



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIVERSIDADE BIOLÓGICA
E RECURSOS NATURAIS - PPGDR

ANÁLISE QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE
***Syzygium cumini* (L.) SKEELS E *Syzygium malaccense* (L.)**
MERR. & L. M. PERRY

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DIÊGO DE SÁ LIMA

CRATO-CE

2020

DIÊGO DE SÁ LIMA

**ANÁLISE QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *Syzygium cumini* (L.)
SKEELS E *Syzygium malaccense* (L.) MERR. & L. M. PERRY**

Dissertação apresentada à Universidade Regional do Cariri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais, área de concentração em Biodiversidade, para obtenção do título de mestre.

Profa. Dra. Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues
Orientador(a)

Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa
Coorientador(a)

CRATO-CE

2020

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Regional do Cariri – URCA
Bibliotecária: Ana Paula Saraiva de Sousa CRB: 3/1000

Lima, Diêgo de Sá.
L731a Análise química e atividades biológicas de *Syzygium cumini* (L.) SKEELS e *Syzygium malaccense* (L.) MERR. & L. M. PERRY/ Diêgo de Sá Lima. – Crato – CE, 2020.
79p.; il.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais da Universidade Regional do Cariri – URCA. Área de concentração: Biodiversidade
Orientadora: Prof.^a. Dra. Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues
Coorientador: Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa

1. Atividade antioxidante, 2. Atividade antimicrobiana, 3. Fitoconstituintes, 4. Myrtaceae, 5. Toxicidade; I. Título.

CDD: 615.32

DIÊGO DE SÁ LIMA

**ANÁLISE QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *Syzygium cumini* (L.)
SKEELS E *Syzygium malaccense* (L.) MERR. & L. M. PERRY**

Dissertação apresentada à Universidade Regional do Cariri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais, área de concentração em Biodiversidade, para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 29 de Setembro de 2020.

Profa. Dra. Maria Flaviana Bezerra Moraes-Braga – URCA
Membro interno da banca

Prof. Dr. Aracelio Viana Colares – UNILEÃO
Membro externo da banca

Profa. Dra. Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues
Orientadora

Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa
Coorientador

CRATO-CE

2020

Dedico este trabalho a **Deus**, meu guia espiritual;
À minha avó (**Alaide Ferreira Lima**), ao meu irmão (**Rafael de Sá
Lima**), à minha mãe (**Francisca Terezinha de Sá – *in memoriam***) e
ao meu pai (**Gilberto Ferreira Lima**) pelo apoio, carinho e
compreensão nos momentos em que estive ausente.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por guiar meus passos e me dar discernimento para vencer os obstáculos.

Aos meus familiares, em especial a minha avó (**Alaide Ferreira Lima**) e ao meu irmão (**Rafael de Sá Lima**), pelo amor, incentivo, compreensão, apoio e ajuda a mim oferecidos nessa caminhada.

À minha orientadora **Dra. Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues** pelas oportunidades, confiança, orientações e conhecimentos compartilhados.

Ao meu coorientador **Dr. José Galberto Martins da Costa** pelo acolhimento, orientações e conhecimentos compartilhados.

Aos professores; **Dra. Maria Flaviana Bezerra Morais-Braga**, **Dr. Aracelio Viana Colares**, **Dra. Germana Freire Rocha Caldas** e **Dr. Raimundo Nonato Pereira Teixeira**; pela disponibilidade e preciosas sugestões importantes para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Ao **corpo docente** que compõe o Programa de Pós-graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais.

À secretária do Programa de Pós-graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais, **Dona Franci**, sempre gentil e disposta a ajudar.

À equipe do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) pelo acolhimento e colaboração ao longo desses dois anos. Em especial ao **Gerson, Janaine, Fázia, Alex, Carla, Débora** e **Jhonatan** pela amizade, ajuda e inúmeros conhecimentos compartilhados que foram fundamentais para a realização e conclusão deste trabalho. A todos meu MUITO OBRIGADO!!!

À **Secretaria Estadual de Educação** e a todos que compõem a **Escola de Ensino Médio Monsenhor Antônio Feitosa** por possibilitarem o meu afastamento e compreensão nos momentos em que estive ausente.

Aos **meus amigos(as)** pelo apoio, torcida e ajuda durante esse período. Em especial a **Samuel Dantas Ribeiro** pelos momentos de descontração.

Aos **colegas da turma 2018.1** e de **laboratórios (em especial: Graciele, Joycy Sampaio e Dárcio)** pelo apoio e disponibilidade em ajudar com sugestões, conselhos e parcerias. A todos meu MUITO OBRIGADO!

Por fim, quero agradecer a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

Minha eterna gratidão!!!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xiii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Plantas medicinais.....	13
2.2 Família Myrtaceae e o gênero <i>Syzygium</i> Gaertn.....	14
2.3 Espécie <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels.....	15
2.4 Espécie <i>Syzygium malaccense</i> (L.) Merr. & L. M. Perry.....	17
2.5 Metabólitos secundários.....	19
2.6 Micro-organismos patogênicos.....	21
2.6.1 Bactérias.....	21
2.6.2 Fungos.....	23
2.7 Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio.....	24
3 METODOLOGIA, RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
3.1 Artigo 1: Fenóis totais, toxicidade e atividade antioxidante de extratos etanólicos das folhas de <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels e <i>Syzygium malaccense</i> (L.) Merr. & L. M. Perry.....	26
3.2 Artigo 2: Perfil químico, atividade antimicrobiana e efeito modulador de antibióticos de <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels e <i>Syzygium malaccense</i> (L.) Merr. & L. M. Perry.....	42
4 CONCLUSÃO.....	72
REFERÊNCIAS.....	73
ANEXO.....	81
Anexo 1 Comprovante de submissão ao periódico Acta Botanica Brasilica.....	81

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Hábito arbóreo, (B) Flores, (C) Frutos e (D) Folhas de <i>Syzygium cumini</i>	16
Figura 2. (A) Hábito arbóreo, (B) Flores, (C) Frutos e (D) Folhas de <i>Syzygium malaccense</i>	18
Figura 3. Fatores que podem influenciar a síntese e armazenamento de metabólitos secundários.....	20
Figura 4. Principais classes de metabólitos secundários.....	21
Figura 5. Principais mecanismos de resistência bacteriana à antibióticos.....	22

RESUMO

O uso de plantas para fins medicinais tem origem bastante antiga e relacionada com a cultura associada a uma comunidade ou povo. Os vegetais possuem capacidade de produzir substâncias denominadas metabólitos secundários que podem exercer funções adaptativas e de proteção nesses organismos, bem como funções farmacofisiológicas em seres humanos. Algumas dessas substâncias podem ser capazes de inibir o crescimento de agentes patológicos, tais como fungos e bactérias, bem como inibir a ação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs). *Syzygium cumini*, conhecida popularmente como oliveira, é comumente usada na medicina tradicional para tratamento de infecções na garganta, diabetes e problemas intestinais. *Syzygium malaccense* ou jambo-vermelho é uma planta usada como diurética e no tratamento de infecções e problemas nos tratos respiratório e gastrointestinal. Este trabalho teve como objetivos avaliar a composição química e as atividades antibacteriana, antifúngica e antioxidante, além da toxicidade, dos extratos etanólicos das folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels e *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry. O traçado metodológico iniciou com a coleta dos materiais vegetais com os quais foram realizadas análises químicas, microbiológicas, antioxidantes e de toxicidade. A análise química foi feita por meio da prospecção fitoquímica qualitativa e quantificação do teor de fenois totais. A avaliação microbiológica foi realizada por meio da determinação: da Concentração Inibitória Mínima (CIM) para bactérias, da curva de viabilidade celular e CI_{50} fúngicas, da Concentração Fungicida Mínima (CFM) e da verificação do possível efeito modificador da ação de fármacos de referência (aminoglicosídeos, betalactâmicos e fluconazol). Para as análises antioxidantes foram usados os ensaios: inibição do radical DPPH[•] e poder redutor de íon Fe^{3+} . A avaliação da toxicidade foi feita usando o microcrustáceo *Artemia salina*. A prospecção fitoquímica dos extratos evidenciou presença de fenois, taninos hidrolizáveis, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononóis, leucoantocianidinas e catequinas. Os extratos de *S. cumini* e *S. malaccense* apresentaram teores de fenois de 91,72 e 27,61 mg de ácido gálico/g extrato. Para os testes antimicrobianos, os extratos de *S. cumini* e *S. malaccense* obtiveram CIM de 512 e ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, frente às bactérias testadas; apresentaram capacidade de modificar a ação de betalactâmicos, aminoglicosídeos e fluconazol, além de não terem apresentado efeito fungicida e terem baixa atividade antifúngica intrínseca nas concentrações analisadas. O extrato de *S. cumini* apresentou CI_{50} de 13,32 e 30,72 $\mu\text{g/mL}$ para DPPH[•] e capacidade redutora de íon Fe^{3+} respectivamente. O teste de toxicidade mostrou CL_{50} de 786,60 $\mu\text{g/mL}$. O extrato de *S. malaccense* apresentou CI_{50} de 26,78 e 31,52 $\mu\text{g/mL}$ para DPPH[•] e capacidade redutora de íon Fe^{3+} respectivamente. O teste de toxicidade mostrou CL_{50} de 857,28 $\mu\text{g/mL}$. Portanto, os extratos apresentaram atividade microbiológica significativa (principalmente quando associados a fármacos), atividade antioxidante e toxicidade moderada quando comparada com a escala padrão, sendo necessária a realização de mais pesquisas, com a perspectiva de evidenciar novas atividades biológicas bem como seus mecanismos de ação.

Palavras-Chave: Atividade antioxidante; Atividade antimicrobiana; Fitoconstituintes; Myrtaceae; Toxicidade.

ABSTRACT

The use of plants for medicinal purposes has a very old origin related to the culture associated with a community or people. Plants have the ability to produce substances called secondary metabolites that can exercise adaptive and protective functions in these organisms, as well as pharmaco-physiological functions in humans. Some of these substances may be able to inhibit the growth of pathological agents, such as fungi and bacteria, as well as inhibit the action of reactive oxygen species (ROSs) and reactive nitrogen species (RNAs). *Syzygium cumini* popularly known as oliveira is commonly used in traditional medicine to treat throat infections, diabetes and intestinal problems. *Syzygium malaccense* or red jambo is a plant used as a diuretic and in the treatment of infections and problems in respiratory and gastrointestinal tract. This work aimed to evaluate the chemical composition and antibacterial, antifungal and antioxidant activities, in addition to the toxicity, of the ethanolic extracts of the leaves of *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry. The methodological design began with the collection of plant materials with which chemical, microbiological, antioxidant and toxicity analyses. Chemical analysis was done through qualitative phytochemical and quantification of the total phenols content. Microbiological evaluation was performed by determining: the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) for bacteria, the cell viability curve and IC₅₀ fungi, the Minimum Fungicide Concentration (MFC) and the verification of the possible modifying effect of the reference drugs (aminoglycosides, betalactams and fluconazole). For the antioxidant analyses, the following tests were used: radical inhibition DPPH• and Fe³⁺ ion reducing power. Toxicity evaluation was performed using the microcrustacean *Artemia salina*. Phytochemical prospecting of the extracts showed the presence of phenols, hydrolyzable tannins, flavones, flavonols, xanthonenes, chalcones, aurones, flavonols, leucoanthocyanidins and catechins. Extracts of *S. cumini* and *S. malaccense* had phenol contents of 91.72 and 27.61 mg of gallic acid/g extract. For antimicrobial tests, *S. cumini* and *S. malaccense* extracts obtained MIC of 512 and ≥ 1024 µg/mL, respectively, against the tested bacteria; they were able to modify the action of betalactams, aminoglycosides and fluconazole; and they did not present fungicidal effect and low intrinsic antifungal activity in the analyzed concentrations. *S. cumini* extract presented IC₅₀ of 13.32 and 30.72 µg/mL for DPPH• and Fe³⁺ ion reducing capacity, respectively. The toxicity test showed LC₅₀ of 786.60 µg/mL. *S. malaccense* extract showed IC₅₀ of 26.78 and 31.52 µg/mL for DPPH• and Fe³⁺ ion reducing capacity respectively. The toxicity test showed LC₅₀ of 857.28 µg/mL. Therefore, the extracts showed significant microbiological activity (especially when associated with drugs), antioxidant activity and moderate toxicity, requiring further research, with the prospect of showing new biological activities as well as their mechanisms of action.

Keywords: Antioxidant activity; Antimicrobial activity; Myrtaceae; Phytochemicals; Toxicity.

1 INTRODUÇÃO

A grande diversidade vegetal presente no Brasil torna-o importante fonte de produtos naturais. Nesse contexto, destacam-se as plantas medicinais que há muito tempo vêm sendo usadas no tratamento e prevenção das mais variadas enfermidades (VALLI; BOLZANI, 2019). As plantas medicinais apresentam, além da constituição química essencial à sobrevivência (metabólitos primários), um grupo bastante diversificado de substâncias, com atividades farmacológicas, chamadas metabólitos secundários que exercem funções de proteção, de defesa e de adaptação ao ambiente (CARDOSO, J.; OLIVEIRA; CARDOSO, F., 2019; LACERDA-NETO *et al.*, 2019; STANGARLINI *et al.*, 2011).

A busca por novas fontes terapêuticas tem sido alavancada pelo surgimento de micro-organismos resistentes aos fármacos convencionalmente utilizados. A resistência microbiana está relacionada à utilização indiscriminada e errada de antimicrobianos, bem como às alterações genéticas aleatórias que podem promover o desenvolvimento de características (bombas de efluxo, sítio ativo modificado e produção de enzimas degradativas) capazes de inibir a ação do fármaco (BLAIR *et al.*, 2015; BOOVARAGAMOORTHY *et al.*, 2019; CARVALHO *et al.*, 2019).

O aparecimento de micro-organismos resistentes (bactérias, fungos e vírus) tem sido considerado grande problema de saúde pública. Os índices de mortalidade relacionados às doenças infecciosas vêm aumentando consideravelmente nos últimos anos. Nesse contexto, tornam-se importantes pesquisas que visam propor novas formas de tratamento capazes de resolver ou minimizar essa problemática (WHU, 2015).

Plantas podem ser fontes de substâncias antioxidantes caracterizadas por atuarem inibindo a ação danosa de espécies reativas, como os radicais livres. Muitas doenças crônico-degenerativas possuem relação com a ação deletéria de espécies reativas. Consequentemente, o estudo dos metabólitos secundários, bem como de suas propriedades antioxidantes, são de grande importância para o desenvolvimento de fármacos que possam atuar prevenindo o estresse oxidativo (ZHANG *et al.*, 2015).

Apesar das potencialidades terapêuticas dos metabólitos secundários, algumas classes, como a dos alcaloides, podem ser consideradas tóxicas ao ser humano. Nesse contexto, há uma quebra do paradigma de que as plantas medicinais só proporcionam efeitos benéficos, ou seja, só promovem o bem estar e a saúde das pessoas que as utilizam. Diante disso, pesquisas que também abordem essa problemática são de grande importância, pois o uso indiscriminado e em dosagem potencialmente tóxica podem provocar danos ao organismo (CAMPOS *et al.*,

2016; SIMÕES *et al.*, 2017).

Espécies vegetais pertencentes ao gênero *Syzygium* são caracterizadas por possuírem hábitos arbóreos e arbustivos, encontrando-se distribuídas nos estados das regiões Sudeste, Nordeste, Sul e Norte do Brasil. As espécies *Syzygium cumini* (L.) Skeels e *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry conhecidas popularmente como oliveira e jambo-vermelho, respectivamente, são usadas na medicina tradicional para tratamento e prevenção de doenças gastrointestinais, de inflamações e de infecções (BALIGA, *et al.*, 2011; WERMUTH, 2015). Sabendo do potencial farmacológico das espécies pertencentes ao gênero *Syzygium*, tornam-se necessários estudos que possam identificar as principais classes de metabólitos presentes nos representantes desse gênero, bem como as atividades biológicas.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo geral avaliar a composição química e as atividades biológicas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels e *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry e como objetivos específicos realizar prospecção qualitativa dos metabólitos secundários, quantificar o teor de fenois, verificar atividade antioxidante, investigar atividade antimicrobiana intrínseca e combinada com fármacos de referência e analisar a toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. Dessa forma, esse estudo contribui para que as potencialidades terapêuticas, dessas espécies, possam ser evidenciadas cientificamente, bem como para que novas propostas de tratamentos de doenças crônico-degenerativas e infecciosas possam ser desenvolvidas com base nos resultados obtidos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas medicinais

O uso de plantas medicinais é uma prática antiga da humanidade, sendo, para muitos grupos étnicos e comunidades, uma alternativa complementar ao tratamento e prevenção de doenças (ROCHA *et al.*, 2015). Tais usos são desenvolvidos de maneira informal por meio da medicina popular fundamentada em um conjunto de conhecimentos transmitidos pelas famílias e comunidades ao longo de gerações, não tendo, necessariamente, relação direta com o conhecimento científico (MONTEIRO; BRANDILLI, 2017).

A Organização Mundial da Saúde - OMS define plantas medicinais como vegetais que apresentam compostos químicos biologicamente ativos, possibilitando-os de serem usados no tratamento e prevenção de doenças ou como precursores de princípios ativos na produção de fármacos. Essas plantas podem ser cultivadas ou não para fins medicinais, sendo suas potencialidades terapêuticas evidenciadas por meio dos usos em comunidades tradicionais (VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005; OMS, 2008).

A grande diversidade vegetal presente no Brasil torna-o importante fonte de produtos naturais que, muitas vezes, estão associados a uma cultura desenvolvida a partir das relações tradicionais e do conhecimento popular (VALLI; BOLZANI, 2019). No Brasil, o uso de plantas no tratamento de enfermidades tem suas origens bastante antigas e possui influências das manifestações tradicionais de povos indígenas e quilombolas. Regiões onde o acesso aos medicamentos é ainda difícil pela população carente, o uso de plantas medicinais torna-se uma alternativa para tal problemática (SOUZA *et al.*, 2013).

A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos para tratamento de doenças e promoção da saúde tem ganhado destaque no cotidiano da população brasileira. Nesse contexto, o Ministério da Saúde elaborou, em 2006, a Política Nacional de Plantas Medicinais com diretrizes e estratégias que visam regulamentar e incentivar o uso de plantas medicinais e fitoterápicos, de forma sustentável, como alternativa complementar ao tratamento e prevenção de doenças (BRASIL, 2006; CASTRO; FIGUEIREDO, 2019).

Estudos etnofarmacológicos evidenciam a utilização de diversas plantas, nas mais variadas formas, para fins medicinais. Santos *et al.* (2018) realizaram um estudo etnofarmacológico em uma comunidade, localizada na cidade de Aurora-Ce, e verificaram que um número variado de plantas eram usadas, por exemplo: *Ziziphus juazeiro* (indicada para tratamento de dores no estômago, má digestão, febre e anticárie); *Coutera hexandra* (usada para

tratameto da influenza, sinusite, asma, febre e dores em geral) e *Ximenia americana* (usada no tratamento de lesões, cicatrização de feridas, inflamação e dores em geral).

