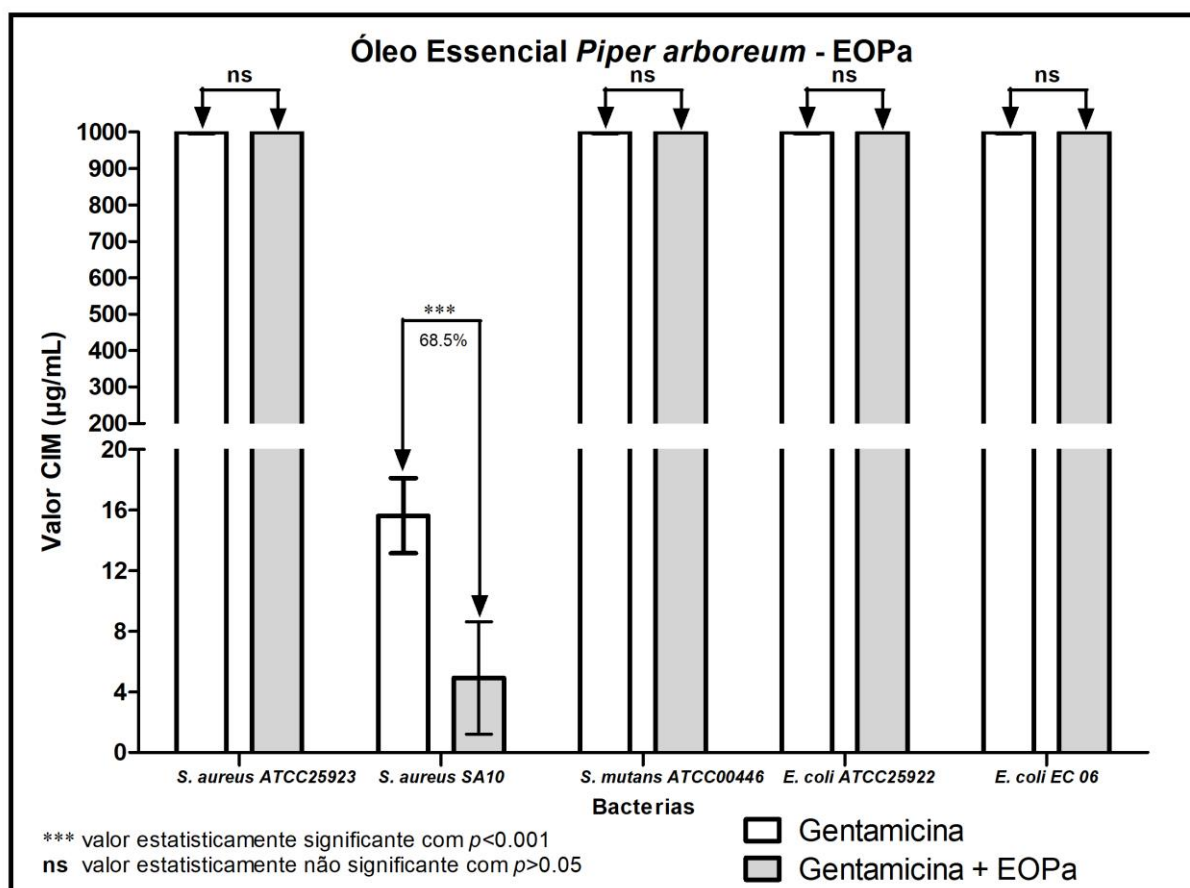


Figura 4 – Avaliação da atividade moduladora da combinação do Óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa) com Gentamicina frente linhagens bacterianas Gram positiva e Gram negativa.

Na figura 5 foi representado o resultado da combinação do EOPa com penicilina G, e foi observado redução de 87,5% e 75% da CIM para este antibiótico frente as linhagens bacterianas de *S. aureus* SA10 e *S. mutans* ATCC00446, respectivamente, indicando efeito sinérgico na combinação informada.

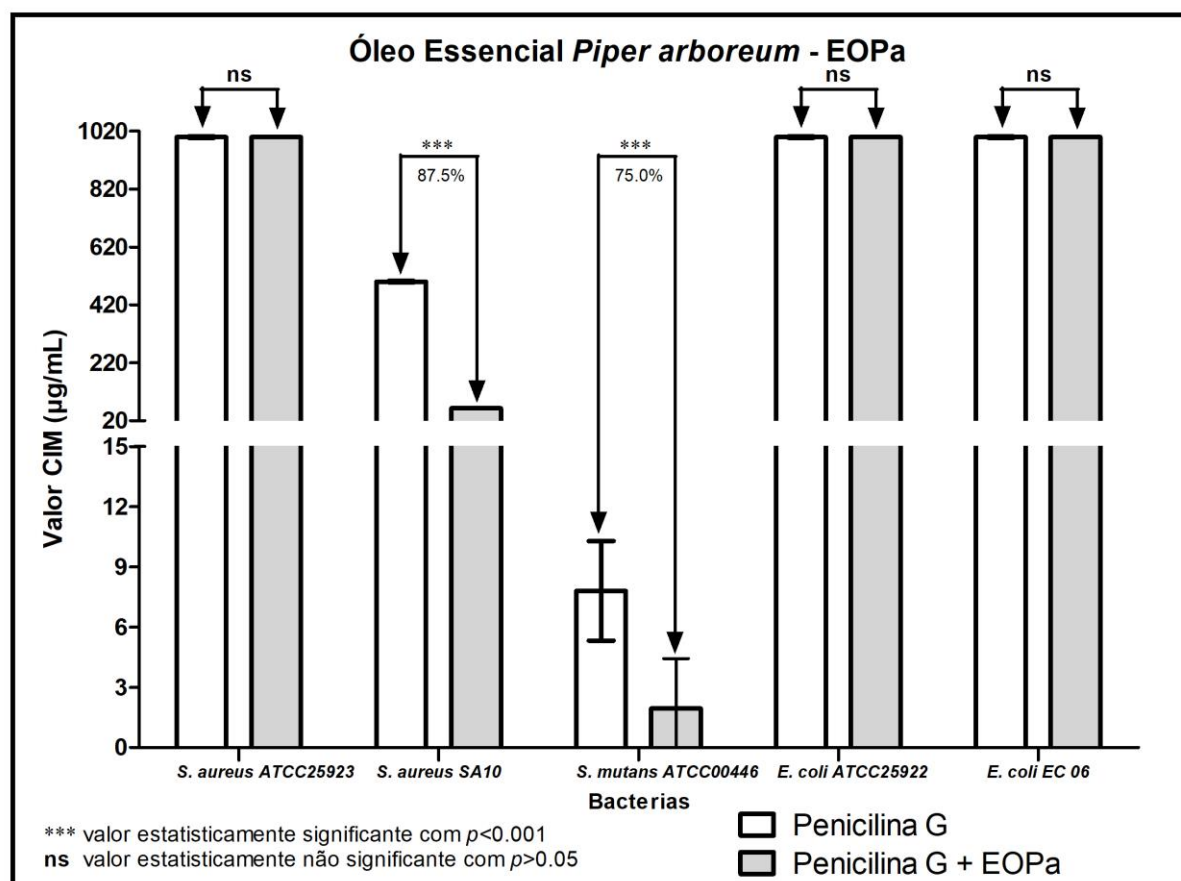


Figura 5 – Avaliação da atividade moduladora da combinação do Óleo essencial de *Piper arboreum* (EOPa) com Penicilina G frente linhagens bacterianas Gram positiva e Gram negativa.

O EOPa testado mostrou atividade modificadora de antibióticos, clorexidina e enxaguante bucal, onde o óleo essencial de *Piper arborium* apresentou os melhores resultados quando combinado e reduzindo a CIM das substâncias. Isso pode ter ocorrido devido ao fato de que o óleo é uma mistura complexa de vários compostos em quantidades variáveis, permitindo que o óleo atue em diferentes alvos (FREITAS *et al.*, 2020).

Vários compostos químicos (sintéticos ou natural) têm atividade antibacteriana direta contra muitas espécies e/ou pode expandir a atividade de um antibiótico, revertendo a resistência natural das bactérias a antibacterianos específicos, causando a inibição de proteínas de efluxo de antibióticos através da membrana plasmática e/ou eliminação de plasmídeos. Potencialização da atividade antibiótica ou reversão da resistência aos

antibióticos permitem a classificação destes compostos como modificadores da atividade antibiótica (ARRIAGA *et al.*, 2017; UDO e BOSWIHI, 2017).