Estudos realizados no Nordeste brasileiro revelam que muitas plantas medicinais possuem versatilidade de uso bastante significativa. Macedo *et al.* (2018) verificaram que aroeira (*Myracrodun urundeuva*), jurema preta (*Mimosa tenuiflora*), ameixa do mato (*Ximenia americana*) e umburana de cheiro (*Amburana cearensis*) apresentam um grande número de indicações terapêuticas, atuando em diversos sistemas corporais.

Bueno *et al.* (2019) realizaram um levantamento etnofarmacológico de espécies vegetais indicadas e comercializadas por raizeiros em feiras populares. Neste trabalho, plantas como o angico (*Anadenanthera* sp.) e o jatobá (*Hymenaea* sp.) são indicadas para tratamento de infecções na garganta; a arnica (*Lychnophora* sp.) indicada para tratamento de sinusite, machucado, infecção, fratura e como analgésico; e a aroeira (*Myracroduon urundeuva*) indicada como cicatrizante, anti-inflamatória e doenças de pele.

Dessa forma, percebe-se a importância das plantas medicinais no tratamento e prevenção de doenças. Consequentemente, pesquisas que visem confirmar tais ações farmacológicas são bastante relevantes para que seus usos possam ser justificados e corroborados.

2.2 Família Myrtaceae e o gênero *Syzygium* Gaertn

Com aproximadamente 121 a 145 gêneros e 3800 a 6000 espécies, a família Myrtaceae encontra-se distribuída em regiões tropicais e subtropicais, sendo caracterizada por possuir espécies com hábitos arbustivos e arbóreos (ARAÚJO *et al.*, 2019; FARAG *et al.*, 2018).

Muitas das espécies pertencentes a família Myrtaceae são ricas em compostos fenólicos, caroteno, ácido ascórbico e alcaloides descritos por terem diversas atividades biológicas como proteção contra a ação deletéria de espécies reativas (radicais livres) evitando a oxidação celular, atividade antimicrobiana, anticancerígena e anti-inflamatória. Dessa forma, essa família representa uma fonte importante de metabólitos secundários com potencialidades terapêuticas (DONADO-PESTANA, 2018; MEDINA *et al.*, 2011; MORESCO, 2014).

No Brasil, é considerada uma das mais diversificadas do grupo das angiospermas, tendo representantes distribuídos em 23 gêneros e cerca de 928 a 997 espécies catalogadas, sendo responsável pela segunda maior porcentagem de espécies endêmicas. Os representantes dessa família encontram-se distribuídos nos mais diversos tipos de vegetação como Mata Atlântica, Floresta Amazônica, Restinga e Cerrado. Alguns representantes são frutíferos e de considerável

valor econômico como jabuticaba (*Plinia cauliflora*), goiaba (*Psidium guajava*), jambo-vermelho (*Syzygium malaccense*), oliveira (*Syzygium cumini*) e pitanga (*Eugenia uniflora*) (CARVALHO, 2019; MORAIS; CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014; SANTIAGO, 2018).

O gênero *Syzygium* Gaertn, compreende cerca de 1100 espécies distribuídas na América tropical e Austrália. É caracterizado por possuir espécies arbóreas e arbustivas, sendo considerado um dos maiores gêneros da família Myrtaceae com espécies bastante importantes do ponto de vista econômico e medicinal (AYYANAR; SUBASH-BABU, 2012; RUGGIERO, 2004; SOUZA, 2018). Os extratos de algumas espécies são usados na medicina popular como agentes antimicrobianos, anti-inflamatórios, diuréticos e hipoglicemiantes (VENDEDRUSCOLO; RATES; MENTEZ, 2005).

As espécies do gênero *Syzygium* Gaertn não são endêmicas do Brasil, porém apresentam ampla distribuição geográfica, sendo encontradas nas regiões Norte (Amazonas e Roraima); Nordeste (Bahia, Pernambuco e Ceará); Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) e Sul (Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina). Ocupando os seguintes domínios fitogeográficos: Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal (REFLORA, 2019).

Syzygium é um dos gêneros encontrados na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). Esta relação foi criada em 2009 e consta 71 espécies vegetais, dentre as quais *Syzygium cumini*. Nesse sentido, podemos destacar a relevância desse gênero no contexto medicinal (BRASIL, 2009).

2.3 Espécie *Syzygium cumini* (L.) Skeels

Syzygium cumini (L.) Skeels (sinonímia *Syzygium jambolanum*, *Eugenia cumini* e *Eugenia jambolana* Lam.) é uma planta originária do continente indiano, porém atualmente está distribuída pelo subcontinente asiático, África oriental, América do Sul, Madagascar e algumas regiões dos Estados Unidos das Américas. No Brasil, encontra-se distribuída nos estados das regiões Sudeste, Nordeste, Sul e Norte (BALIGA *et al.*, 2011; REFLORA, 2019).

É uma planta de hábito arbóreo (Figura 1) medindo cerca de 10 m de altura, com folhagem abundante e sempre verde. Os ramos são retorcidos com folhas opostas, simples, pecioladas e longas. As flores, de coloração variando de branca a creme, estão dispostas em inflorescências (CHHIKARA *et al.*, 2018; SOARES, 2015). Os frutos são carnosos, possuindo uma única semente, com coloração arroxeada, quando maduros devido a presença de antocianinas, e possuindo sabor adstringente (RUGGIERO, 2004).

No Brasil, o período de floração ocorre entre os meses de setembro a novembro e a

frutificação entre os meses de dezembro a fevereiro (SOARES, 2015). Os frutos de *S. cumini* podem ser consumidos *in natura* ou na forma de bebidas fermentadas (vinhos e iogurtes), de sucos, de geleias e de doces. Possuem nutrientes como ácido ascórbico (vitamina C), tocoferol (vitamina E) e sais minerais (sódio, potássio, cálcio e magnésio) que são essenciais para a manutenção do funcionamento normal do corpo humano (SERAGLIO *et al.*, 2018; TAVARES, *et al.*, 2018).

Figura 1- (A) Hábito arbóreo; (B) Flores; (C) Frutos e (D) Folhas de *Syzygium cumini*.



Fonte: Próprio autor.

A espécie *S. cumini* conhecida popularmente como oliveira, jambolão, jamelão, janum e ameixa preta indiana; se destaca por possuir uma variedade de substâncias oriundas do metabolismo secundário, como flavonoides, alcaloides e taninos (MIGLIATO *et al.*, 2007). Estudos evidenciaram ação hipoglicemiante, antimicrobiana, anticancer, diurética, cardiotônica, anti-inflamatória, estimulante do sistema nervoso central, anticonvulsivante, anti-hemorrágica e antiescorbútica de extratos produzidos a partir dessa planta (SINGH *et al.*, 2018).

Diversas partes da planta são usadas na medicina popular no tratamento das mais variadas doenças. As folhas são utilizadas para problemas gastrointestinais, diabetes e febre. As cascas do caule são usadas para problemas na garganta, diarreia e indigestão (AYYANAR; SUBASH-BABER, 2012). Os frutos usados para problemas como diabetes, irritações na garganta, câncer, febre e distúrbios gastrointestinais. As sementes tem aplicação popular para febre, inflamação e infecção na garganta e problemas no trato geniturinário (BALIGA, *et al.*, 2011; CARTAXO-FURTADO *et al.*, 2015).

2.4 Espécie *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry

Syzygium malaccense, conhecida popularmente como jambo-vermelho, é originária da Malásia, porém dispersou-se para diversos países das regiões tropicais da África e América. No Brasil, encontra-se distribuída nos estados das regiões Norte, Nordeste e nas regiões com temperaturas mais elevadas do Sudeste. Nas Américas do Sul e Central é cultivada como fruteira ou como árvore ornamental (ALMEIDA, 2011; AZEVÊDO, 2010).

É uma planta de porte arbóreo (Figura 2), podendo atingir até 20 m de altura. Possui copa densa, de formato piramidal, com folhas grandes, coriáceas e de coloração verde escura. Suas flores são relativamente grandes, medindo de 3 a 4 cm de comprimento, de coloração vermelha e com grande número de estames (NACATA, 2017). Os frutos são carnosos, com epicarpo fino e de coloração vermelha, com polpa suculenta, branca e de aspecto esponjoso. Além disso, os frutos podem possuir ou não uma única semente, além de apresentar aroma característico de rosas (FONTAN *et al.*, 2018; FERNANDES; RODRIGUES, 2018).

A floração e frutificação da *S. malaccense* ocorrem entre os meses de agosto a fevereiro (MAIA *et al.*, 2019). Os frutos do jambo-vermelho possuem sabor levemente adocicado e casca rica em compostos fenólicos, em particular antocianinas, fato que os tornam alimentos com potencial atividade antioxidante. Além disso, possuem em sua composição nutricional carotenoides (pró-vitamina A), tiamina (vitamina B₁) e cobalamina (vitamina B₁₂) e os sais

minerais cálcio, ferro e fósforo. Podem ser consumidos *in natura* ou na forma de sucos, compotas e geleias (AUGUSTA, 2011; AZEVÊDO, 2010; COSTA, 2006).

O Jambo-vermelho é caracterizado por possuir uma variedade de compostos bioativos como flavonóis, catequinas, antocianinas, taninos e carotenoides. A presença de tais compostos proporcionam à *S. malaccense* uma variedade de propriedades farmacológicas como atividades antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e hipoglicemiante (BATISTA *et al.*, 2017; FREITAS *et al.*, 2019; SILVA, 2018).

Na medicina popular, exemplares da planta são comumente utilizados como diurético e no tratamento de infecções dérmicas, febre, distúrbios dos tratos gastrointestinal e respiratório, bem como em inflamações e no tratamento da tosse (GIBBERT; BERTINI; KRUGER, 2017; MELO *et al.*, 2009).

Figura 2- (A) Hábito arbóreo; (B) Flores; (C) Frutos e (D) Folhas de *Syzygium malaccense*.



Fonte: Próprio autor.

2.5 Metabólitos secundários

Nas células dos seres vivos ocorre uma grande variedade de reações químicas, que atuam possibilitando o funcionamento celular. A essa totalidade de reações químicas biológicas dá-se o nome de metabolismo e, nesse contexto, os vários compostos envolvidos recebem o nome de metabólitos, que por sua vez podem ser classificados em primários e secundários (SIMÕES *et al.*, 2017).

Os metabólitos primários são formados pelas reações químicas essenciais à vida e que são comuns a todos os seres vivos. Essas reações envolvem processos anabólicos, formação de substâncias a partir de outras mais simples, e processos catabólicos, degradação de substâncias complexas em outras mais simples. Dentro desse conjunto de reações, encontramos, por exemplo, aquelas que estão envolvidas na liberação de energia para as células, bem como as que estão relacionadas com a transmissão de informações genéticas. Os principais metabólitos primários que ocorrem nos seres vivos são: carboidratos, lipídeos, ácidos nucleicos e proteínas (NESLSON; COX, 2014).

O metabolismo primário compreende as várias reações químicas envolvidas na transformação de moléculas de nutrientes nas unidades constitutivas essenciais da célula (WATSON *et al.*, 2015), reações essas que encontram-se envolvidas na manutenção da sobrevivência e do desenvolvimento celular (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2014).

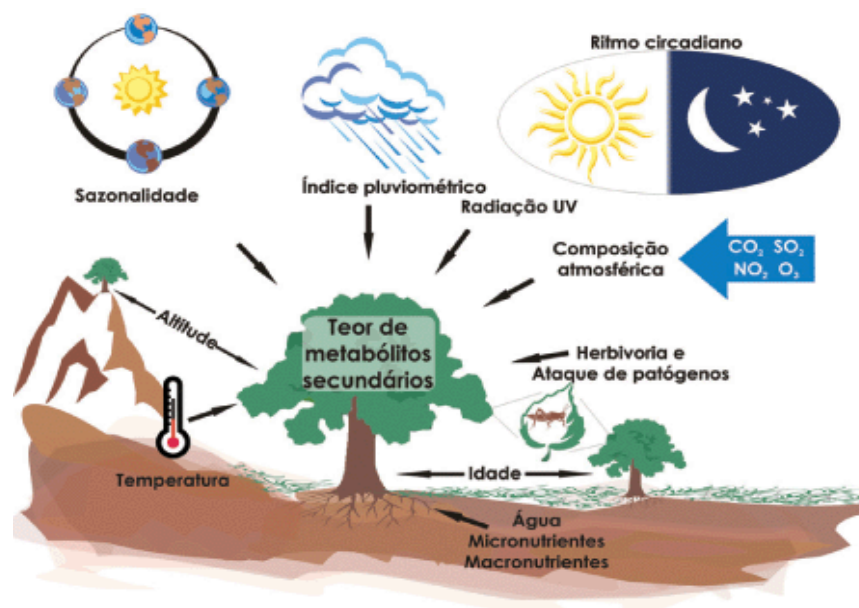
Vegetais, micro-organismos e, em menor escala, animais apresentam vias metabólicas capazes de produzir e acumular substâncias que não, necessariamente, estão relacionadas de forma direta à manutenção da vida do organismo produtor, sendo restritas a grupos específicos de organismos. Este conjunto metabólico é definido como metabolismo secundário, cujos produtos, embora não sejam essenciais ao organismo produtor, garantem vantagens à sobrevivência e à perpetuação da espécie no ecossistema (SILVA, 2013; SIMÕES *et al.*, 2017).

As substâncias que compõem o metabolismo secundário são produzidas em pequenas quantidades e como estão restritas a grupos particulares de seres vivos, podem ser usadas na identificação e classificação biológica. Os metabólitos secundários exercem funções diversas nas plantas, protegem contra herbívoros, ataque de patógenos e as beneficiam na competição com outros vegetais em um processo chamado alelopatia. Além disso, favorecem a atração de agentes polinizadores e de animais dispersores de sementes, bem como protegem o vegetal de influências externas (temperatura, umidade e radiação ultravioleta) (RAVEN *et al.*, 2014; TAIZ *et al.*, 2017).

A síntese de produtos do metabolismo secundário é influenciada por uma variedade de

fatores ambientais que vão desde o clima até a composição química do solo (Figura 3). Esses fatores podem levar a diferenças químicas qualitativas e quantitativas em indivíduos da mesma espécie. Tal fato, pode ser evidenciado em estudos de atividades biológicas, com plantas pertencentes a mesma espécie, que apresentam resultados divergentes (SIMÕES *et al.*, 2017; GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Figura 3- Fatores que podem influenciar a síntese e armazenamento de metabólitos secundários.



Fonte: GOBBO-NETO; LOPES, 2007.

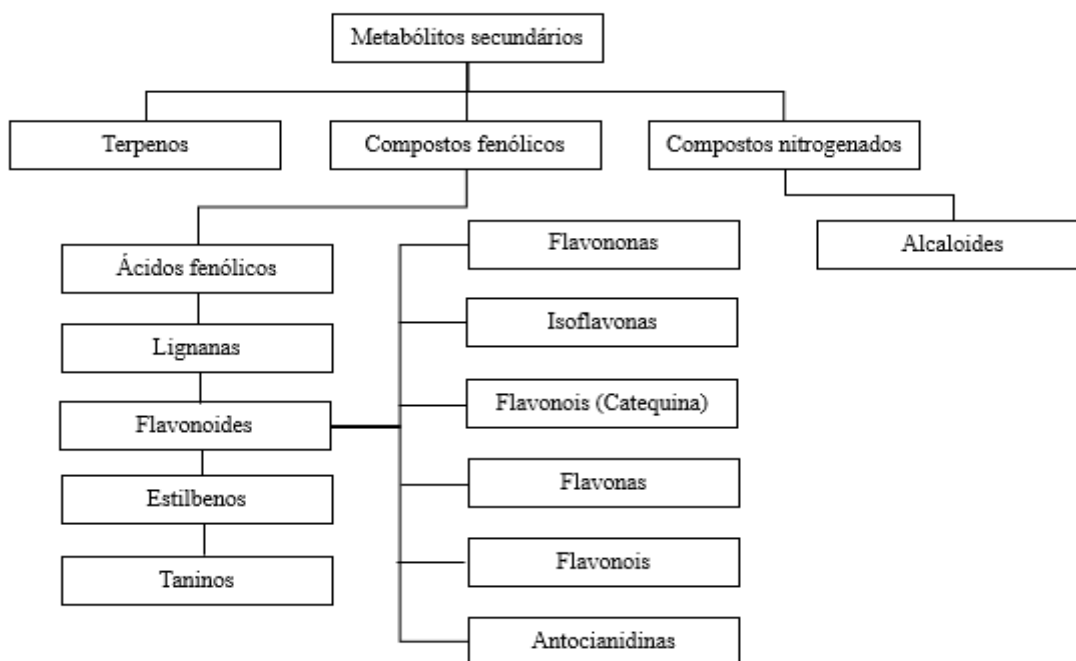
Os metabólitos secundários constituem um grande conjunto de substâncias e podem ser classificados em três grupos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (TAIZ *et al.*, 2017). Estes por sua vez podem ser subdivididos em outros grupos (Figura 4). Essa diversidade de compostos faz com que os metabólitos secundários sejam potencialmente promissores na busca por compostos com atividades biológicas e que possam ser usados como princípios ativos em formulações medicamentosas (ANDRADE, 2015; CUNHA *et al.*, 2016b).

Os flavonoides constituem um grupo bastante diverso de compostos fenólicos, encontrados em plantas medicinais, com atividades biológicas já evidenciadas, como: anti-inflamatória, antidepressiva, antimicrobiana (ação contra fungos, bactérias e vírus) e anticancerígena. Além dessas atividades, os flavonoides são bastante conhecidos por terem

efeitos inibitórios sobre a produção e ação danosa de radicais livres. Essas propriedades antioxidantes são derivadas de suas estruturas químicas que possibilitam agir como doadores de elétrons e/ou íons hidrogênio (AHMAD *et al.*, 2015; MALEKI; CRESPO; CABANILLAS, 2019).

Outra classe de compostos fenólicos bastante encontrada em plantas medicinais são os taninos. Estes são caracterizados por terem capacidade de inibir o crescimento de micro-organismos como fungos e bactérias (FARHA *et al.*, 2020). Além disso, estudos demonstraram que os taninos possuem atividades antioxidante, cardioprotetora, neuroprotetora, imunomodulatória, anti-obesidade, antidiabética e anticancer (RAUF *et al.*, 2019).

Figura 4- Principais classes de metabólitos secundários.



Fonte: Próprio autor.

2.6 Micro-organismos patogênicos

2.6.1 Bactérias

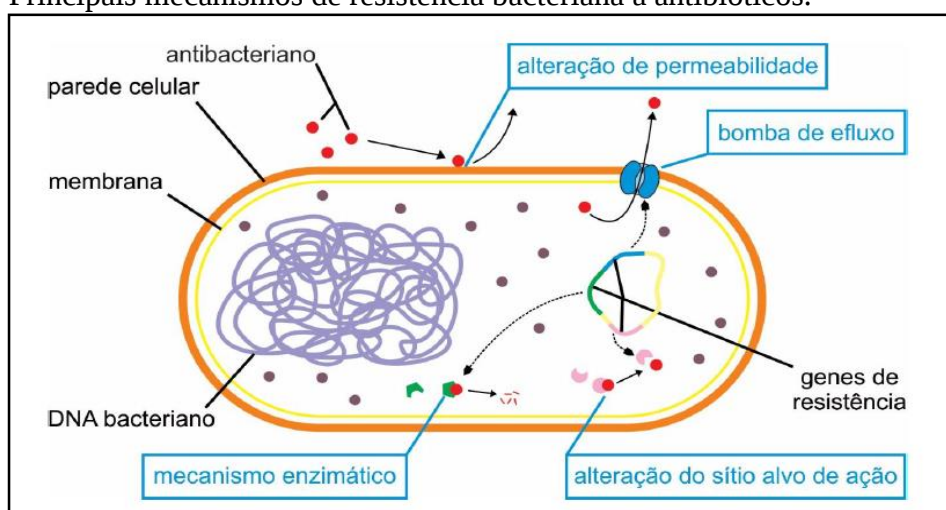
As bactérias são organismos unicelulares, procariontes, heterótrofos ou autótrofos e podem viver em colônias ou em associação mutualística com outros seres vivos. Muitas são

conhecidas popularmente pelo fato de estarem relacionadas a doenças bastante conhecidas como tuberculose, tétano e leptospirose (REECE *et al.*, 2015).

Com base na constituição química da parede celular, as bactérias podem ser classificadas em dois grupos: Gram-positivas e Gram-negativas. As diferenças existentes entre esses dois grupos de bactérias são cruciais na virulência e suscetibilidade aos antimicrobianos. Bactérias Gram-positivas possuem maior sensibilidade a ação de antibióticos, em relação as Gram-negativas, pois estas possuem uma membrana externa formada por fosfolipídeos, lipopolissacarídeos e lipoproteínas que dificultam a penetração dos antimicrobianos, com a consequente diminuição da concentração intracelular do fármaco e sua baixa ação antibacteriana (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Apesar de termos, atualmente, uma variedade de antibióticos destinados ao tratamento de doenças bacterianas, estamos vivenciando um problema de saúde pública: o surgimento de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos. Esse processo de resistência está bastante relacionado com o uso indiscriminado e errado desses medicamentos, bem como a variações genéticas aleatórias que ocorrem nos patógenos. Estes processos podem promover o desenvolvimento de características que inibem a ação do antimicrobiano (Figura 5), como: inativação enzimática do fármaco, modificação do alvo do antibiótico, extrusão do antimicrobiano por meio de bombas de efluxo, alteração da permeabilidade da membrana e formação de biofilmes (LOUREIRO *et al.*, 2016; ORTEGA, 2019; SILVA; AQUINO, 2018).

Figura 5- Principais mecanismos de resistência bacteriana a antibióticos.



Fonte: DIAS (2018).

Alguns micro-organismos têm despertado o interesse médico devido ao fato de estarem relacionados ao desenvolvimento de mecanismos de resistência, bem como serem bastante comuns em infecções. *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva, com formato esférico, podendo viver isolada ou em colônias com formato de cachos de uva. Esses micro-organismos são comensais bastante comuns na pele e mucosas de seres humanos, porém em certas ocasiões podem causar doenças que vão desde infecções simples (espinhas, furúnculos e celulites) até mais graves (pneumonias, endocardite e meningite). Já foram identificadas linhagens de *S. aureus* resistentes a alguns fármacos, como penicilina, meticilina, vancomicina e oxacilina (LAKHUNDL; ZANG, 2018; MIMICA; BERESIN, 2006; SANTOS *et al.*, 2007).

Outras bactérias bastante comuns nas infecções em seres humanos são as Gram-negativas *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. *Klebsiella pneumoniae* é um bacilo, pertencente ao grupo das enterobactérias, podendo ser encontrada em seres humanos nas fezes e nasofaringe, está associada a infecções do trato urinário, de tecidos moles, pneumonias e septicemias; além de já existirem cepas resistentes aos betalactâmicos (SANTOS 2018; SILVA *et al.*, 2019). *Pseudomonas aeruginosa* é um bastonete comumente relacionado às infecções hospitalares, principalmente em pessoas com sistema imunológico deprimido. Pode causar infecções nos tratos respiratório e urinário, bem como septicemias. Já foram identificadas *P. aeruginosa* resistentes aos antibióticos: gentamicina, imipenem, meropenem, cefepine e ciprofloxacina (COSTA, 2019; MATOS *et al.*, 2014; SANTOS, 2018).

2.6.2 Fungos

Os fungos são organismos eucariontes, podendo ser uni ou pluricelulares, heterótrofos por absorção e vivem em ambientes úmidos. Podem ser considerados, juntamente com as bactérias, os recicladores da matéria orgânica, devido ao fato de serem decompositores. São organismos que também estão associados a algumas patologias conhecidas popularmente como frieiras, tais como candidíase (TORTORA; FUNK; CASE, 2017).

A célula fúngica possui parede celular com composição química bastante complexa. Nela são encontrados polissacarídeos (ligados ou não a proteínas ou lipídeos), polifosfatos e íons inorgânicos. Sendo que os componentes mais abundantes da parede fúngica são quitina, glucanas (β -1,6-glucana e β -1,3-glucana), galactoproteínas e proteínas. Outra característica marcante das células fúngicas é a ausência de colesterol na membrana plasmática, no entanto um lipídeo característico presente é o ergosterol. Alguns antifúngicos, como fluconazol, agem inibindo a síntese do ergosterol provocando, dessa forma, alterações na permeabilidade da

membrana plasmática e consequente morte celular (MARDIGAN *et al.*, 2016; FUKUDA *et al.*, 2009).

O aumento da incidência de doenças fúngicas está causando um problema de saúde pública. Tal fato, está principalmente relacionado ao surgimento de espécies de fungos resistentes aos antimicrobianos disponíveis para tratamento. Dois principais mecanismos de resistência nesses organismos são: 1. Alterações na enzima lanosterol 14- α -dimetilase, inibindo a ação do fármaco na síntese de ergosterol e 2. Presença de bombas de efluxo, que provocam uma diminuição da concentração intracelular do fármaco (BEARDSLEY *et al.*, 2018; JIN, 2019; MARGRIET *et al.*, 2019).

Fungos do gênero *Candida* são micro-organismos leveduriformes que compõem a microbiota normal da pele, do sistema urinário, do sistema gastrointestinal, da cavidade oral e do sistema genital dos seres humanos. São organismos comensais, porém alterações da microbiota, no sistema imunológico e variações do meio (pH e conteúdo nutricional) podem permitir o crescimento descontrolado desses fungos e ocasionar problemas de saúde. *Candida albicans* e *C. tropicalis* são exemplos de espécies desse gênero bastante comuns em infecções fúngicas e em mecanismos de resistência aos fármacos do grupo dos Azóis (LEE *et al.*, 2020; PRISTON; GHANNOUM, 2019).

2.7. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio

As espécies reativas são moléculas ou átomos que possuem capacidade de reagir com um grande número de estruturas e/ou componentes celulares. Nesse contexto, encontram-se os radicais livres, espécies químicas que possuem um ou mais elétrons livres desemparelhados na camada de valência (MARTELLI; NUNES, 2014).

Os radicais livres são produzidos naturalmente nas células principalmente como resultado do metabolismo aeróbico. Eles estão associados a diversos processos fisiológicos como comunicação intercelular, fagocitose e produção de energia. Além disso, são capazes de oxidar aleatoriamente moléculas biológicas essenciais como lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, o que pode resultar na perda dos efeitos fisiológicos dessas moléculas e indução de efeitos deletérios (CUNHA *et al.*, 2016a; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

Os processos deletérios associados aos radicais livres, bem como às demais espécies reativas, estão relacionados ao desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e a inativação delas por sistemas de defesa proporcionado por substâncias conhecidas como antioxidantes. Estas são capazes de inibir ou retardar a ação de espécies reativas, bem como de reverter os

danos oxidativos (BARBOSA *et al.*, 2010; CAMPOS; LEME, 2018).

Diante desse contexto, a busca por produtos naturais com propriedades antioxidantes tem tido destaque no meio científico. Existe uma quantidade considerável de metabólitos secundários (por exemplo, compostos fenólicos) capazes de inativarem a ação de radicais livres ou de reverterem os danos causados, podendo ter, conseqüentemente, possíveis aplicações no tratamento de doenças onde essas espécies químicas estejam presentes (CARVALHO, 2019).

3 METODOLOGIA, RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Artigo 1: Fenois totais, toxicidade e atividade antioxidante de extratos etanólicos das folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels e *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry

Diêgo S. Lima^{a,b,*}, Alexandro R. Dantas^a, Carla F. A. Nonato^a, Cicera J. Camilo^a, Débora O. D. Leite^a, Gerson J. T. Salazar^a, José G. M. da Costa^a, Fabíola F. G. Rodrigues^{a,b,c}

^aLaboratório de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri (URCA), Ceará, Brasil.

^bPrograma de Pós-graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais (PPGDR), Ceará, Brasil.

^cCentro Universitário Leão Sampaio (UNILEÃO), Ceará, Brasil.

Artigo a ser submetido ao periódico: South African Journal of Botany

Link para acesso: <https://www.journals.elsevier.com/south-african-journal-of-botany>

ISSN: 0254-6299

Qualis em Biodiversidade: B2

Fator de Impacto: 1.792



*Autor para correspondência: Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri (URCA), Ceará, Brasil. E-mail: d.sa.lima@bol.com.br

Fenois totais, toxicidade e atividade antioxidante de extratos etanólicos das folhas de
Syzygium cumini (L.) Skeels e *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry

Diêgo S. Lima^{a,b,*}, Alexandro R. Dantas^a, Carla F. A. Nonato^a, Cicera J. Camilo^a, Débora O. D. Leite^a, Gerson J. T. Salazar^a, José G. M. da Costa^a, Fabíola F. G. Rodrigues^{a,b,c}

^aLaboratório de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato, Ceará, Brasil.

^bPrograma de Pós-graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais (PPGDR), Crato, Ceará, Brasil.

^cCentro Universitário Leão Sampaio (UNILEÃO), Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil.

Resumo

Syzygium cumini (L.) Skeels e *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry popularmente conhecidas como oliveira e jambo-vermelho, respectivamente, possuem diversas aplicações terapêuticas. As folhas dessas plantas são usadas no tratamento de doenças crônico-degenerativas relacionadas ao estresse oxidativo. Este trabalho teve como objetivos determinar o teor de fenois totais, a atividade antioxidante e a toxicidade de extratos etanólicos das folhas de *Syzygium cumini* e *Syzygium malaccense*. O teor de fenois totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocateu. Nas análises antioxidantes foram usados os ensaios de Inibição do radical livre DPPH[•] e Poder redutor de íon Fe³⁺. A avaliação da toxicidade foi realizada usando o microcrustáceo *Artemia salina*. O extrato de *S. cumini* apresentou teor de fenois de 91,72 mg ácido gálico/g extrato. Os ensaios antioxidantes revelaram CI₅₀ de 13,32 e 30,72 µg/mL para DPPH[•] e para capacidade redutora de íon Fe³⁺ respectivamente. O teste de toxicidade apresentou CL₅₀ de 786,60 µg/mL. Para o extrato de *S. malaccense*, o teor de fenois foi de 27,61 mg ácido gálico/g extrato. Os ensaios antioxidantes revelaram CI₅₀ de 26,78 e de 31,52 µg/mL para DPPH[•] e para capacidade redutora de íon Fe³⁺ respectivamente. O teste de toxicidade apresentou CL₅₀ de 857,28 µg/mL. Portanto, os extratos apresentam boa atividade antioxidante e toxicidade de baixa a moderada, o que corrobora o uso medicinal.

Palavras-chave: Atividade antioxidante; Compostos fenólicos, *Syzygium cumini*; *Syzygium malaccense*; Toxicidade.

1. Introdução

Plantas são fontes de substâncias antioxidantes que se caracterizam por atuarem na inibição de ações danosas causadas por espécies reativas. A ação deletéria de espécies reativas (ERs) está associada ao desenvolvimento de diversas doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (Luo et al., 2020). Com isso, houve aumento nas pesquisas com plantas que possuem substâncias bioativas capazes de neutralizar ou prevenir o estresse oxidativo, agindo

*Autor para correspondência: Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato, Ceará, Brasil. E-mail: d.sa.lima@bol.com.br

como antioxidantes naturais (Zhang et al., 2015).

As espécies *Syzygium cumini* (L.) Skeels e *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry conhecidas popularmente como oliveira e jambo-vermelho, respectivamente, têm utilização tradicional no tratamento e prevenção de doenças gastrointestinais, de inflamações e de infecções. Essas espécies são caracterizadas por terem uma variedade de compostos fenólicos (flavonóis, taninos, catequinas e flavononóis) e atividades antioxidante, anticancer e hipoglicemiante (Baliga et al., 2011; Batista et al., 2017; Chhikara et al., 2018; Singh et al., 2018).

Os compostos fenólicos compreendem um grupo diverso de metabólitos secundários caracterizados por apresentar fenóis compondo sua estrutura química. Uma atividade biológica característica desses compostos é a capacidade de atuarem como antioxidantes através da interação com proteínas pró-oxidantes e inibição direta de radicais livres ou íons metálicos (Rahaiee et al., 2020; Simões et al., 2017).

Devido às folhas de *S. cumini* e *S. malaccense* serem usadas para tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo e trabalhos relacionados à atividade antioxidante para espécimes das regiões onde as plantas foram coletadas serem escassos, o presente trabalho teve como objetivos determinar o teor de fenóis totais, avaliar a atividade antioxidante e a toxicidade de extratos etanólicos das folhas de *Syzygium cumini* e *Syzygium malaccense*.

2. Materiais e métodos

2.1 Material vegetal e preparo dos extratos

As folhas de *Syzygium malaccense* foram coletadas no jardim da Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará, Brasil (7°14'16.8"S 39°24'57.8"W) e as folhas de *Syzygium cumini* foram coletadas no jardim da Escola de Ensino Fundamental Edward Teixeira Ferrer, Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil (7°13'04.0"S 39°18'46.8"W). Partes aéreas com estruturas reprodutivas foram depositadas no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima da Universidade Regional do Cariri (URCA).

Os extratos foram obtidos das folhas secas (133,47 e 151,03 g para *S. malaccense* e *S. cumini* respectivamente) por maceração em etanol PA durante 72 horas (Matos, 2009). Em seguida, as soluções foram filtradas e destiladas em evaporador rotativo sob pressão reduzida à 60 °C. Após evaporação de todo o solvente, os extratos brutos foram pesados e armazenados à temperatura ambiente.

2.2 Teor de fenois totais

O teor de compostos fenólicos dos extratos foi determinado pelo método desenvolvido por Singleton e Rossi (1996), modificado por Nuutila et al. (2003). Em tubos de ensaios, foram adicionados 25 µL do extrato, 625 µL de Folin-Ciocalteu 10% (v/v) e 500 µL de solução de carbonato de sódio 7,5% (m/v). As misturas foram homogeneizadas e incubadas por 20 minutos à 45 °C no escuro e, em seguida, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-visível à 765 nm. As concentrações dos extratos utilizadas variaram de 32 a 125 µg/mL. As análises foram realizadas em triplicata e o conteúdo de compostos fenólicos foi calculado a partir da curva de calibração usando ácido gálico (AG).

2.3 Testes antioxidantes

2.3.1 Inibição do radical livre DPPH•

A atividade sequestradora de radical livre foi determinada pelo método fotolorimétrico de DPPH• (2,2, difenil-1-picril-hidrazil), conforme Choi et al. (1994) com modificações.

Foram preparadas diferentes concentrações (5, 10, 25, 35, 75 e 100 µg/mL) do extrato, diluídas em etanol PA. Em uma microplaca de ELISA de 96 poços foram adicionados 150 µL de cada concentração, em duplicata, e 150 µL da solução etanólica do radical livre DPPH• à 0,3 mM. Para o branco, foram usados 150 µL de etanol PA e 150 µL da solução do extrato para cada concentração utilizada. O controle negativo consistiu em 150 µL de solução etanólica de DPPH• 0,3 mM e 150 µL de etanol PA. O controle positivo foi feito com ácido ascórbico e catequina, bem como seu branco, com base nos mesmos procedimentos usados na preparação das diferentes concentrações dos extratos. Após 30 minutos de incubação em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, foram realizadas as medidas de absorbância à 518 nm em um espectrofotômetro de UV-visível.

Os valores de inibição do radical DPPH• foram expressos em porcentagens (%) e calculados usando a seguinte equação (Figura 1):

Figura 1: Fórmula para cálculo da porcentagem de inibição do radical DPPH•

$$\% \text{ inibição de DPPH} = \frac{[(\text{Abs. Controle} - (\text{Abs. Extrato} - \text{Abs. Branco}))]}{\text{Abs. Controle}} \times 100\%$$

Fonte: Próprio autor. Legenda: Abs. Controle negativo é a absorbância da solução de DPPH• sem extrato; Abs. Extrato é a absorbância do extrato com DPPH•; Abs. Branco é a absorbância do extrato sem DPPH•.

De acordo com os dados obtidos da atividade antioxidante em diferentes concentrações, determinados em duplicata, foi calculada, por meio do software GraphPad Prism, a concentração inibitória capaz de inibir 50% do radical DPPH• (CI₅₀) e o valor final foi expresso em µg/mL.

2.3.2 Poder redutor de íon Fe³⁺

A capacidade do extrato em reduzir íon Fe³⁺ foi determinada através do ensaio da o-fenantrolina (o-phe), segundo o método de Minnoti e Aust (1987) com modificações.

Alíquotas dos extratos foram misturadas, em separado, com íon Fe³⁺ *in vitro* usando uma solução de FeCl₃ 1200 µM, em ambiente escuro e refrigerado. Depois foram extraídos das misturas (Fe³⁺ + extrato), volumes de 50 µL e colocados em microplacas ELISA de 96 poços com 250 µL da mistura (água miliq, Tris-HCl 0,1 M pH 7.4 e o-phe 300 µM) obtendo concentrações finais dos extratos de 5, 25, 35 e 50 µg/mL e do íon Fe³⁺ de 100 µM. O controle de íon Fe²⁺ 100 µM foi feito a partir de uma solução aquosa de FeSO₄ 1200 µM. Foram produzidos os respectivos brancos das concentrações e do Fe³⁺ (275 µL de água miliq + 25 µL do componente de cada branco). O controle positivo foi feito com catequina, nas mesmas condições do teste, porém na concentração única de 10 µg/mL.

A absorbância foi medida em um espectrofotômetro UV-visível à 510 nm. As porcentagens de redução foram calculadas usando a equação abaixo (Figura 2):

Figura 2: Equação para cálculo do poder de redução do íon Fe³⁺.

$$\text{Pod. Red. Fe}^{3+}(\%) = \frac{[(\text{Abs. Extrato Fe}^{+3} - \text{Abs. Ext. bran. Fe}^{+3}) - \text{Abs. Controle Fe}^{+3}]}{\text{Abs. Controle Fe}^{+2}} \times 100\%$$

Fonte : Próprio autor. Legenda: Abs. Cont. Fe²⁺ é a absorbância da o-phe com Fe²⁺ sem extrato; Abs. Cont. Fe³⁺ é a absorbância da o-phe com Fe³⁺ sem extrato, Abs. Extrato Fe³⁺ é a absorbância do extrato com o-phe e Fe³⁺; Abs. Ext. bran. Fe³⁺ é a absorbância do extrato sem o-phe com Fe³⁺.