O potencial modulador da atividade antibacteriana pode ser explicado por uma estratégia conhecida como “herbal-shotgun” ou “múltiplos alvos de efeitos múltiplos” devido ao fato de que os produtos naturais de origem vegetal apresentam constituição diversificada quimicamente, podendo atuar sobre os lipopolissacarídeos (LPS) e as bombas de efluxo reduzem a vulnerabilidade a drogas antimicrobianas (CARVALHO *et al.*, 2019).

4. CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados, a composição química do óleo essencial obtido da folhas de *Piper arboreum* contém substâncias pertencentes a classes químicas com atividade biológica comprovada, porém a atividade antibacteriana do EOPa não apresentou resultado clinicamente relevante, entretanto quando combinado o EOPa com clorexidina, enxaguante bucal e os antibiótico (ampicilina, gentamicina e penicilina G) para avaliar sua influência na resistência bacteriana, o óleo demonstrou atividade sinérgica significativa, reduzindo a CIM dos produtos testados de 37% a 87,5%. Portanto, recomendamos ampliação dos testes com maior variação de combinações de concentração do EOPa e os produtos utilizados neste estudo, bem como avaliação de toxicidade e ensaios *in vivo*, com objetivo de desenvolvimento de uma possível formulação de enxaguatório bucal de baixo custo e acessível a população mais vulnerável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD-ELGAWAD, A. M.; EL GENDY, A. E. G.; ASSAEED, A. M.; AL-ROWAILY, S. L.; ALHARTHI, A. S.; MOHAMED, T. A.; NASSAR, M. I.; DEWIR, Y. H.; ELSHAMY, E. I. Phytotoxic effects of plant essential oils: A systematic review and structure-activity relationship based on chemometric analyses. **Plants**, v. 10, n. 1, p. 36, 2021.
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Allured publishing corporation, 2007. ISBN 1932633219.
- ADESEGUN, A. S.; SAMUEL, F. O.; ANTHONY, O. B.; NURUDEEN, O. A. Antioxidant and Inhibitory Properties of Essential Oil of *Ocimum Gratissimum* Against Extracellular Protease of *Escherichia Coli*. **Lors Journal of Pharmacy**, v. 3, p. 50-55, 2013.
- AKPAN, O. U.; BASSEY, R. B.; AGBA, B. S.; EDEGHA, I. A. Elevation of serum pancreatic amylase and distortion of pancreatic cyto-architecture in type 1 *diabetes mellitus* rats treated with *Ocimum gratissimum*. **Nigerian medical journal: journal of the Nigeria**

Medical Association, v. 55, n. 1, p. 34, 2014.

AMBROŽ, M.; SMATOVÁ, M.; SADIBOLOVÁ, M.; POSPÍŠILOVÁ, E.; HADRAVSKÁ, P.; KAŠPAROVÁ, M.; SKARKOVÁ, V. H.; KRÁLOVÁ, V.; KRÁLOVÁ, L.

Sesquiterpenes α -humulene and β -caryophyllene oxide enhance the efficacy of 5-fluorouracil and oxaliplatin in colon cancer cells. **Acta Pharmaceutica**, v. 69, n. 1, p. 121-128, 2019.

ARRIAGA, A. C.; DA SILVA, F. L.; TEXEIRA, M. S.; PEREIRA, I. G.; DA SILVA, M. R.; MAFEZOLI, J.; SANTIAGO, G. M. P.; VASCONCELOS, J. N. E.; BRAZ-FILHO, R.; COSTA, J. G. M.; MATIAS, E. F. F.; RODRIGUES, F. G. Chemical Compounds and Antibacterial Activity of *Tephrosia toxicaria* Pers. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 33, n. 5, p. 2173-2178, 2017.

AWOGBIDIN, I.; TADE, O.; METIBENU, S.; OLORUNSOGO, O.; FAROMBI, E. Assessment of Flavonoid content, free radical scavenging and hepatoprotective activities of *Ocimum gratissimum*, *Spondias mombin* in rats treated with Dimethylnitrosamine. **Archives of Basic and Applied Medicine**, v. 2, n. 1, p. 45-54, 2014.

BANKOLE, H.; ANJORIN, A.; KAZEEM, M.; OGBECHE, M.; AGBAFOR, U. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* and *Gongronema latifolium* on *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. **East African Journal of Science and Technology**, v. 2, n. 2, p. 114-128, 2012.