2.4 Teste de toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*

Uma solução salina foi preparada utilizando 72,4 g de sal marinho em 2 L de água destilada, sendo o pH ajustado entre 7.0 e 9.0 com NaHCO_3 . Colocou-se 200 mg de ovos de *Artemia salina* para eclodir em 400 mL da solução salina (36.2 g/L), durante 24 horas, sob contínua aeração e exposição à luz e temperatura entre 27 e 30 °C. As soluções dos extratos foram preparadas com solução salina em concentrações que variaram de 10 a 1000 $\mu\text{g/mL}$. Em triplicata, dez (10) *Artemia salina* foram colocadas em 10 mL de solução dos extratos nas diferentes concentrações analisadas, tendo como parâmetro de avaliação o número de náuplios mortos após 24 horas (Meyer et al., 1982).

2.5 Análise estatística

Os resultados foram calculados como média $\pm$ desvio padrão (DP). As análises estatísticas dos testes foram feitas por meio do software Graphpad Prism, v. 6.0. Para a determinação do teor fenóis totais, a curva de calibração e o coeficiente de correlação (r) foram obtidos e calculados por regressão, e as análises dos dados dos extratos foram feitas através do teste T student. Os testes antioxidantes foram analisados através de um modelo de análise de variação (ANOVA) e teste de múltiplas comparações de Tukey. Os dados de toxicidade foram analisados via regressão linear, usando o programa MS Excel para Windows 2010. As diferenças com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

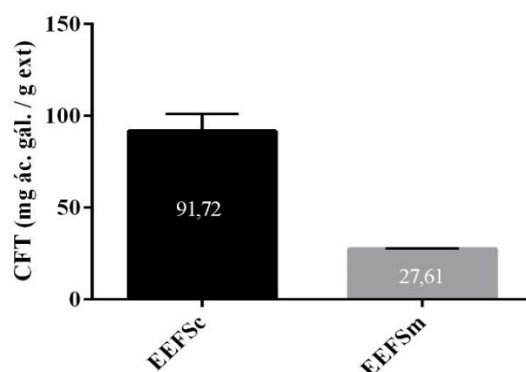
3. Resultados e discussão

3.1 Teor de fenóis totais

A concentração de compostos fenólicos está relacionada à atividade antioxidante de extratos. Dessa forma, por meio da quantificação desses compostos pode-se avaliar, de forma indireta, a potencialidade antioxidante de extratos (Piris et al., 2017).

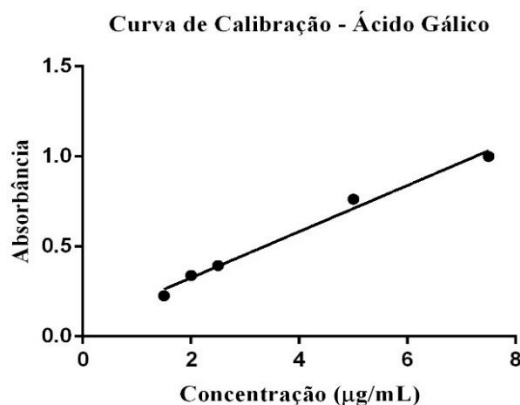
Os teores de fenóis totais dos extratos de *S. cumini* e *S. malaccense* foram calculados como equivalentes de ácido gálico (Figura 3). A curva de calibração está representada na Figura 4 com equação $Y = 0,1283X + 0,06993$ e R^2 de 0,9876. Podemos verificar que o extrato de *S. cumini* (oliveira) apresentou um teor de compostos fenólicos maior que o extrato de *S. malaccense* (jambu), possuindo uma maior evidência quanto à capacidade antioxidante

Figura 3: Teor de fenois totais dos extratos etanólicos das folhas de *Syzygium cumini* e *Syzygium malaccense*



Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão e análises realizadas pelo teste T de Student com $p < 0,05$ estatisticamente significativo. Legenda: CFT: Conteúdo de Fenois Totais, EEFSc: Extrato Etanólico das Folhas de *S. cumini*, EEFSm: Extrato Etanólico das Folhas de *S. malaccense*.

Figura 4: Curva de calibração do ácido gálico



O teor de fenois totais das folhas de *S. cumini* já foi determinado em outros estudos. Soares et al. (2019) identificaram em extratos aquosos e metanólicos um teor de fenois totais de $231 \pm 26,63 \mu\text{g GAE/mg}$ de extrato e $221 \pm 14,18 \mu\text{g GAE/mg}$ de extrato respectivamente. Analisando extratos etanólicos das folhas de *S. cumini* coletadas em diferentes localidades; Hidayati, Sauriasari e Elya (2020) obtiveram teores de fenois totais que variaram de 331,27 a 476,18 mg GAE/g de extratos.

Para *S. malaccense*, Arumugam et al. (2014) obtiveram, a partir de extratos etanólicos produzidos com as folhas, teor de fenois totais equivalente a $125,81 \pm 0,003 \text{ mg GAE/g}$ de extrato. Extratos das folhas de *S. malaccense* produzidos com hexano, acetato e metanol apresentaram teores de fenois totais de $587,17 \pm 19,48$; $1.617,47 \pm 4,63$ e $1.319,49 \pm 9,26 \mu\text{g}$

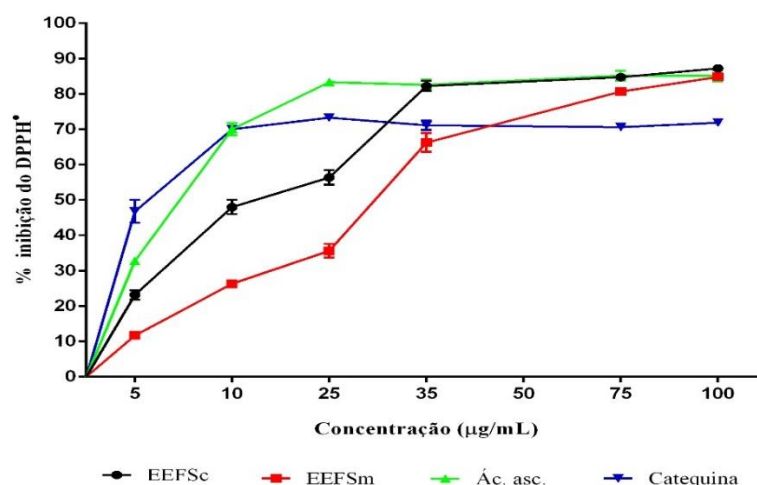
GAE/ 10 mg de extrato seco, respectivamente (Itam e Han, 2020).

As diferenças observadas entre os teores de fenois totais obtidos neste trabalho e os obtidos por outros estudos, podem estar relacionadas à superfície de contato das folhas, condições de extração, época de coleta das amostras e localização dos espécimes (Balyan et al., 2019). No entanto, os resultados apresentaram equivalência ao demonstrar boa quantidade de compostos fenólicos.

3.2 Ensaio da atividade sequestradora de radical livre DPPH•

Os resultados da atividade antioxidante dos extratos e dos controles positivos catequina e ácido ascórbico estão representados na Figura 5. Pode-se observar que a partir da concentração de 35 µg/mL o EEFS_c (Extrato Etanólico das Folhas de *Syzygium cumini*) inibiu 80 a 88 % do radical livre DPPH•, sendo estes valores maiores que os obtidos pela catequina. O EEFS_m (Extrato Etanólico das Folhas de *Syzygium malaccense*) na concentração de 100 µg/mL apresentou capacidade de inibição do radical maior que a catequina e próxima ao ácido ascórbico e EEFS_c. Os resultados revelaram uma atividade antioxidante melhor do EEFS_c (CI₅₀ de 13,32 µg/mL) em comparação com o EEFS_m (CI₅₀ de 26,78 µg/mL), porém ambos os extratos obtiveram valores de CI₅₀ maiores que os controles positivos ácido ascórbico (CI₅₀ de 11,4 µg/mL) e catequina (CI₅₀ de 2,3 µg/mL).

Figura 5: Atividade sequestradora de radical livre dos extratos etanólicos das folhas de *Syzygium cumini* e de *Syzygium malaccense*.



Valores expressos como média ± desvio padrão com $p < 0,05$ estatisticamente significativo. Legenda: EEFS_c - Extrato Etanólico das Folhas de *S. cumini*, EEFS_m - Extrato Etanólico das Folhas de *S. malaccense*, Ác. asc. - Ácido Ascórbico.

A capacidade de extratos das folhas de *S. cumini* inibirem o radical DPPH• já foi demonstrada em outros estudos. Ahmed et al. (2019) constataram que o extrato metanólico das folhas de *S. cumini* apresentou boa capacidade de inibição do radical com CI₅₀ de 133 µg/mL. Analisando a capacidade antioxidante de extratos alcoólicos das folhas de *S. cumini*, Lima et al. (2019) e Mubassara et al. (2014) evidenciaram uma boa inibição do radical DPPH• tendo como resultados, respectivamente, uma CI₅₀ de 9,85 µg/mL e uma inibição total de 70%. Ambos os autores destacam que esses resultados estão relacionados à presença de metabólitos secundários com propriedades antioxidantes, como os compostos fenólicos.

Trabalhos realizados com extratos metanólicos e suas frações também demonstraram a atividade antioxidante das folhas de *S. cumini*. Begum, Banerjee e De (2018) obtiveram CI₅₀ no valor de 20,18 µg/mL. Haroon, Jalani e Arshad (2015) avaliaram extratos metanólico, hexânico, clorofórmico e aquoso identificando um teor maior de compostos fenólicos nos extratos aquoso e metanólico, estes foram, também, os que tiveram maior efetividade na inibição do radical DPPH•.

Estudos realizados com extratos produzidos com as folhas de *S. malaccense* também já evidenciaram a capacidade antioxidante dessa planta. A presença de compostos fenólicos é considerada um fator determinante para a capacidade que esses extratos possuem de inibir a ação de radicais livres. Arunugam et al. (2014) avaliaram a capacidade antioxidante do extrato etanólico das folhas de *S. malaccense* usando três metodologias diferentes e obtiveram como resultados CI₅₀ de 16,65 µg/mL para o ensaio de inibição do DPPH•, CI₅₀ de 47,27 µg/mL para a capacidade de inibição do radical ABTS e CI₅₀ de 333,00 µg/mL para a capacidade de inibição do óxido nítrico.

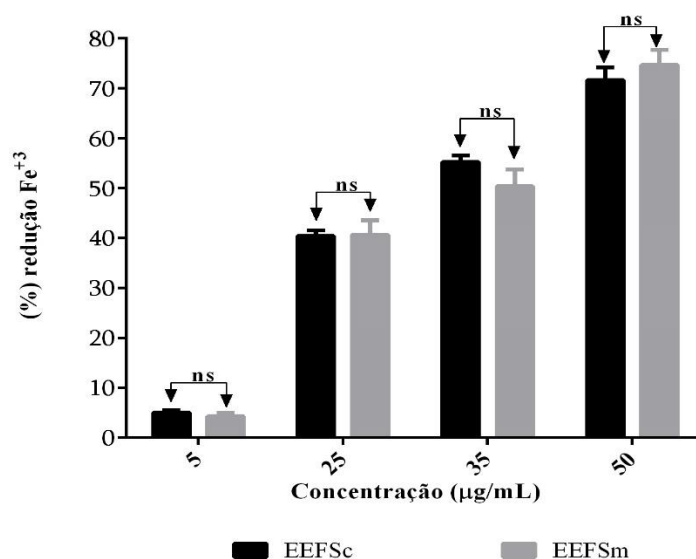
Extratos produzidos com folhas de *S. malaccense* e usando como solventes hexano, metanol e acetato de etila também já foram usados para avaliar a atividade antioxidante, sendo que o extrato metanólico foi o que obteve o melhor resultado (CI₅₀ 10,77 µg/mL) para o ensaio de inibição do radical livre DPPH• (Ramadhania et al., 2017).

De acordo com Phonqpaichit et al. (2007), extratos com CI₅₀ < 10 µg/mL podem ser considerados bons antioxidante, já os que possuem CI₅₀ 10 a 50 µg/mL possuem ação antioxidante moderada. Nesse contexto, os extratos etanólicos das folhas de *S. cumini* e *S. malaccense* são considerados como tendo uma capacidade antioxidante moderada, pois obtiveram CI₅₀ de 13,32 e 26,78 µg/mL, respectivamente.

3.3 Poder redutor de íon Fe^{+3}

Os resultados da atividade antioxidante, por meio da redução do Fe^{+3} , dos extratos estão representados na Figura 6. Pode-se observar uma capacidade redutora crescente, com o aumento das concentrações de ambos os extratos. O EEFS_c apresentou CI_{50} de 30,72 $\mu\text{g/mL}$ e o EEFS_m CI_{50} de 31,52 $\mu\text{g/mL}$. A redução do Fe^{+3} para Fe^{+2} inibe a participação do íon férrico em reações relacionadas ao estresse oxidativo. O controle positivo foi realizado com catequina na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$, a qual obteve porcentagem de redução no valor de 41,66 %. Valores de redução próximos ao da catequina foram obtidos na concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$, evidenciando que os extratos das duas plantas analisadas possuem capacidade de redução menor que o controle positivo.

Figura 6: Atividade redutora dos extratos etanólicos de *Syzygium cumini* e de *Syzygium malaccense*.



Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão com $p < 0,05$ estatisticamente significativo. Legenda: EEFS_c - Extrato Etanólico das Folhas de *S. cumini*, EEFS_m - Extrato Etanólico das Folhas de *S. malaccense*, Ác. Asc. – Ácido Ascórbico. ns – Não significativo.

Estudos anteriores já destacaram a capacidade redutora do íon Fe^{+3} de extratos produzidos com as folhas das espécies usadas neste estudo. Analisando a capacidade redutora de íon férrico para ferroso, Haroon et al. (2015) identificaram a atividade redutora do extrato metanólico das folhas de *S. cumini* e suas frações. Kaneira e colaboradores (2011) verificaram que extratos das folhas de *S. cumini* produzidos com diferentes solventes também possuem

capacidade redutora de íon Fe^{+3} e relacionaram tais resultados à presença de compostos fenólicos, pois esses compostos possuem capacidade de atuarem em mecanismos de redução por meio da doação de elétrons ou íons H^+ .

A ação redutora de extratos das folhas de *S. malaccense* também já foi evidenciada em trabalhos. Usando a metodologia FRAP, na qual verifica-se a capacidade do extrato em reduzir o íon Fe^{+3} presente no complexo $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{+3}$; Savi et al. (2019) e Batista et al. (2017) evidenciaram a capacidade de extratos das folhas de *S. malaccense* de promover a redução do íon férrico. Essa atividade também foi relacionada com a presença de compostos fenólicos.

Ao compararmos os resultados da atividade redutora obtidos no presente trabalho com os obtidos na literatura podemos perceber uma concordância, além de que a presença de compostos fenólicos também corrobora com os resultados observados.

3.4 Teste de toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*

No teste de toxicidade frente ao microcrustáceo foi obtida uma concentração capaz de matar 50% dos microcrustáceos (CL_{50}) de 857,28 e 786,60 $\mu\text{g/mL}$ para *S. malaccense* e *S. cumini* respectivamente. Meyer et al. (1982) classificaram extratos vegetais como não tendo toxicidade quando possuem CL_{50} maior que 1000 $\mu\text{g/mL}$ no teste de letalidade com *A. salina*. Nesse contexto, os extratos de *S. cumini* e *S. malaccense* podem ser considerados como tendo toxicidade de baixa a moderada.

Freitas et al. (2019), avaliando a toxicidade das folhas de *S. malaccense* obtiveram CL_{50} 537 $\mu\text{g/mL}$ e 564,34 $\mu\text{g/mL}$ para extratos aquosos e etanólicos respectivamente. Para o extrato etanólico o resultado foi próximo ao obtido no presente trabalho, evidenciando, também, uma toxicidade moderada do extrato.

Para *S. cumini*, Lima et al. (2019) analisaram a toxicidade frente a *A. salina* de extratos etanólicos das folhas obtendo CL_{50} de 616,50 $\mu\text{g/mL}$, resultado próximo ao obtido neste trabalho. Outras partes da planta foram analisadas em estudos de toxicidade frente ao microcrustáceo. Bitencourt et al. (2016), verificaram que extratos aquosos das sementes de *S. cumini* não apresentam toxicidade.

4. Conclusão

O extrato de *S. cumini* apresentou um teor maior de compostos fenólicos que o de *S. malaccense*. Nas análises da atividade antioxidante, foram obtidos resultados relevantes, podendo-se afirmar que os extratos são bons antioxidantes, especificamente em relação à capacidade de inibir a ação do radical DPPH• e de reduzir o íon Fe³⁺.

Em relação à toxicidade, ambos os extratos apresentaram toxicidade de baixa a moderada frente ao microcrustáceo *Artemia salina*.

Os resultados obtidos evidenciaram que os extratos de *S. cumini* e *S. malaccense* possuem quantidade de compostos fenólicos que lhes conferem expressivas bioatividades que corroboram com o uso na medicina popular. No entanto, são necessários testes experimtnais *in vivo* e farmacológicos para elucidação dos mecanismos de ação e viabilidade terapêutica desses extratos.

Referências

- Ahmed, R., Tariq, M., Hussain, M., Andleeb, A., Masoud, M.S., Ali, I., Mraiche, F., Hasan, A., 2019. Phenolic contents-based assessment of therapeutic potential of *Syzygium cumini* leaves extract. Plos one 10, 1-16.
- Arumugam, B., Manaharan, T., Heng, C.K., Kuppusamy, U.R., Palanisamy, U.R., 2014. Antioxidant and antiglycemic potentials of a standardized extract of *Syzygium malaccense*. LWT - Food Science and Technology 59, 707-712. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.041>.
- Baliga, M.S., Bhat, H.P., Baliga, B.R.V., Wilson, R., Palatty, P.L., 2011. Phychemistry, tradicional uses and pharmacology of *Eugenia jambolona* Lam. (black plum): A reviw. Food research international 44, 1776-1789. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.007>.
- Balyan, V., Verma, S.P., Sarkar, B., 2019. Phenolic compounds from *Syzygium cumini* (L.) Skeels leaves: Extraction and membrane purification. Journal of Applied Reseach on Medicinal and Aromatic Plants 12, 43-58. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.12.002>.
- Batista, A.G., Silva, J.K., Cazarin, C.B.B., Biasoto, A.C.T., Sawaya, A.C.H.F., Prado, M.A., Júnior, M.R.M., 2017. Red-jambo (*Syzygium malaccense*): Bioactive compounds in fruits and

leaves. LWT - Food Science and Technology 76, 284-291. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.013>.

Begum, S., Banerjee, A., De, B., 2018. Analysis of Antioxidant Activities, Phenolic and Other Metabolites of Some Biomass Waste (Leaves) of India. Free Radicals and Antioxidants 8, 102-110. Disponível em: <http://fulltxt.org/article/631>. Acessado em: 11 nov 2020.

Bitencourt, P.E.R., Ferreira, L.M., Lariane O.Cargnelutti, L.O., LauraDenardi, L., Boligon, A., Fleck, M., Brandão, R., Athayde, M.L., Cruz, L., Zanette, R.A., Alves, S.H., Moretto, M.B., 2016. A new biodegradable polymeric nanoparticle formulation containing *Syzygium cumini*: Phytochemical profile, antioxidant and antifungal activity and *in vivo* toxicity. Industrial Crops and Products 83, 400-407. <https://dx.doi.org/10.1080%2F13880209.2017.1283338>.

Chhicara, N., Kaur, R., Jaglan, S., Sharma, P., Gat, Y., Panghal, A., 2018. Bioactive compounds and pharmacological and food applications of *Syzygium cumini* – a review. Food & Function 9, 6096–6115. <https://doi.org/10.1039/C8FO00654G>.

Choi, J.H.J.L., Sam, S.K., 1994. *Alatemin*, *Cassiaside* and *Rubrofusarin gentiobioside*, Radical Scavenging Principles from the Seeds of *Cassia tora* on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Radical. Archives of Pharmacal Research 17, 462-466. <https://doi.org/10.1007/bf02979126>.

Freitas, V.M., Pires, C.G.O., Silva, B.R., Neto, A.C.N., Romão, N.F., Vallejo, N.M., 2019. Avaliação da atividade toxica e citotóxica de extratos da planta *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & Perry. South American Journal of Basic Education, Technical and Technologica 6, 67-80. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/2253/1556>. Acessado em: 15 dez 2019.

Haroon, R., Jalani, S., Arshad, F.T., 2015. Comparative analysis of antioxidant profiles of bark, leaves and seeds of *Syzygium cumini* (Indian Blackberry). Internation journal of research – granthaalayah 3, 11-22. <https://doi.org/10.5281/zenodo.883559>.

Hidayti, A.R., Sauriasari, R., Elya, B., 2020. Arginase inhibitory and antioxidant activities in *Syzygium cumini* (L.) Skeels leaves extracts collected from three different locations of java. Pharmaceutical Sciences Asia 47, 65-73. <https://doi.org/10.29090/psa.2020.01.018.0058>.

Itam, A., Lailatul Anna, L., 2020. Antioxidant activities, cytotoxic properties and total phenolic content of *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry leaves extracts: A West Sumatera Indonesian plant. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 33, 175-181. <http://doi.org/10.36721/PJPS.2020.33.1.REG.175-181.1>.

Kaneira, M., Chanda, S., 2011. Evaluation of antioxidant and antimicrobial capacity of *Syzygium cumini* L. leaves extracted sequentially in different solvents. *Journal of Food Biochemistry* 37, 168-176.

Lima, R.M., Polonini, H.C., Brandão, M.A.F., Raposo, F.J., Dutra, R.C., Raposo, N.R.B., 2019. *In vitro* assessment of anti-aging properties of *Syzygium cumini* (L.) leaves extract. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research* 13, 10185-10189. <http://dx.doi.org/10.26717/BJSTR.2019.13.002447>.

Luo, J., Mills, K., Cessie, S., Noordam, R., Heenst, D.V., 2020. Aging, age-related diseases and oxidative stress: what to do next? *Ageing Research Reviews* 57, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100982>.

Matos, F.J.A., 2009. *Introdução à fitoquímica experimental*, terceira ed. UFC, Fortaleza.

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobson, L.B., Nichols, D.E., MacLoughlin, J.L., 1982. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Médica* 45, 31-34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>.

Minnoti, G., Aust, S.D., 1987. An investigation into the mechanism of citrate-Fe⁺²-dependent lipid peroxidation. *Free Radical Biology & Medicine* 3, 379-387. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(87\)90016-5](https://doi.org/10.1016/0891-5849(87)90016-5).

Mubassara, S., Biawas, K.K., Hasan, M.Md., Hossaim, I.Md., Paul, S., 2014. *In vitro* Phytochemical, Antibacterial and Antioxidant Analyses in Different Plant Parts of *Syzyium cumini*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 7, 150-155.

Disponível em: <http://impactfactor.org/PDF/IJPPR/7/IJPPR,Vol7,Issue1,Article23.pdf>.
Acessado em: 10 dez 2019.

Nuutila, A.M., Aami, M., Puupponen-Pimiä, R., Oksman-caldentey, K., 2003. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chemistry* 81, 485-493. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00476-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00476-4).

Piris, J.S., Torres, P.B., Santos, D.Y.A.C., Chow, F., 2017. Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocolteu para extrato de algas. ISBN 978-85-85658-70-0. Disponível em:
https://www2.ib.usp.br/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=73&tmpl=component&format=raw&Itemid=98. Acessado em: 20 nov 2019.

Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., Rukachaisirikul, V., Kirtikara, K., 2007. Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants. *Immunology & Medical Microbiology* 51, 517–525. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00331.x>.

Ramadhania, Z.M., Insanu, M., Gunarti, N.S., Wirasutisna, K.R., Sukrasno, S., Hartati, R., 2017. Antioxidant activity from ten species of Myrtaceae. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 10, 1-6. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10s2.19470>.

Rahaiee, S., Assadpour, E., Esfanjani, A.F., Silva, S.A., Jafari, S.M., 2020. Application of nano/microencapsulated phenolic compounds against cancer. *Advances in Colloid and Interface Science* 279, 1-51. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102153>.

Savi, A., Calegari, M.A., Calegari, G.C., Santos, V.A.Q., Wermuth, D., Cunha, M.A.A., Oldoni, T.L.C., 2019. Bioactive compounds from *Syzygium malaccense* leaves: optimization of the extraction process, biological and chemical characterization. *Acta Scientiarum* 42, 1-9. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v42i1.46773>.

Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R., 2017. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Artmed, Porto Alegre.

Singh, B., Singh, J.P.; Kaur, A., Singh, N., 2018. Insights into the phenolic compounds present in jambolan (*Syzygium cumini*) along with their health-promoting effects. International Journal of Food Science & Technology 53, 1-17.

Singleton, V.L., Rossi, J.R., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American of Journal Enology and Viticulture 16, 144-158.

Soares, J.J., Rosa, A.S., Motta, P.R., Cibin, F.W.S., Roehrs, R., Denardin, E.L.G., 2019. Protective role of *Syzygium cumini* leaf extracts against paraquat-induced oxidative stress in superoxide-dismutase-deficient *Saccharomyces cerevisiae* strains. Acta Scientiarum 41, 1-12. [https://doi.org/ 10.4025/actascibiols.v41i1.47139](https://doi.org/10.4025/actascibiols.v41i1.47139).

Zhang, B., Deng, Z., Ramdath, D.D., Tang, Y., Chen, P.X., Liu, R., Liu, Q., Tsao, R., 2015. Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on α -glucosidase and pancreatic lipase. Food Chemistry 172, 862–872. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.144>.

Declaração de interesse

Esta pesquisa não recebeu nenhum subsídio específico de agências financiamento de setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

Highlights

1. Os extratos usados possuem capacidade de inibir o radical 2,2, difenil-1-picril-hidrazil;
2. Os compostos fenólicos estão presentes em quantidades consideráveis;
4. Os extratos possuem baixa-moderada toxicidade.

3.2 Artigo 2: Perfil químico, atividade antimicrobiana e efeito modulador de antibióticos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels e *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry

Artigo submetido ao periódico: Acta Botanica Brasilica

Link para acesso: <http://acta.botanica.org.br/>

ISSN 1677-941X

Qualis em Biodiversidade: B2

Fator de Impacto: 1.048



Artigo original

Perfil químico, atividade antimicrobiana e efeito modulador de antibióticos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels e *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry

Diêgo de Sá Lima^{1,2,*} - ORCID: 0000-0003-4283-6992

Alexandro Rodrigues Dantas¹ - ORCID: 0000-0002-3385-5991

Cicera Janaine Camilo¹ - ORCID: 0000-0003-0374-9589

Débora Lima Sales¹ - ORCID: 0000-0002-3169-0169

Débora Odília Duarte Leite¹ - ORCID: 0000-0003-3557-8366

Fabrina de Moura Alves Correia³ - ORCID: 0000-0002-7360-0619

Fázia Fernandes Galvão Rodrigues¹

Jaime Ribeiro-Filho⁴ – ORCID: 0000-0003-3126-6509

José Galberto Martins da Costa¹ – ORCID: 0000-0003-4268-663X

Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues^{1,2,3} – ORCID: 0000-0003-3901-6758

¹Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato, Ceará, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais (PPGDR), Crato, Ceará, Brasil.

³Programa de Pós-graduação em Ensino em Saúde, CentroUniversitário Doutor Leão Sampaio (UNILEÃO), Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil.

⁴Instituto Gonçalo Moniz (IGM) – FIOCRUZ, Salvador, Bahia, Brasil.

*Autor para correspondência: Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato, Ceará, Brasil. E-mail: d.sa.lima@bol.com.br

Resumo

Syzygium cumini (L.) Skeels e *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry, popularmente conhecidas como oliveira e jambo-vermelho, respectivamente, são ambas usadas na medicina tradicional para tratar infecções bacterianas e fúngicas. A prospecção fitoquímica foi realizada para detectar as classes de metabólitos secundários. A atividade antibacteriana foi analisada pela determinação da concentração inibitória mínima (CIM) contra as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10051) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). A concentração capaz de inibir 50% do crescimento fúngico (CI₅₀) e a concentração fungicida mínima (CFM) contra *Candida albicans* e *Candida tropicalis* foram determinadas. A capacidade dos extratos em modular a resistência antimicrobiana foi avaliada em associação com drogas antibacterianas e fluconazol. A prospecção fitoquímica revelou presença de fenois, taninos hidrolisáveis, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononois, leucoantocianidinas e catequinas em ambos os extratos. Os extratos de *S. cumini* e *S. malaccense* apresentaram valores de CIM de 512 e acima de 1024 µg/mL, respectivamente, contra todas as cepas bacterianas. Os extratos apresentaram baixa atividade antifúngica intrínseca, aumentaram a atividade antibacteriana dos antibióticos, além de terem potencializado a atividade do fluconazol. Em conclusão, *Syzygium cumini* e *Syzygium malaccense* apresentam atividades antimicrobianas promissoras, além de modularem a resistência aos antimicrobianos, corroborando para o uso dessas plantas no desenvolvimento de fármacos direcionados ao combate à resistência antimicrobiana.

Palavras-chave: Antibacterianos, Antifúngicos, Resistência antimicrobiana, Myrtaceae.

Introdução

A biodiversidade brasileira se destaca como fonte notável de compostos bioativos, cuja identificação tem sido significativamente influenciada pelo conhecimento associado ao uso de espécies de plantas na medicina tradicional (Valle & Bolzani 2019). As plantas medicinais são espécies vegetais que produzem metabólitos secundários com propriedades farmacológicas, o que as tornam úteis à prevenção e ao tratamento de doenças (JC Cardoso, Oliveira & FCI Cardoso 2019; Lacerda-Neto *et al.* 2019).

Nesse contexto, estudos anteriores demonstraram as propriedades farmacológicas de espécies de *Syzygium*. Nativa da Índia, *S. cumini* (L.) Skeels (*Syzygium jambolana* Dc, *Eugenia cumini* e *Eugenia jambolana* Lam.) é uma planta amplamente encontrada no Brasil. Estudos têm demonstrado que esta espécie possui propriedades hipoglicêmicas, antimicrobianas, anticâncer, diuréticas, cardiotônicas, anti-inflamatórias, estimulantes, anticonvulsivantes, anti-hemorrágicas e antiescorbúticas, que podem estar relacionadas à presença de constituintes químicos como flavonoides, alcaloides e taninos (Blair *et al.* 2015; Boovaragamoorthy *et al.* 2019; Carvalho *et al.* 2019). Pesquisas anteriores também indicaram que *S. malaccense*, popularmente conhecida como jambo-vermelho, possui propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e hipoglicêmicas, que podem ser atribuídas à ação de constituintes como flavonóis, catequinas, antocianinas, taninos e carotenoides (Baliga *et al.* 2011; Whu 2015). A presença de constituintes com significativa ação biológica indica que essas espécies podem ser fontes promissoras de moléculas úteis ao desenvolvimento de agentes terapêuticos para o tratamento de problemas de saúde atuais.

A resistência aos antimicrobianos representa uma importante preocupação médica, uma vez que as taxas de mortalidade por doenças infecciosas aumentaram significativamente nos últimos anos (Migliato *et al.* 2007). A resistência aos antimicrobianos convencionais

desenvolvida por microrganismos como bactérias, fungos e vírus resulta de mudanças genéticas que promovem o desenvolvimento de características (expressão de bombas de efluxo, alterações no sítio ativo e produção de enzimas degradativas) que os tornam capazes de inibir a ação de fármacos. (Batista *et al.* 2017; Singh *et al.* 2018; Freitas *et al.* 2019).

Portanto, considerando as evidências de que *Syzygium cumini* e *Syzygium malaccense* possuem constituintes com potencial atividade antimicrobiana, este estudo teve como objetivos identificar as classes de metabólitos secundários, bem como caracterizar as propriedades antibacterianas e antifúngicas *in vitro* dos extratos etanólicos obtidos das folhas dessas espécies, sozinho ou em combinação com agentes antimicrobianos convencionais.

Materiais e métodos

Material botânico

As folhas de *Syzygium malaccense* foram coletadas no jardim da Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato, Brasil (S 7° 14'16,8" W 39° 24'57,8"), enquanto as folhas de *Syzygium cumini* foram coletadas no jardim da Escola de Ensino Fundamental Edward Teixeira Ferrer, Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil (S 7° 13'04,0" W 39° 18'46,8"). Foram preparadas uma exsicata de cada espécie e estas foram depositadas e registradas no herbário da Universidade Regional do Cariri.

Para a preparação dos extratos etanólicos, as folhas secas de *S. malaccense* (133,47 g) e *S. cumini* (151,03 g) foram maceradas em etanol P.A. por 72 h (Matos 2009). Os extratos foram filtrados em papel filtro, evaporados em evaporador rotativo à 60 °C sob pressão reduzida, pesados e armazenados em temperatura ambiente.

Prospecção química

Foram preparadas soluções usando-se 300 mg de cada extrato e 30 mL de etanol P.A. Alíquotas de 3 mL de cada extrato foram transferidas para tubos de ensaio e a presença de classes específicas de metabólitos secundários foi analisada pela observação de precipitação ou mudança na cor da solução do extrato após adição de reagentes específicos (Matos 2009; Simões *et al.* 2017).

Linhagens, culturas e tratamento

Cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10051) e cepas fúngicas de *Candida albicans* (40006) e *Candida tropicalis* (40042) foram obtidas do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS, FIOCRUZ, RJ). As cepas bacterianas e fúngicas foram cultivadas em *Heart Infusion* Ágar (HIA) e *Sabouraud Dextrose* Ágar (SDA), respectivamente, à 37 °C por 24 h. As amostras foram transferidas do meio sólido para tubos de ensaio contendo soro fisiológico estéril e a turbidez foi avaliada usando um valor de 0,5 na escala de McFarland, correspondendo a 10⁸ UFC (NLCC 2002).

As soluções matriciais dos extratos foram preparadas usando-se 10 mg dissolvidos em 1 mL de DMSO para atividade antibacteriana e 200 mg dissolvidos em 2 mL de DMSO para atividade antifúngica. Estas soluções foram diluídas em água destilada estéril até atingir concentração de 1.024 µg/mL para bactérias e 16.384 µg/mL para fungos. Os fármacos de referência foram diluídos em água destilada estéril. Para betalactolactâmicos (benzilpenicilina e cefalotina) e aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina) foi obtida uma concentração matricial de 1.024 µg/mL. Para fluconazol a concentração matricial foi de 16.384 µg/mL.

Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

Após incubação, uma solução 1:10 de cada cultura bacteriana foi preparada em tubos de ensaio, pela adição de 150 µL de inóculo e 1.350 µL de BHI (*Brain Heart Infusion*) 10%. Um total de 100 µL desta solução foi transferido para cada poço de uma placa de 96 poços. Em seguida, cada poço foi adicionado com 100 µL do tratamento correspondente diluído em série (1:2) em concentrações que variam de 512 a 8 µg/mL. Poços contendo apenas o inóculo em BHI foram usados como controle de crescimento (Javadpour *et al.* 1996). As placas de 96 poços foram incubadas em estufa à 37 °C por 24 h. O crescimento bacteriano foi analisado adicionando 25 µL de resazurina sódica a cada poço e incubando a placa em temperatura ambiente por 1 h. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano, observada pela alteração da cor da solução. Todos os experimentos foram realizados em triplicata (CLSI 2013).

Análise da modulação da resistência a antibacterianos

Para analisar os efeitos dos extratos etanólicos de *S. malaccense* (EESm) e *S. cumini* (EESc) na resistência aos antibióticos betalactâmicos (benzilpenicilina e cefalotina) e aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina), esta pesquisa seguiu a metodologia proposta por Coutinho e colaboradores (2008) com adaptações. Para tanto, soluções com inóculo bacteriano foram preparadas em meio BHI com cada extrato em concentração equivalente à $CIM \div 8$. Os poços em uma placa de 96 poços foram preenchidos com 100 µL destas soluções e, em seguida, antibióticos foram adicionados, por diluição em série, aos poços em concentrações variando de 512 a 0,5 µg/mL. Uma redução na CIM dos antibióticos pelos extratos foi interpretada como aumento da atividade antibiótica (modulação da resistência aos antibióticos). Os controles

experimentais e os valores de CIM para cada antibiótico, na presença ou ausência dos extratos, foram determinados conforme descrito no subtópico anterior.

Análise de viabilidade celular e determinação de CI₅₀ contra cepas de *Candida*

Para analisar a viabilidade celular das cepas fúngicas após tratamento com os extratos, cada poço de uma placa de 96 poços foi preenchido com 100 µL de meio SDB (*Sabouraud Dextrose Broth*) duplo concentrado contendo 10% do inóculo fúngico. Em seguida, 100 µL de extrato ou fluconazol (controle antifúngico padrão) foram adicionados ao primeiro poço, seguido por diluições em série para atingir concentrações que variam de 8.192 a 8 µg/mL. Poços contendo apenas o inóculo no meio SDB foram usados como controle de crescimento (Javadpour *et al.* 1996). Controles de diluição, nos quais o inóculo foi substituído por cloreto de sódio 0,9 % e meio estéril, também foram usados. As placas foram incubadas à 37° C por 24 horas e, em seguida, as leituras foram realizadas à 630 nm em espectrofotômetro (Moraes-Braga *et al.* 2016). Os dados foram usados para determinar a viabilidade celular e calcular a CI₅₀ de cada tratamento.

Determinação da concentração fungicida mínima (CFM)

A concentração fungicida mínima (CFM) foi avaliada conforme descrito por Ernest *et al.* (1999) com modificações. O conteúdo de cada poço das placas utilizadas no teste anterior (exceto os poços controle) foi homogeneizado com um bastão estéril e cultivado em uma placa de Petri contendo meio de cultura *Sabourand Dextrose Ágar* (SDA). As placas foram incubadas à 37 °C por 24 h e o crescimento de colônias de *Candida* nas placas foi analisado. A CFM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento de colônias de fungos.