CARVALHO, A. B. L. D.; CRUZ, C. A.; FREITAS, C. L. A. D.; AGUIAR, J. J. D. S.; NUNES, P. L. W. D. S.; LIMA, V. M. D. S.; MATIAS, E. F. F.; MUNIZ, D. F.; COUTINHO, H. D. M. Chemical Profile, Antibacterial Activity and Antibiotic-Modulating Effect of the Hexanic *Zea Mays* L. Silk Extract (Poaceae). **Antibiotics**, v. 8, n. 1, p. 22, 2019.

DA SILVA, A. C. A.; MATIAS, E. F. F.; ROCHA, J. E.; DE ARAÚJO, A. C. J.; DE FREITAS, T. S.; CAMPINA, F. F.; COSTA, M. S.; SILVA, L. E.; AMARAL, W.; MAIA, B. H. L. N. S.; FERRIANI, A. P.; BEZERRA, C. F.; IRTI, M.; COUTINHO, H. D. M. Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) characterization and evaluation of antibacterial bioactivities of the essential oils from *Piper arboreum* Aubl., *Piper aduncum* L. e *Piper gaudichaudianum* Kunth. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 76, n. 1-2, p. 35-42, 2021.

DE MENEZES, M. L. F. V.; DE MACEDO, Y. V. G.; FERRAZ, N. M. P.; DE FREITAS MATOS, K.; PEREIRA, R. O.; FONTES, N. M.; PAULINO, M. R. A importância do controle do biofilme dentário: uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 55, p. e3698-e3698, 2020.

VAN DEN DOOL, H; KRATZ, P. Dec. **A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography**. 1963.

EKO, S.; AKUBUGWO, E.; UDE, V.; EDWIN, N. Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effect of spices (*Thymus vulgaris*, *Murraya koenigii*, *Ocimum gratissimum*

and *Piper guineense*) in alloxan-induced diabetic rats. **International Journal of Biosciences (IJB)**, v. 4, n. 2, p. 179-187, 2014.

FERREIRA, F. S.; SILVA, N. L.; MATIAS, E. F. F.; BRITO, S. V.; OLIVEIRA, F. G.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; ALMEIDA, W. O.; ALVES, R. R. N. Potentiation of aminoglycoside antibiotic activity using the body fat from the snake *Boa constrictor*. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 21, n. 3, p. 503-509, 2011.

FIORILLO, Luca. Chlorhexidine gel use in the oral district: A systematic review. **Gels**, v. 5, n. 2, p. 31, 2019.

FREITAS, C. L. A.; SANTOS, F. F. P.; DANTAS-JUNIOR, O. M.; INÁCIO, V. V.; MATIAS, E. F. F.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; AGUIAR, J. J. S.; COUTINHO, H. D. M. Enhancement of antibiotic activity by phytocompounds of *Turnera subulata*. **Natural product research**, v. 34, n. 16, p. 2384-2388, 2020.

GEGE-ADEBAYO, G.; IGBOKWE, V.; SHAFE, M.; AKINTAYO, C.; MBAKA, D. Anti-ulcer effect of *Ocimum gratissimum* on indomethacin induced ulcer and percentage of superoxide dismutase on wistar rats. **J Med Medical Sci**, v. 4, n. 1, p. 8-12, 2013.

GOTTLIEB, O. R.; MAGALHÃES, M. T. Essential oil of the bark and wood of *Aniba canellila*. **Perfumery and essential oil record**, v. 51, p. 69-70, 1960.

HALDEN, R. U.; LINDEMAN, A. E.; AIELLO, A. E.; ANDREWS, D.; ARNOLD, W. A.; FAIR, P.; MCNEILL, K. The Florence statement on triclosan and triclocarban. **Environmental health perspectives**, v. 125, n. 6, p. 064501, 2017.

HERVELLA-GARCÉS, M.; GARCÍA-GAVÍN, J.; SILVESTRE-SALVADOR, J. F. Actualización de la serie estándar española de pruebas alérgicas de contacto por el Grupo Español de Investigación en Dermatitis de Contacto y Alergia Cutánea (GEIDAC) para 2016. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, v. 107, n. 7, p. 559-566, 2016.

HORTENSE, S. R.; DA SILVA CARVALHO, É.; DE CARVALHO, F. S.; DA SILVA, R. P. R.; DE MAGALHÃES BASTOS, J. R.; DA SILVA BASTOS, R. Uso da clorexidina como agente preventivo e terapêutico na odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 22, n. 2, p. 178-184, 2017.