Análise da modulação da resistência ao fluconazol

A análise da modulação da resistência ao fluconazol foi realizada conforme descrito anteriormente (Coutinho *et al* 2008). Resumidamente, cada poço de uma placa de 96 poços foi preenchido com 100 µL de meio SDB duplo concentrado contendo 10% do inóculo fúngico e extratos em concentrações subinibitórias (equivalente ao seu CFM÷16). Em seguida, 100 µL de fluconazol foram adicionados ao primeiro poço, seguido por diluições em série para atingir concentrações que variam de 8.192 a 8 µg/mL. Poços sem fluconazol foram usados como controles de crescimento (Javadpour *et al.* 1996). Foram feitos os controles de diluição com cloreto de sódio a 0,9 % ao em vez do inóculo. As placas foram incubadas à 37 °C por 24 horas e, em seguida, as leituras foram realizadas à 630 nm em espectrofotômetro (Moraes-Braga *et al.* 2016). Os dados foram usados para determinar a viabilidade celular e calcular a CI₅₀ de cada tratamento.

Análise estatística

Os dados são expressos como médias ± desvio padrão. A significância estatística foi determinada usando ANOVA de uma via com o teste *post hoc* de Bonferroni. Todos os experimentos foram realizados em triplicata (bactérias), quadruplicata (fungos) e analisados usando Graphpad Prism versão 6.0.

Resultados

Prospecção química

O extrato de *S. cumini* obteve rendimento de 4,2% e o extrato de *S. malaccense* de 13,41%. A prospecção evidenciou presença de taninos e flavonoides (Tabela 1), não revelando diferenças químicas entre as espécies analisadas.

Análise antibacteriana

Os resultados evidenciaram que o Extrato Etanólico de *S. cumini* (EESc) possui ação antimicrobiana frente às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas testadas. Tal fato não pode ser aplicado aos resultados obtidos para o Extrato Etanólico de *Syzygium malaccense* (EESm), pois não foi verificada uma CIM dentre as concentrações analisadas (Tabela 2).

Efeitos dos extratos de *S. cumini* e *S. malaccense* na resistência aos antibacterianos

Os efeitos dos extratos sobre a resistência aos antibióticos foram avaliados pela determinação da CIM de cada antibiótico na presença ou ausência dos produtos naturais (Figura 1). A associação do EESc com antibióticos betalactâmicos contra *K. pneumoniae* não resultou em alteração significativa da atividade antibiótica. Por outro lado, os efeitos desses antibióticos contra *S. aureus* foram significativamente potencializados, bem como contra *P. aeruginosa*, exceto para a cefalotina, cuja associação resultou em efeito antagônico. Em relação à atividade dos aminoglicosídeos, constatou-se que o extrato potencializou a ação dos antibióticos em todas as associações avaliadas neste estudo. Ressalta-se que o efeito sinérgico mais significativo foi observado na associação do extrato com amicacina contra *P. aeruginosa*, causando uma redução da CIM em cerca de 97%, indicando uma potente modulação da resistência a esse antibiótico.

A associação do EESm com antibióticos contra *S. aureus* não resultou em melhora da

atividade antibiótica, exceto para gentamicina. Por outro lado, o extrato potencializou a atividade de betalactâmicos e aminoglicosídeos contra *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*. O efeito sinérgico mais significativo foi observado na associação do extrato com gentamicina contra *K. pneumoniae*, causando uma redução da CIM em cerca de 69%.

Atividade antifúngica de *Syzygium cumini*

As curvas de viabilidade celular de *C. albicans* e *C. tropicalis* na presença de diferentes tratamentos são mostradas na Figura 3. O tratamento com EESc causou pouca inibição no crescimento de ambas as cepas em relação ao controle (fluconazol). Em concordância, o extrato apresentou valores de CFM acima de 16.384 µg/mL contra ambas as cepas, indicando baixa atividade antifúngica intrínseca. Entretanto, a associação de fluconazol com a concentração subinibitória do extrato, frente *C. albicans*, potencializou a ação do fármaco controle em concentrações acima de 1.024 µg/mL. Esses achados são corroborados pelos dados apresentados na Tabela 3, que mostra redução da CI₅₀ do fluconazol quando associado ao EESc. Por outro lado, esse extrato antagonizou a atividade do fluconazol contra *C. tropicalis* a partir de 126 µg/mL (Figura 3), aumentando a CI₅₀ do fármaco padrão (Tabela 4).

Atividade antifúngica de *Syzygium malaccense*

Quanto ao tratamento com EESm não houve inibição relevante do crescimento de *Candida* (valores de CFM acima de 16.384 µg/mL para ambas as cepas). No entanto, a associação do fluconazol com a concentração subinibitória desse extrato potencializou significativamente o efeito antifúngico do fármaco contra ambas as cepas (Figura 4). Esses achados são corroborados pelos dados apresentados nas Tabelas 3 e 4, que mostram redução da

1 CI₅₀ do fluconazol quando associado ao EESm contra *C. albicans* e *C. tropicalis*.

3 Discussão

5 O presente estudo realizou a prospecção fitoquímica e caracterizou as propriedades
6 antimicrobianas dos extratos etanólicos das folhas de *S. cumini* e *S. malaccense*, obtidos por
7 maceração. Os rendimentos obtidos em nossa pesquisa diferem ligeiramente daqueles
8 encontrados por outros autores (Arumugam *et al.* 2014; Lima *et al.* 2019), o que pode ter
9 ocorrido devido às diferenças nas condições de extração e fatores ambientais, que por sua vez
10 podem causar alterações quantitativas e qualitativas no conteúdo de metabólitos secundários e
11 outros componentes químicos, afetando o rendimento dos extratos (Gobo-Neto & Lopes 2007).

12 A prospecção fitoquímica identificou, em ambas as plantas, compostos fenólicos
13 comumente encontrados nas espécies de *Syzygium*, os quais têm sido reconhecidos como
14 metabólitos bioativos, corroborando com as propriedades medicinais relatadas na medicina
15 popular. Nesse contexto, flavonoides e taninos têm conhecida ação antimicrobiana, anti-
16 inflamatória e antioxidante (Ahmad *et al.* 2015; Olives-Aguirre *et al.* 2015; Chaves *et al.* 2018;
17 Chhikara *et al.* 2018). Pesquisas anteriores identificaram a presença de flavonoides (como
18 catequinas) e taninos nas folhas de *S. cumini*, corroborando com os dados apresentados neste
19 trabalho (Timbola *et al.* 2002; Ayyinar & Babu 2012; Chhikara *et al.* 2018). No entanto, ao
20 contrário de nossos dados, ácidos fenólicos e alcaloides foram identificados anteriormente nesta
21 espécie (Senthilkumar *et al.* 2017; Hidayti *et al.* 2020). Sobre *S. malaccense*, estudos
22 identificaram flavononóis, taninos e catequinas em extratos obtidos das folhas desta espécie,
23 corroborando com os dados da prospecção fitoquímica. A presença desses compostos
24 farmacologicamente ativos está de acordo com o uso tradicional das folhas de *S. malaccense*
25 para o tratamento de doenças inflamatórias e infecciosas (Lago *et al.* 2011; Batista *et al.* 2017;

Patel *et al.* 2019).

A presença de flavonoides e taninos nos extratos de *S. cumini* e *S. malaccense* indica fortemente que essas espécies possuem propriedades antibacterianas. Evidências indicam que esses compostos fenólicos podem inibir a duplicação do DNA, alterar a permeabilidade da membrana plasmática e afetar o metabolismo energético das bactérias (Cushnie & Lamb 2005, Coppo & Marchese 2014; Barbieri *et al.* 2017; Simões *et al.* 2017). Porém, apenas *S. cumini* apresentou valores de CIM abaixo de 1000 µg/mL e, como tal, tem potencial para aplicação clínica (Houghton *et al.* 2007).

A atividade antibacteriana de extratos obtidos das folhas de *S. cumini* foi evidenciada em estudos anteriores. Oliveira *et al.* (2007) demonstraram que esta espécie apresentou atividade clinicamente eficaz contra cepas de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, que foi correlacionada com a presença de taninos, entre outros compostos fenólicos. O extrato etanólico desta espécie apresentou potente atividade antibacteriana contra várias cepas de *S. aureus*, com valores de CIM variando de 6,25 a 12,5 µg/mL (Imram, Imram & Khan 2017). De acordo com Elamarimi *et al.* (2019) extratos metanólico e acetato de etila das folhas mostraram atividade antibacteriana significativa contra *P. aeruginosa* e *S. aureus*. A atividade do extrato etanólico do fruto de *S. cumini* contra *S. aureus*, *S. aureus* resistente à meticilina, *Escherichia coli* e *P. aeruginosa* obteve valores de CIM iguais ou inferiores a 2 µg/mL, indicando uma boa ação antibacteriana. Tem sido sugerido que as propriedades antibacterianas dessa espécie podem estar relacionadas à ação direta de polifenóis na membrana plasmática bacteriana (Xu *et al.* 2014; Singh *et al.* 2016).

Enquanto que no presente estudo não foi verificada atividade antibacteriana intrínseca para *S. malaccense*, Bouzada *et al.* (2009), usando o método de difusão em ágar, demonstraram que o extrato metanólico das folhas desta espécie apresentou atividade clinicamente relevante contra várias bactérias patogênicas, incluindo *P. aeruginosa*, *Bacillus cereus* e *Shigella sonnei*.

1 No entanto, essas diferenças podem ser justificadas com base no tipo de extrato e método de
2 análise.

3 O surgimento de micro-organismos multirresistentes a medicamentos tem atraído a
4 atenção de pesquisadores para busca de novas substâncias bioativas (Moloney 2016). Nesse
5 contexto, a descoberta de extratos e compostos capazes de potencializar a atividade de drogas
6 convencionais representa uma estratégia promissora ao combate à resistência antimicrobiana.
7 Evidências indicam que produtos naturais podem modular a resistência aos antibióticos
8 principalmente por causarem alterações na permeabilidade da membrana (o que facilita a
9 penetração dos antibióticos) e inibirem a atividade/expressão das bombas de efluxo (o que
10 impede a extrusão ativa de um medicamento) (Lamb 2011; Tintino *et al.* 2016; Seuкеp *et al.*
11 2019).

12 Por outro lado, os efeitos antagônicos podem ocorrer quando produtos naturais
13 bloqueiam a ligação de um antibiótico ao seu sítio ativo, bem como quando aumentam o efluxo
14 de um medicamento, resultando em concentrações intracelulares subterapêuticas (Cristo *et al.*
15 2016; Siebra *et al.* 2018; Wang *et al.* 2018).

16 Como pesquisas anteriores demonstraram que os compostos flavonas, flavonoides,
17 xantonas, chalconas, auronas e catequinas podem atuar como substâncias potencializadoras de
18 antibióticos (Silveira *et al.* 2017), hipotetizamos que a presença desses compostos nos extratos
19 avaliados no presente estudo pode ter contribuído para os efeitos do EESc e EESm na
20 resistência aos antibióticos.

21 Estudos anteriores mostraram que espécies de *Syzygium* têm componentes capazes de
22 modular a resistência aos antibióticos. Mahomoodally e colaboradores (2020) demonstraram
23 que o extrato de *Syzygium coriaceum* potencializou a atividade de antibióticos como a
24 ampicilina e estreptomicina contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Nesse sentido, Wamba *et al.*
25 (2018) demonstraram que extratos obtidos de *Syzygium jambos* foram capazes de potencializar

a ação de antibióticos betalactâmicos, aminoglicosídeos e quinolonas contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, corroborando com os dados obtidos neste trabalho.

Neste estudo, demonstrou-se que nenhuma das espécies investigadas apresenta atividade antifúngica intrínseca clinicamente eficaz. No entanto, ambas as espécies modularam, embora de forma diferenciada, a atividade do fluconazol contra cepas de *Candida*. Khan *et al.* (2017) demonstraram a atividade antifúngica do extrato etanólico obtido das folhas de *S. cumini* contra várias cepas de *Candida* oriundas de isolados clínicos. Pareek e colaboradores (2015) observaram que os extratos metanólico e aquoso das folhas dessa espécie também são ativos contra *C. albicans*. Além disso, estudos sugerem que o caule (Cartaxo-Furtado *et al.* 2015) e os frutos (Singh *et al.* 2016) desta espécie possuem componentes com atividade antifúngica contra *C. albicans*. Porém, no que se refere à atividade antifúngica de *S. malaccense*, os resultados obtidos neste trabalho são inéditos na literatura.

Evidências consistentes demonstraram a eficácia dos produtos naturais como moduladores da resistência ao fluconazol em cepas de *Candida* (Hirasawa & Takada 2004; Morais-Braga *et al.* 2016; Selleem, Pardi & Murata 2017). Apesar da falta de estudos avaliando a atividade de potencialização antifúngica de espécies pertencentes ao gênero *Syzygium*, um grande corpo de trabalhos encontrou resultados promissores com espécies da família Myrtaceae, como *Psidium guajava* e *Psidium brownianum* (Morais-Braga *et al.* 2016), cujas atividades foram atribuídas à presença de compostos fenólicos. Nesse contexto, compostos fenólicos como catequina apresentam efeitos sinérgicos quando associados ao fluconazol contra *C. albicans* (Scorzini *et al.* 2016). Além disso, já foi demonstrado que os flavonóis potencializam a atividade antifúngica desse fármaco contra cepas de *Candida* (Santos *et al.* 2018). Portanto, sugere-se que a presença de compostos fenólicos como catequina e flavonóis poderia justificar os resultados obtidos a partir da associação dos extratos de *S. cumini* e *S. malaccense* com o fluconazol.

Apesar dos resultados promissores obtidos em associação ao fluconazol, os extratos de *S. cumini* e *S. malaccense* não apresentaram atividade fungicida intrínseca. Esses resultados são corroborados por pesquisas anteriores demonstrando que plantas pertencentes à família Myrtaceae (incluindo *S. cumini*) atuaram como fungistáticas, mas não como fungicidas contra cepas de *Candida* (Pereira *et al.* 2016; Moraes-Braga *et al.* 2017).

Conclusão

Os extratos das folhas de *S. cumini* e *S. malaccense* possuem uma variedade de classes de compostos fenólicos com atividades antimicrobiana.

O extrato etanólico das folhas de *Syzygium cumini* apresentou atividade antibacteriana intrínseca e potencialização de antibióticos, além de modular a resistência ao fluconazol em *C. albicans*. Já o extrato etanólico das folhas de *Syzygium malaccense* não apresentou atividade bacteriana intrínseca. Verificou-se que o extrato modula a resistência aos antibacterianos, além de potencializar a ação do fluconazol contra cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis*.

Os dados obtidos na presente pesquisa sugerem que as propriedades antimicrobianas desses extratos podem resultar, pelo menos parcialmente, da ação combinada de compostos fenólicos, embora estudos adicionais sejam necessários para avaliar a contribuição de constituintes isolados para a atividade farmacológica das espécies em investigação. .

Referências

Ahmad A, Kallem M, Ahmed Z, Shafiq H. 2015. Therapeutic potential of flavonoids and their mechanism of action against microbial and viral infections-a review. Food Research International 77: 221-235.

Arumugam B, Manaharan T, Hang CK, Kuppusamy UR, Palanisamy UD. 2014. Antioxidant

and antiglycemic potentials of a standardized extract of *Syzygium malaccense*. LWT - Food Science and Technology 59: 707-712.

Ayyanar M, Subash-Babu P. *Syzygium cumini* (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses. 2012. Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine 2: 240-246.

Baliga MS, Bhat HP, Baliga BRV, Wilson R, Palatty PL. 2011. Phychemistry, tradicional uses and pharmacology of *Eugenia jambolona* Lam. (black plum): A reviw. Food research international 44: 1776-1789.

Barbieri R, E. Coppo E, A. Marchee A *et al.* 2017. Phytochemicals for human diseasis na up date on plant-derived compounds antibacterial activity, Microbial Reseach 196: 44-68.

Batista AG, Silva JK, Cazarin CBB *et al.* 2017. Red-jambo (*Syzygium malaccense*): Bioactive compounds in fruits and leaves. LWT - Food Science Technology 76: 284-291.

Blair JMA, Werbber MA, Baylay AJ, Ogbole DO, Piddock LJ. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance, Nature Reviews Microbiology 13: 42-51.

Boovaragamoorthy GM, Anbazhagan M, Pisthiviraj. 2019. Clinically importante microbial diversity and its antibiotic resistancepattern twards various drugs. Jounal Infection and Public Health. 12: 783-788.

Bouzada MLM, Fabri RL, Nogueira M, Konno TUP, Duarte GG, Scio E. 2009. Antibacterial, cytotoxic and phytochemical screeningof some traditional medicinal plants in Brazil.

Pharmceutical Biology 47: 44-52.

Chaves TP, Barbosa AS, Nunes LE. 2015. Evaluation of the potential modulator of bacterial resistance, acute toxicity and chemical composition of *Schinopsis brasiliensis* Engl. African Journal of Pharmacy and Pharmacology 9: 843-849.

Chaves TP, Fernandes FHA, Santana CP *et al.* 2016. Evaluation of the interaction between the *Poincianella pyramidalis* (Tul.) LP Queiroz extract and antimicrobials using biological and analytical models PLoS One 11: 1-23.

Chaves TP, Medeiros FD, Sousa JMC *et al.* 2019. Phytochemical characterization and mutagenicity, cytotoxicity, antimicrobial and modulatory activities of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz. Natural Product Research 1-6.

Chaves TP, Medeiros FD, Sousa JMC. 2018. Phytochemical characterization and mutagenicity, cytotoxicity, antimicrobial and modulatory activities of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz. Natural Product Research 1-6.

Chhikara N, Kaur R, Jaglan S, Sharma P, Gat Y, Panghal A. 2018. Bioactive compounds and pharmacological and food applications of *Syzygium cumini* – a review. Food & Function 9: 6096-6115.

Cardoso JC, Oliveira MEBS, Cardoso FCI. 2019. Advances and challenges on the *in vitro* production of secondary metabolites from medicinal plants. Horticultura Brasileira 37: 124-132.

- 1 Cartacho-Furtado NADEO, Sampaio TO, Xavier MA, Medeiros ADDE, Pereira JV. 2015.
- 2 Perfil fitoquímico e determinação da atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels
- 3 (Myrtaceae) frente a microrganismos bucais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 17: 1091-
- 4 1096.
- 5
- 6 Carvalho ABL, Cruz CA, Freitas CLA *et al.* 2019. Chemical profile, antibacterial activity and
- 7 antibiotic-modulating effect of the hexane *Zea mays* L. Silk extract (Poaceae). *Antibiotics* 8: 1-
- 8 7.
- 9
- 10 CLSI - (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2013. Performace Standards for
- 11 Antimicrobial Susceptibility Testing, twenty-third Informational Supplement M100-S23,
- 12 CLSI, USA.
- 13
- 14 Coppo E, Marchese A. 2014. Antibacterial activity of polyphenols. *Current Pharmaceutical*
- 15 *Biotechnology* 15: 380-390.
- 16
- 17 Coutinho HDM, Costa JGM, Lima EO, Falcão-Silva VS, Siqueira-Júnior JP. 2008.
- 18 Enhancement of the Antibiotic Activity against a Multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha*
- 19 *arvensis* L. and Chlorpromazine. *Chemother* 54: 328–330.
- 20
- 21 Cristo JS, Matias EFF, Figueiredo FG *et al.* 2016. HPLC profile and antibiotic-modifying
- 22 activity of *Azadirachta indica* A. Juss, (Meliaceae), *Industrial Crops and Products* 94: 903-
- 23 906.
- 24
- 25 Cushnie TPT, Lamb AJ. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal*

1 Antimicrobial Agents 25: 343-356.

2
3 Elmarini NA, Haman MR, Abuhadra MN, Sherif FM. 2019. Pharmacognostical and biological
4 evaluation of cultivated *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Jambolan) in Libya, EC Pharmacology
5 and Toxicology 7: 721-734. Disponível em: [https://www.econicon.com/ecpt/pdf/ECPT-07-](https://www.econicon.com/ecpt/pdf/ECPT-07-00333.pdf)
6 00333.pdf. Acessado em: 12 nov 2019.

7
8 Ernst EJ, Klepser ME, Ernst ME, Messer SA, Pfaller MA. 1999. *In vitro* pharmacodynamic
9 properties of MK-0991 determined by time-kill methods. Diagnostic Microbiology Infectious
10 Disease 33: 75-80.

11
12 Freitas VM, Piris CGO, Silva BR, Neto ACN, Romão NF, Vallejo NM. 2019. Avaliação da
13 atividade toxica e citotóxica de extratos da planta *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & Perry.
14 South American Jounal Basic Education, Technical and Technological 6: 67-80. Disponível
15 em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEETT/article/view/2253/1556>. Acessado em: 15
16 dez 2019.

17
18 Gobo-Neto L, Lopes NP. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de
19 metabólitos secundários. Química Nova 30: 374-381.

20
21 Hidayti AR, Sauriasari R, Elya B. Arginase inhibitory and antioxidant activities in *Syzygium*
22 *cumini* (L.) Skeels leaves extracts collected from three different locations of java. 2020.
23 Pharmacology Science Asia. 47: 65-73.

24
25 Imham M, Imham Mo, Khan S. 2017. Antibacterial activity of *Syzygium cumini* leaf extracts

1 against multidrug resistant pathogenic bacteria. Journal Applied Pharmaceutical Science 7:
2 168-174.

3

4 Hirasawa M, Takada K. 2004. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity
5 of antimycotics against *Candida albicans*. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 53:
6 225-229.

7

8 Houghton RJ, Howes MJ, Lee CC, Steveton G. 2007. Uses and abuses of in vitro tests in
9 ethopharmacology: visualizing an elephant. Journal Ethnopharmacology 110: 391-400.

10

11 Javadpour MM, Juban MM, Lo WC. 1996. De novo antimicrobial peptides with low
12 mammalian cell toxicity. Journal of Medicinal Chemistry 39: 107–3113.

13

14 Khan S, Imran M, Imran M, Pindari N. 2017. Antimicrobial activity of various ethanolic plant
15 extracts against pathogenic multi drug resistente *Candida* spp. Bioinformation 13: 67-72.

16

17 Lacerda-Neto LJ, Barbosa AGR, Quintana-Junior LJ, Coutinho HDM, Cunha FAB. 2019. The
18 complex pharmacology of natural products. Future Medicinal Chemistry 11: 797–799.

19

20 Lago JHG, Souza ED, Mariana B *et al.* 2011. Chemical and biological Evaluation of essential
21 oils from two species of Myrtaceae — *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg)
22 Kausel. Molecules 16: 9827-9837.

23

24 Lima MC, Sousa CP, Fernandez-Prada C, Harel J, Dubreuil JD, Sousa EL. 2019. A review of
25 the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic

bactéria. Microbial Pathogenesis 130: 259-270.

Mahomoodally MF, Ugurlu A, Llorent-Martinez EJ. 2020. *Syzygium coriaceum* Bosser & J. Guého—Na endemic plant potentiates conventional antibiotics, inhibits clinical enzymes and induces apoptosis in breast cancer cells, Industrial Crops and Products 143: 1-10.

Matos FJA. 2009. Introdução à fitoquímica experimental. terceira ed., UFC, Fortaleza.

Migliato KF, Moreira RRD, Mello JCP, Sacramento LVS, Corrêa MA, Salgado HRN. 2007. Controle da qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. Revista Brasileira de Farmacognosia 17: 94-101.

Moloney MG. 2016. Natural products as a source for novel antibiotics. Trends in Pharmacological Sciences 37: 689-701.

Morais-Braga MFB, Sales DL, Carneiro JNP *et al.* 2016. *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC.: Chemical composition and anti-candida effect in association with fluconalozole. Microbial Pathogenesis 95: 200-207.

Morais-Braga MFB, Carneiro JNP, Machado AJT. 2017. Phenolic composition and medical usage of *Psidium guajava* Linn.: Antifungal activity or inhibition of virulence?. Saudi Journal of Biological Sciences 24: 302-313.

NCCLS Norma M27-A2. 2002. Método de referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade à terapêutica antifúngica das leveduras, segunda ed., NCCLS,

Pennsylvanis.

Oliva-Aguirre FJ, Wall-Madrano A, Gonzalez-Aguilar GA *et al.* 2015. Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición Hospitalaria* 31: 55-66.

Oliveira GF, Furtado NAJC, Filho AAS. 2007. Antimicrobial activity of *Syzygium cumini* (Myrtaceae) leaves extract. *Brazilian Journal Microbiology* 38: 381-384.

Patel D, Desai S, Desai A, Dave D, Mesbram D. 2019. Phytochemical evaluation and in-vitro thrombolytic activity of hydro alcoholic extract of *Syzygium malaccense* leaves. *Journal of Farmacognose and Phytochemistry* 8: 3916-3918. Disponível em: <http://www.phytojournal.com/archives/2019/vol8issue3/PartBF/8-3-457-445.pdf>. Acessado em: 20 dez 2019.

Pareek A, Meena RK, Yadav B. 2015. Antibacterial activity of *Syzygium cumini*. *Indian Journal of Applied Research* 5: 751-753.

Pereira JV, Freires IA, Castilho AR, Cunha MG, Alves HS, Rosalen PL. 2016. Antifungal potential of *Sideroxylon abstusifolium* and *Syzygium cumini* and their mode of action against *Candida albicans*. *Pharmaceutical Biology* 54: 2312-2319.

Santos ATL, Carneiro JNP, Cruz RO. 2018. Analysis by UPLC-MS-QTOF and antifungal activity of guava (*Psidium guajava* L.). *Food Chemistry and Toxicology* 119: 122–132.

- Scorzoni L, Sangalli-Leite F, Singulani JL. 2016. Searching new antifungals: the use of *in vitro* and *in vivo* methods for evaluation of natural compounds, *Journal Microbiology Methods* 123: 68-78.
- Seleen D, Pardi V, Murata RM. 2017. Review of flavonoids: A diverse group of natural compounds with anti-*Candida albicans* activity *in vitro*. *Archives of Oral Biology* 76: 76-83.
- Senthilkamar M, Gowri M, Vadivel V. 2017. Phytochemical analysis of bioactive compounds of *Syzygium cumini* (L.) Skeels, *World Journal of Pharmaceutical Research* 6: 1361-1379.
- Seukep AJ, Kuete V, Nahar L, Sarker SD, Guo M. 2019. Plant-derived secondary metabolites as the main source of efflux pump inhibitors and methods for identification. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 10: 277-290.
- Siebra AL, Oliveira LR, Martins AOBPB *et al.* 2018. Potentiation of antibiotic activity by *Passiflora cincinnata* Mast. front of strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Saudi Journal of Biological Sciences* 25: 37–43.
- Silveira ZS, Macêdo NS, Freitas TS *et al.* 2017. Antibacterial enhancement of antibiotic activity by *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. *Asian Pacific Journal Tropical of Biomedicine* 7: 945–949.
- Simões CMO, Schenkel EP, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. 2017. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Artmed, Porto Alegre.

- 1 Singh JP, Kaur A, Singh N *et al.* 2016. *In vitro* antioxidant and antimicrobial properties of
2 jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. Food Science and Technology 65: 1025-1030.
3
- 4 Singh B, Singh JP; Kaur A, Singh N. 2018. Insights into the phenolic compounds present in
5 jambolan (*Syzygium cumini*) along with their health-promoting effects. Institute Journal Food
6 Science and Technology 53: 1-17.
7
- 8 Timbola AK, Szpoganicz B, Branco A, Monache FD, Pizzolatti MG. 2002. A new flavonol
9 from leaves of *Eugenia jambolana*. Fitoterapia 73: 174-176.
10
- 11 Tintino SR, Morais-Tintino CD, Campina FF. 2016. Action of cholecalciferol and alpha-
12 tocopherol on *Staphylococcus aureus* efflux pumps. Journal Experimental and Clinical
13 Sciences 15: 315-322.
14
- 15 Valli M, Bolzani VS. 2019. Natural products: perspectives and challenges for use of brasilian
16 plant species in the bioeconomy. Anais da Academia Brasileira de Ciências 91: 1-7.
17
- 18 Wamba BEN, Naym P, Mbaveng AT *et al.* 2018. *Syzygium jambos* displayed antibacterial and
19 antibiotic-modulating activities against resistant phenotypes. Evidence-Based Complementary
20 and Alternative Medicine 1-12.
21
- 22 Wang N, Chen H, Xiong L *et al.* 2018. Phytochemical profile of ethanolic extracts of
23 *Chimonanthus salicifolius* leaves and its antimicrobial and antibiotic-mediating activity.
24 Industrial Crops and Products 125: 328–334.
25

- 1 World health organization – WHO, Global Antimicrobial Resistance Surveillance System:
2 Manual for Early Implementation, Geneva: WHO, 2015. Disponível em:
3 [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/188783/9789241549400_eng.pdf?sequence=](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/188783/9789241549400_eng.pdf?sequence=1)
4 1. Acessado em: 11 nov 2020
- 5
- 6 Xu C, Yagiz Y, Hsu W, Siminne A, Lu J, Marschall MR. 2014. Antioxidant, antibacterial, and
7 antibiofilm properties of polyphenols from Muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.)
8 pomace against selected foodborne pathogens. Journal of Agricultural Food Chemistry 62:
9 6640-6664.

Figuras

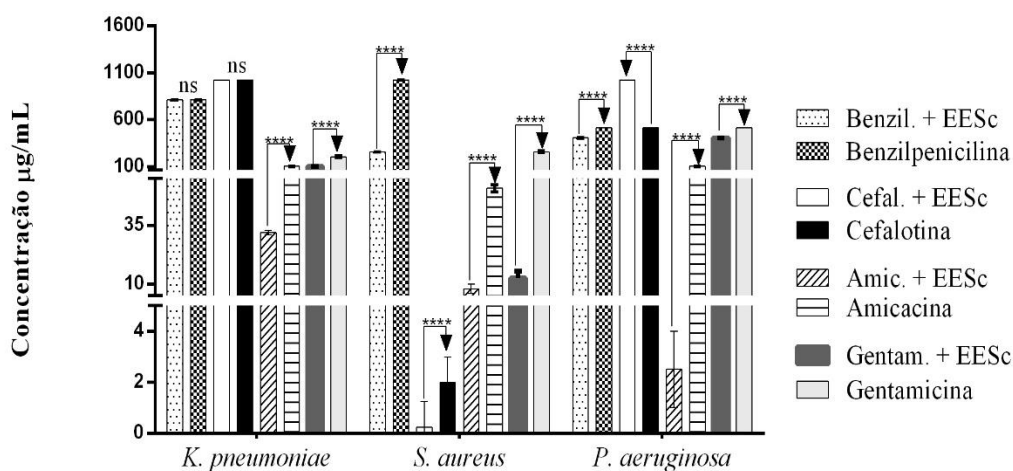


Fig. 1 Modulação da resistência aos antibióticos pelo Extrato etanólico de *Syzygium cumini* (EESc) em associação com antibióticos contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. **** $p < 0.0001$ indica diferenças significativas entre os grupo; ns: não significativo.

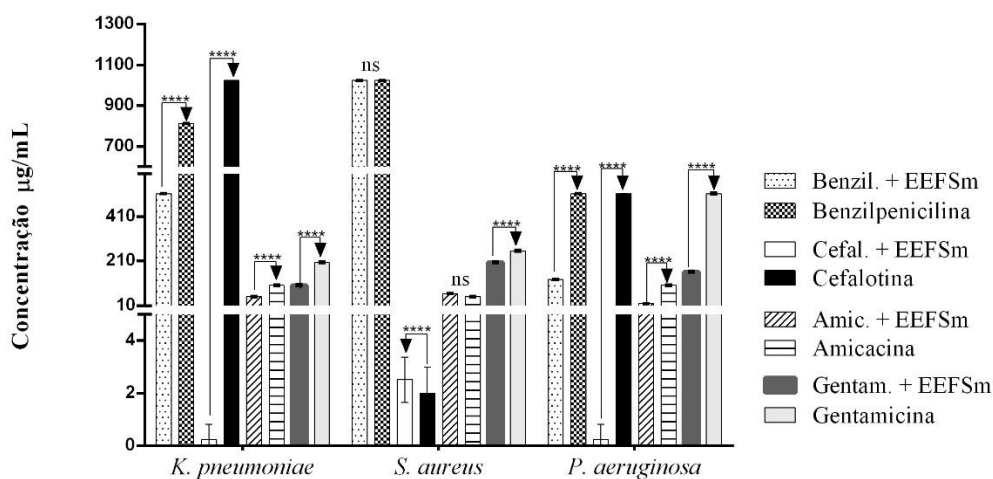


Fig. 2 Modulação da resistência aos antibióticos pelo Extrato etanólico de *Syzygium malaccense* (EEFSm) em associação com antibióticos contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. **** $p < 0.0001$ indica diferenças significativas entre os grupo; ns: não significativo.

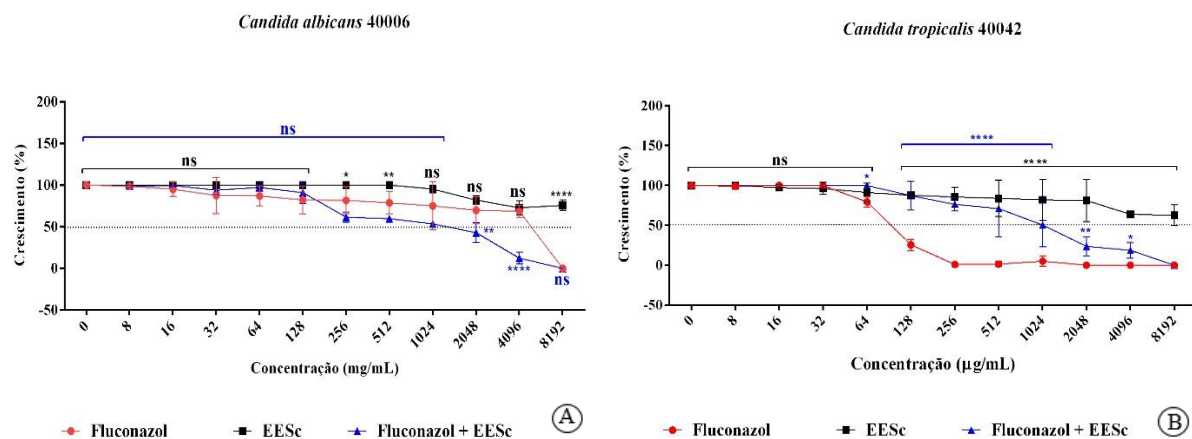


Fig. 3 Curvas de crescimento de *Candida albicans* 40006 e *Candida tropicalis* 40042 na presença de fluconazol sozinho ou em associação com o Extrato etanólico de *Syzygium cumini* (EESc). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença significativa do controle (Fluconazol); ns: não significativo.

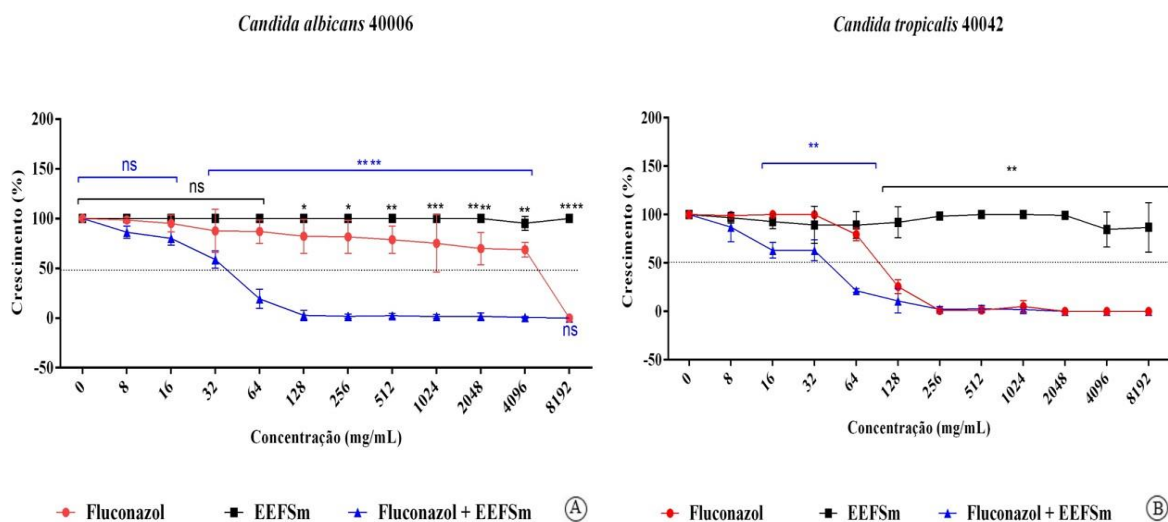


Fig. 4 Curvas de crescimento de *Candida albicans* 40006 e *Candida tropicalis* 40042 na presença de fluconazol sozinho ou em associação com o Extrato etanólico de *Syzygium malaccense* (EESm). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença significativa do controle (Fluconazol); ns: não significativo.

Tabelas

Tabela 1 Perfil fitoquímico dos extratos etanólicos de *Syzygium cumini* e *Syzygium malaccense*.

Extrato	Classes de metabólitos secundários														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
EESc	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
EESm	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

Legenda: 1 – Fenois; 2 – Taninos hidrolizáveis; 3 – Taninos condensados; 4 – Antocianinas; 5 – Antocianidinas; 6 – Flavonas; 7 – Flavonóis; 8 – Xantonas; 9 – Chalconas; 10 – Auronas; 11 – Flavononóis; 12 – Leucoantocianidinas; 13 – Catequinas; 14 – Flavononas; 15 – Alcaloides; (+) presença; (-) ausência.

Tabela 2 Concentração inibitória mínima (CIM) do Extrato etanólico de *Syzygium cumini* (EESc) e do Extrato etanólico de *Syzygium malaccense* (EESm).

Cepa bacteriana	EESc	EESm
	CIM (µg/mL)	CIM (µg/mL)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	512	≥ 1,024
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10051	512	≥ 1,024
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	512	≥ 1,024

Tabela 3 Valores da concentração capaz de inibir 50% do crescimento fúngico (CI₅₀) do fluconazol isolado ou associado com o Extrato etanólico de *Syzygium cumini* (EESc) contra linhagens de *Candida*.

Tratamento	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>
	CI ₅₀ (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)
EESc	> 8192	> 8192
Fluconazol	5174,7	95,28
Fluconazol + EESc	808,0	896,5

Tabela 4 Valores da concentração capaz de inibir 50% do crescimento fúngico (CI₅₀) do fluconazol isolado ou associado com o Extrato etanólico de *Syzygium malaccense* (EESm) contra linhagens de *Candida*.