JACOB, B.; NIVEDHITHA, M. S. Comparative Assessment of the Antibacterial Efficacy of Natural Products and Chlorhexidine Mouthwash against *Streptococcus Mutans*: A Systematic Review. **Journal of Clinical & Diagnostic Research**, v. 12, n. 12, 2018.

JAVADPOUR, M. M.; JUBAN, M. M.; LO, W. C. J.; BISHOP, S. M.; ALBERTY, J. B.; COWELL, S. M.; BECKER, C. L.; MCLAUGHLIN, M. L. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of medicinal chemistry**, v. 39, n. 16, p. 3107-3113, 1996.

KPOVIESSI, K.; BÉNÉDICTA, G.; LADEKAN, E. Y.; KPOVIESSI, D.; GBAGUIDI, F.; YEHOUENOU, B.; QUETIN-LECLERCQ, J.; FIGUEREDO, G.; MOUDACHIROU, M.; ACCROMBESSI, G. C. Chemical Variation of Essential Oil Constituents of *Ocimum gratissimum* L. from Benin, and Impact on Antimicrobial Properties and Toxicity against *Artemia salina* Leach. *Chemistry & biodiversity*, v. 9, n. 1, p. 139-150, 2012.

KRZYŚCIAK, W.; JURCZAK, A.; KOŚCIELNIAK, D.; BYSTROWSKA, B.; SKALNIAK, A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 33, n. 4, p. 499-515, 2014.

LEMOES, J. A.; PALMER, S. R.; ZENG, L.; WEN, Z. T.; KAJFASZ, J. K.; FREIRES, I. A.; BRADY, L. J. The biology of *Streptococcus mutans*. *Gram-Positive Pathogens*, p. 435-448, 2019.

LI, Y.; ZHANG, H.; CHEN, Y.; HUANG, L.; LIN, Z.; CAI, Z. Core-shell structured magnetic covalent organic framework nanocomposites for triclosan and triclocarban adsorption. **ACS applied materials & interfaces**, v. 11, n. 25, p. 22492-22500, 2019.

LIANG, X.; LUO, D.; LUESCH, H. Advances in exploring the therapeutic potential of marine natural products. **Pharmacological research**, v. 147, p. 104373, 2019.

LOWY, A.; OJO, R.; STEGEMAN, A.; VELLACOTT, I. Meeting women's need for a flexible abortion service: retrospective study of a specialist day-care unit. **Journal of public health medicine**, v. 20, n. 4, p. 449-54, 1998.

MATASYOH, L. G.; MATASYOH, J. C.; WACHIRA, F. N.; KINYUA, M. G.; MUIGAI, A. W. T.; MUKIAMA, T. K. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. growing in Eastern Kenya. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 6, 2007.

MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; ALMEIDA, T. S.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Enhancement of antibiotic activity by *Cordia verbenacea* DC. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 1, p. 1049-1052, 2010b.

MATIAS, Edinardo FF et al. Seasonal variation, chemical composition and biological activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC (Boraginaceae) and the sabinene. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 45-53, 2016.

MATSUMOTO-NAKANO, M. Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. **Japanese Dental Science Review**, v. 54, n. 1, p. 22-29, 2018.

NAIMI, T. S.; LEDELL, K. H.; COMO-SABETTI, K.; BORCHARDT, S. M.; BOXRUD, D. J.; ETIENNE, J.; JOHNSON, S. K.; VANDENESCH, F.; FRIDKIN, S.; O'BOYLE, C. Comparison of community-and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. **JAMA: the journal of the American Medical Association**, v. 290, n. 22, p. 2976-2984, 2003.

OJO, O. A.; OLOYEDE, O.; TUGBOBO, O.; OLAREWAJU, O.; OJO, A. Antioxidant and Inhibitory Effect of Scent Leaf (*Ocimum gratissimum*) on Fe^{2+} and Sodium Nitroprusside Induced Lipid Peroxidation in Rat Brain In vitro. **Advances in Biological Research**, v. 8, n. 1, p. 08-17, 2014.