Tratamento	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>
	CI ₅₀ (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)
EESm	> 8,192	> 8,192
Fluconazol	5174.7	95.28
Fluconazol + EESc	35.7	33.8

4 CONCLUSÃO

Os extratos das folhas da *S. cumini* e *S. malaccense* possuem quantidades significativas de compostos fenólicos e uma variedade de classes dessas substâncias.

Nas análises microbiológicas, os extratos obtiveram resultados significativos contra a atividade microbiana, a saber: i) O extrato etanólico das folhas de *Syzygium cumini* apresenta atividade direta contra às bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10051), além de quando combinado a antibióticos (benzilpenicilina, cefalotina, amicacina e gentamicina) apresenta atividade modificadora para a maioria das associações; ii) O extrato etanólico das folhas de *Syzygium malaccense* não apresenta atividade direta contra às bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10051), porém quando combinado a antibióticos (benzilpenicilina, cefalotina, amicacina e gentamicina) apresenta atividade modificadora para a maioria das associações; iii) O extrato de *S. cumini* apresenta baixa ação antifúngica intrínseca contra às cepas de *Candida albicans* e *Candida tropicalis* e possui capacidade de modificar a ação do fluconazol; iv) O extrato de *S. malaccense* não apresenta ação intrínseca contra às cepas de *C. albicans* e de *C. tropicalis* e possui capacidade potencializar a atividade antifúngica do fluconazol.

Nas análises da atividade antioxidante, foram obtidos resultados relevantes, podendo-se afirmar que os extratos das folhas de *S. cumini* e *S. malaccense* são bons antioxidantes, especificamente em relação a capacidade de inibir a ação do radical DPPH• e de reduzir o íon Fe³⁺.

Em relação a toxicidade, ambos os extratos apresentaram toxicidade de baixa a moderada frente ao microcrustáceo *Artemia salina*.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, S. *et al.* Therapeutic Potential of flavonoids and their mechanism of action against microbial and viral infections-A Review. **Food Research International**, v. 77, p. 221-235, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.021>.
- ALMEIDA, V. O. **Estudos em mirtáceas em quatro municípios do Recôncavo da Bahia**. 2011. Dissertação (Mestrado em Recursos Vegetais Genéticos) - Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bahia, 2011.
- ANDRADE, A. F. **Rendimento de óleo essencial de *Lippia sidoides* cham. em função da idade de corte, horário de colheita e condições de secagem**. 2015. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campus Universitário Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Tocantins, 2015.
- ARAÚJO, F. F. *et al.* Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as na innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food Research International**, v. 121, p. 57–72, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.018>.
- AUGUSTA, I. M. **Extração e secagem da casca de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl e Perry) para obtenção de corante**. 2011. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.
- AYYANAR, M.; SUBASH-BABU, P. *Syzygium cumini* (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. v. 2, p. 240-246, 2012. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60050-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60050-1).
- AZEVEDO, J. C. S. **Estratégias de obtenção do corante do jambo vermelho (*Syzygium malaccense*) e avaliação de sua funcionalidade**. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.
- BALIGA, M. S. *et al.* Phychemistry, tradicional uses and pharmacology of *Eugenia jambolona* Lam. (black plum): A review. **Food research international**, v. 44, p. 1776-1789, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.007>.
- BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>.
- BATISTA, Â. G. *et al.* Red-jambo (*Syzygium malaccense*): Bioactive compounds in fruits and leaves. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 284-291, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.013>.
- BEARDSLEY, J. *et al.* Responding to the emergence of antifungal drug resistance: perspectives from the bench and the bedside. **Future Microbiol**, v. 13, n. 10, p. 1175 – 1191, 2018. DOI: <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0059>.

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Bioquímica**. Tradução de Antonio José Magalhães da Silva Moreira, Aydamari Faria Jr., Maria de Fátima Azevedo e Patrícia Lydie Voeux. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kougan, 2014.

BLAIR, J. M. A. *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature: reviews**, v. 13, p. 42-51, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>.

BOOVARAGAMOORTHY, G. M. Clinically important microbial diversity and its antibiotic resistance pattern towards various drugs. **Journal of Infection and Public Health**, v. 12, p. 783–788, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.08.008>.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: 2006. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf. Acesso em: 08 fev. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS - RENISUS**. Brasília: 2009. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/07/renisus.pdf>. Acesso em: 08 fev. 2020.

BUENO, N. R. *et al.* Levantamento etnofarmacológico e farmacológico de plantas medicinais comercializadas em rondonópolis (MT). **Biodiversidade**, v. 2, p. 2-20, 2019.

CAMPOS, S. C. *et al.* Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 373-382, 2016. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15_057.

CAMPOS, M. T. G.; LEME, F. O. P. Estresse oxidativo: fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial. **Pubvet**, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2018. DOI: <https://doi.org/10.22256/pubvet.v12n1a10.1-8>.

CARDOSO, J. C.; OLIVEIRA, M. E. B. S.; CARDOSO, F. C. I. Advances and challenges on the *in vitro* production of secondary metabolites from medicinal plants. **Horticultura Brasileira**, v.37, n. 2, p. 124-132, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0102-053620190201>.

CARTAXO-FURTADO, N. A. D. E. O. *et al.* Perfil fitoquímico e determinação da atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) frente a microrganismos bucais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 1091-1096, 2015. DOI: https://doi.org/10.1590/1983-084x/14_153.

CARVALHO, A. B. L. *et al.* Chemical Profile, Antibacterial Activity and Antibiotic-Modulating Effect of the Hexanic *Zea Mays* L. Silk Extract (Poaceae). **Antibiotics**, v. 8, n. 22, p. 1-7, 2019. DOI: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fantibiotics8010022>.

CARVALHO, C. R. S. **Potencial antioxidante e teor de compostos fenólicos dos chás de hortelã (*Mentha spicata*), camomila (*Matricaria chamomilla*) e capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*)**. 2019. Monografia (Graduação em biotecnologia) – Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2019.

CASTRO, M. R.; FIGUEIREDO, F. F. Saberes tradicionais, biodiversidade, práticas

integrativas e complementares: o uso de plantas medicinais no SUS. **Hygeia- Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 15, n. 31, 2019. DOI: <https://doi.org/10.14393/Hygeia153146605>.

CHHIKARA, N. *et al.* Bioactive compounds and pharmacological and food applications of *Syzygium cumini* – a review. **Food & Function**, v.9, n. 12, p. 6096–6115. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8FO00654G>.

COSTA, R. S. *et al.* Aspectos morfológicos e influência do tamanho da semente na germinação do jambo-vermelho. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 117-120, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452006000100032>.

COSTA, B. S. **Superbactérias e o desenvolvimento de mecanismos de resistência aos antimicrobianos**. 2019. TCC (Graduação em Farmácia) – Curso de Farmácia, Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, 2019.

CUNHA, A. L. *et al.* Fundamentos químicos da ação dos radicais no organismo. **Diversitas Journal**, v.1, n. 1, p. 8-13, 2016a. DOI: <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v1i1.450>.

CUNHA, A. L. *et al.* Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, v.1, n. 2, p. 175-181, 2016b. DOI: <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v1i2.332>.

DONADO-PESTANA, C. M. *et al.* Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications. **Current Opinion in Food Science**, v. 19, p. 42-49, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.001>.

DIAS, C. H. A. **Classificação filogenética e perfil de resistência a antimicrobianos e metais pesados em cepas de *Escherichia coli* isoladas do rio São Francisco, Município de Petrolina – PE**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde e Biológicas) – Campus Centro Petrolina, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina-PE, 2018.

FARHA, A. K. *et al.* Tannins as an alternative to antibiotics. **Food Bioscience**, v. 38, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751>.

FARAG, N. F. *et al.* Characterization of essential oils from Myrtaceae species using ATR-IR vibrational spectroscopy coupled to chemometrics. **Industrial Crops & Products**, v. 124, p. 870–877, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.066>.

FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Jambo: *Syzygium malaccense*. In: RODRIGUES, S.; SILVA, E.; BRITO, E. (org.). **Exotic fruits reference guide**. London, United Kingdom: Academic Press, 2018. p. 251-256.

FONTAN, R. C. I. Composition and thermophysical properties of Malay Rose apple pulp. **International Food Research Journal**, v.25, n. 3, p. 1067-1073, 2018. Disponível em: [http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20\(03\)%202018/\(25\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20(03)%202018/(25).pdf). Acessado em: 20 mar. 2020.

FREITAS, V. M. *et al.* Avaliação da atividade toxica e citotóxica de extratos da planta *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & Perry. **South American Journal of Basic Education**,

- Technical and Technological**, v.6, n. 1, p. 67-80, 2019. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEETT/article/view/2253/1556>. Acessado em: 10 dez. 2019.
- FUKUDA, E. K. *et al.* Polissacarídeos de parede celular fungica: purificação e caracterização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 117-134, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2009v30n1p117>.
- GIBBERT, L.; BERTIN, R.; KRUGER, C. H. Breve revisão da espécie *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry como fonte de compostos bioativos. **Visão acadêmica**, v. 18, n. 4, p. 140-152, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/acd.v18i4>.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários, **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>.
- GIOLO, M. P.; SVDZINSKI, T. I. E. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 3, p. 225-234, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442010000300009>.
- JIN, Y. S. Recent advances in natural antifungal flavonoids and their derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 29, n. 19, p. 1-13, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.07.048>.
- LACERDA-NETO, L. J. *et al.* The complex pharmacology of natural products. **Future Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 8, p. 797–799, 2019. DOI: <https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0327>.
- LAKHUNDE, S.; ZANG, K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 1-103, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1128%2FCMR.00020-18>.
- LEE, Y. *et al.* Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans*. **Chemical Reviews**, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00199>.
- LOUREIRO, R. J. *et al.* O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 77–84, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rpsp.2015.11.003>.
- MACEDO, J. G. F. *et al.* Analysis of the variability of therapeutic indications of medicinal species in the Northeast of Brazil: comparative study. **Evidence – Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, p. 2-18, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/6769193>.
- MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de brock**. Tradução de Alice Freitas Versiani *et al.* 14. ed. Rio de Janeiro: Artmed, 2016.
- MAIA, J. L. *et al.* Extract of spray-dried Malay apple (*Syzygium malaccense* L.) skin. **Journal of Food Process Engineering**, v. 42, n. 8, p. 1-9, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpe.13275>.

MALEKI, S. J.; CRESPO, J. F.; CABANILLAS, B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. **Food Chemistry**, v. 299, n. 30, p. 1-55, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124>.

MARGRIET, W. J. H. *et al.* Facilitators of adaptation and antifungal resistance mechanisms in clinically relevant fungi. **Fungal Genetics and Biology**, v. 132, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2019.103254>.

MARTELLI, F.; NUNES, M. F. Radicais livres: em busca do equilíbrio. **Ciência e Cultura**, v. 66, n. 3, p. 54-57, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252014000300017>.

MATOS, E. C. O. *et al.* Prevalência de agentes microbianos e sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Paraense de Medicina**, v. 28, n. 2, p. 35–43, 2014.

MEDINA, A. L. *et al.* Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 916-922, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.119>.

MELO, R. R. **Perfil fitoquímico, avaliação da atividade antimicrobiana e biocompatibilidade de *Syzygium malaccense* (L) Merr. & L. M. Perry (Myrtaceae)**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmaceuticas) – Departamento de Ciências Farmaceuticas, Universidade Federal do Pernambuco, recife, 2009.

MIGLIATO, K. F. *et al.* Controle da qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 1, p. 94-101, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100018>.

MIMICA, M. J.; BEREZIN, E. M. *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina: um problema emergente. **Arquivo Médico do Hospital e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo**, v. 51, n. 2, p. 52-56, 2006. Disponível em: <http://arquivosmedicos.fcmsantacasasp.edu.br/index.php/AMSCSP/article/viewFile/475/551>. Acessado em: 20 jan. 2020.

MONTEIRO, S. C.; BRANDILLI, C. L. C. (org.). **Farmacobotânica: aspectos teóricos e aplicação**. Porto Alegre: Atmed, 2017.

MORAIS, L. M., CONCEIÇÃO, G. M., NASCIMENTO, J. M. Família Myrtaceae: Análise Morfológica e Distribuição Geográfica de uma Coleção Botânica. **Agrarian Academy**, v. 1, n. 1, p. 317-346, 2014. DOI: http://dx.doi.org/10.18677/Agrarian_Academy_2014_018.

MORESCO, H. H. **Estudo fitoquímico e biológico de quatro espécies da família Myrtaceae**. Tese (Doutorado em Química) – Campus Trindade, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2014.

NACATA, G. **Jambeiro: Propagação, aspectos morfológicos e caracterização qualitativa**. 2017. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, 2017.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Tradução de Ana Beatriz Gorini da Veiga. Porto Alegre: Artmed, 2011. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2008.

OLIVEIRA, W. A. *et al.* Antifungal activity of *Cymbopogon winterianus* jowittex bor against *Candida albicans*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 2, p. 433-41, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000200004>.

OMS, Organização Mundial de Saúde. (2008). **Medicina Tradicional**. Ficha Nº 134. Dezembro. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/es/>. Acesso em: 12 dez. 2018.

ORTEGA, L. L. **Resistência bacteriana**: aquisição, mecanismos e prevenção. Trabalho de Conclusão de Curso – TCC (Graduação em Odontologia) – Centro de Ciências de Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2019.

PRISTON, K. E.; GHANNOUM, M. A. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, p. 792-798, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028>.

RAVEN, P. H. **Biologia vegetal**. Tradução de Ana Cláudia de Macêdo Vieira *et al.* 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

RAUF, A. *et al.* Proanthocyanidins: a comprehensive review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 116, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108999>.

REFLORA. *Syzygium* in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB24035>. Acesso em: 12 Nov. 2019.

REECE, J. B. *et al.* **Biologia de Campbell**. Tradução de Anne D. Villela *et al.* 10. ed., São Paulo: Artmed, 2015.

ROCHA, F. A. G. *et al.* O uso terapêutico da flora na história mundial. **Holos**, v. 1, n. 31, p. 49-61, 2015. DOI: <https://doi.org/10.15628/holos.2015.2492>.

RUGGIERO, A. A. **Estudo Farmacognóstico do Jambolão *Syzygium cumini* (L.) Skeels Myrtaceae**. 2004. Dissertação (Mestrado em fármaco e medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

SANTIAGO, G. L. **Compostos bioativos fenólicos de frutos nativos da família Myrtaceae: Avaliação da bioacessibilidade e do potencial funcional relacionado às doenças cardiovasculares**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

SANTOS, M. H. S. *et al.* Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300020>.

SANTOS, M. S. ***Klebsiella pneumoniae* produtoras de carbapenemase (KPC)** e a importância de seu estudo. 2018. Monografia (Especialização em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

SANTOS, M. O. *et al.* Medicinal Plants: versatility and concordance of use in the caatinga area, Northeastern Brazil. **Anais Academia Brasileira Ciências**, v. 90, n. 3, p. 2767-2779, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170594>.

SERAGLIO, S. K. T. *et al.* Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening. **Food Chemistry**, v. 239, p. 649–656, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.118>.

SILVA, C. M. A. **Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de Pernambuco – uma inovação no controle de fitopatógenos**, 2013, Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

SILVA, C. **Fracionamento bioguiado de folhas de *Syzygium malaccense***. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em química) – Departamento de Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2018.

SILVA, M. O.; AQUINO, S. Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 8, n. 4, p. 472-482, 2018. DOI: <https://doi.org/10.17058/reci.v8i4.11580>.

SILVA, A. G. *et al.* Resistência de *Klebsiella pneumoniae* a antimicrobianos em um Hospital de Minas Gerais. **Revista de Ciências da Saúde Básica e Aplicada**, v. 2, n. 1, p. 3-10, 2019.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SINGH, B. *et al.* Insights into the phenolic compounds present in jambolan (*Syzygium cumini*) along with their health-promoting effects. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 53, n. 11, p. 1-17, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.13841>.

SOARES, J. C. **Aproveitamento alimentar do Jambolão**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Alimento) – Escola de Agronomia, Universidade de Goiás, Goiânia, 2015.

SOUZA, C. M. P. *et al.* Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do serviço público de saúde em Campina Grande – Paraíba. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 2, p. 188-193, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000200004>.

SOUZA, I. L. S. **Efeitos do extrato rico em polifenóis da folha de *Syzygium cumini* (L.) Skeels sobre a doença hepática gordurosa não alcoólica em camundongos com obesidade induzida por L-glutamato monossódico.** 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em farmácia) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luiz, 2018.

STANGARLIN, J. R. *et al.* A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011. DOI: <https://doi.org/10.18188/sap.v10i1.5268>.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal.** Tradução de Alexandra Antunes Mastroberti *et al.* 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TAVARES, I. M. C. T. *et al.* Comprehensive study of the phenolic composition of the edible parts of jambolan fruit (*Syzygium cumini* L. Skeels). **Food Research International**, v. 8, p. 1–13, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.014>.

TORTORA G. J., FUNKE B. R., CASE C. L. **Microbiologia.** Tradução de Danielle Soares de Oliveira Daian; Luiz Fernando Marques Dorvillé. 10. ed. Porto Alegre: Artmed; 2017.

VALLI, M.; BOLZANI, V. S. Natural products: perspectives and challenges for use of brazilian plant species in the bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 3, p. 1-7, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201920190208>.

VEIGA J. V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M.. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v.28, n. 3, p. 519-528, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300026>.

VENDRUSCOLO, G. S.; RATES, S. M. K.; MENTZ, L. A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 361-372, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2005000400018>.

WATSON, J. D. *et al.* **Biologia molecular do gene.** Tradução de Andréia Escosteguy Vargas; Luciane M. P. Passaglia; Rivo Fischer. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

WERMUTH, D. **Compostos fenólicos e atividade antibacteriana de extratos de folhas de jambeiro vermelho (*Syzygium malaccense*).** 2015. Monografia (Especialização em Gestão em Qualidade na Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Global Antimicrobial Resistance Surveillance System: Manual for Early Implementation.** Genva: WHO, 2015. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/188783/9789241549400_eng.pdf?sequence=1. Acessado em: 11 nov 2019.

ZHANG, B. *et al.* Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on α -glucosidase and pancreatic lipase. **Food Chemistry**, v. 172, p. 862–872, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.144>.

ANEXO

Anexo 1 – Comprovante de submissão ao periódico Acta Botanica Brasílica

The screenshot shows the ScholarOne Manuscripts Author Dashboard for the journal Acta Botanica Brasílica. The user is logged in as DIÉGO LIMA. The dashboard includes a sidebar with links to Home, Author, Submitted Manuscripts, Start New Submission, Legacy Instructions, and 5 Most Recent E-mails. The main content area displays a table of Submitted Manuscripts.

STATUS	ID	TITLE	CREATED	SUBMITTED
ADM: Eisenlohr, Pedro	ABB-2020-0407	Chemical Profile, Antimicrobial Activity and Antibiotic-Modulating Effect of the <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels and <i>Syzygium malaccense</i> (L.) Merr. & L. M. Perry	30-Aug-2020	30-Aug-2020
• Awaiting Admin Processing				
View Submission				