OKOYE, F. B.; OBONGA, W. O.; ONYEGBULE, F. A.; NDU, O. O.; IHEKWEREME, C. P. Chemical composition and anti-inflammatory activity of essential oils from the leaves of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. (LAMIACEAE). **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 6, p. 2174, 2014.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

SAFRIDA, S.; KHAIRIL, K.; ARTIKA, W.; RINALDI, R. *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaf extract prepared by nanoemulsion technique as a natural mouthwash. *JPhCS*, v. 1460, n. 1, p. 012050, 2020.

SALIASI, I.; LLODRA, J. C.; BRAVO, M.; TRAMINI, P.; DUSSART, C.; VIENNOT, S.; CARROUEL, F. Effect of a Toothpaste/Mouthwash Containing *Carica papaya* Leaf Extract on Interdental Gingival Bleeding: A Randomized Controlled Trial. **International journal of environmental research and public health**, v. 15, n. 12, p. 2660, 2018.

SADER, H. S.; BIEDENBACH, D. J.; JONES, R. N. Global patterns of susceptibility for 21 commonly utilized antimicrobial agents tested against 48,440 Enterobacteriaceae in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 47, n. 1, p. 361-364, 2003.

SENEME, E. F.; DOS SANTOS, D. C.; SILVA, E. M. R.; FRANCO, Y. E. M.; LONGATO, G. B. Pharmacological and Therapeutic Potential of Myristicin: A Literature Review. **Molecules**, v. 26, n. 19, p. 5914, 2021.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, A.; SOUZA, M. D.; HENRIQUES, M.; RAMOS, M. D. S. Óleos essenciais: potencial antiinflamatório. **Biotecnologia: Ciência e desenvolvimento**, v. 16, p. 38-43, 2000.

SOUZA, E. E. D.; VASCONCELOS, E. D. C. Z.; OLIVEIRA, A. P. R. D.; DUARTE, J. C. G.; IBANÊS, A. S.; BARBOSA, V. L. D. B.; ABOUD, C. S. Banho com toalhas antissépticas com clorexidina 2% em pacientes críticos: há impacto na redução de infecção primária da corrente sanguínea? **Journal of Infection Control**, p. 107-108, 2018.

SUHR, K. I.; NIELSEN, P. V. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. **Journal of applied microbiology**, v. 94, n. 4, p. 665-674, 2003.

TANKAM, J. M.; ITO, M. Sedative, anxiolytic and antidepressant-like effects of inhalation of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. from Cameroon in mice. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 5, p. 1-9, 2014.

THOMFORD, N. E.; SENTHEBANE, D. A.; ROWE, A.; MUNRO, D.; SEELE, P.; MAROYI, A.; DZOBO, K. Natural products for drug discovery in the 21st century: innovations for novel drug discovery. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 6, p. 1578, 2018.

UDO, E. E.; BOSWIHI, S. S. Antibiotic Resistance Trends in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated in Kuwait Hospitals: 2011-2015. Medical principles and practice: **international journal of the Kuwait University**, Health Science Centre, v. 26, n. 5, p. 485-490, 2017.

VENUPRASAD, M.; KANDIKATTU, H. K.; RAZACK, S.; KHANUM, F. Phytochemical analysis of *Ocimum gratissimum* by LC-ESI-MS/MS and its antioxidant and anxiolytic effects. **South African Journal of Botany**, v. 92, p. 151-158, 2014.

WAND, M. E.; BOCK, L. J.; BONNEY, L. C.; SUTTON, J. M. Mechanisms of increased resistance to chlorhexidine and cross-resistance to colistin following exposure of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates to chlorhexidine. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, n. 1, 2017.

WANG, W.; BALOCH, Z.; JIANG, T.; ZHANG, C.; PENG, Z.; LI, F.; FANNING, S.; MA, A.; XU, J. Enterotoxigenicity and Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated from Retail Food in China. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2256, 2017.

WEINSTEIN, R. A.; FRIDKIN, S. K. Vancomycin-intermediate and-resistant *Staphylococcus aureus*: what the infectious disease specialist needs to know. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 1, p. 108-115, 2001.

WEN, Z. T.; YATES, D.; AHN, S. J.; BURNE, R. A. Biofilm formation and virulence expression by *Streptococcus mutans* are altered when grown in dual-species model. **BMC microbiology**, v. 10, n. 1, p. 111, 2010.

ZAZE, A. C. S. F.; DE OLIVEIRA, E. R.; DA SILVA, M. D. J. A.; ALVES, E. Eficácia de diferentes tipos de escovas dentais na remoção do biofilme bucal. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 20, n. 2, 2016.

