

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

Edgar Oliveira Vicente

Atividade antimicrobiana de extratos de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* O. Berg (Myrtaceae)

São Carlos – SP

2020

Edgar Oliveira Vicente

Atividade antimicrobiana de extratos de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* O. Berg (Myrtaceae)

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais junto ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Sônia Cristina Juliano Gualtieri

São Carlos – SP

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Edgar Oliveira Vicente, realizada em 15/09/2020.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Sonia Cristina Juliano Gualtieri (UFSCar)

Profa. Dra. Maristela Imatomi (UFSCar)

Profa. Dra. Luciana de Jesus Jatobá (IFSP)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todos os caminhos e maneiras de trilha-los que Ele me concedeu conhecer durante estas jornadas. Por todas as pessoas que participaram de modo direto ou indireto na elaboração deste trabalho. Sou agradecido as professoras e aos professores pelas orientações, oportunidades, ensinamentos, paciência e partilhas. Agradeço à minha família por entender a ausência e fazer as presenças tão valiosas. Agradeço a professora Sônia Cristina Juliano Gualtieri - por me aceitar em seu ambiente de trabalho e me permitir iniciar no campo da pesquisa - e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da USFCar.

Eu gostaria de colocar os nomes de todas as pessoas que realmente foram significantes nestes anos mas incorreria ao erro de esquecer alguém. Porém, como sei que quase ninguém lerá estes agradecimentos eu me reservo o direito de particularmente demonstrar minha gratidão e afeto a cada uma destas pessoas no tempo favorável.

Registro minha gratidão a CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

RESUMO GERAL

Desde a descoberta da penicilina por Alexander Fleming em 1928 tem-se observado crescente resistência microbiana a antibióticos. Os antibióticos permitiram avanços em diferentes áreas como medicina e produção de alimentos resultando no aumento da longevidade humana e caracterizando um período conhecido como a Era dos Antibióticos. Porém, com o uso indiscriminado dos antibióticos, degradação ambiental, crescimento populacional, redução no atendimento a saúde, entre outros fatores, têm-se observado crescente estabelecimento da resistência antibiótica pelos microrganismos contemporâneos. O surgimento de novos microrganismos, novas cepas resistentes a antibióticos e insucesso da síntese química combinatória na produção de novos medicamentos resultam na exigência da retomada das pesquisas na área. Os produtos naturais são as fontes que renderam as mais eficientes e abundantes moléculas usadas até hoje e as plantas têm-se mostrado uma promissora fonte de moléculas que sirvam de estrutura para a síntese de antibióticos. A família Myrtaceae possui vasta descrição de extratos com variadas bioatividades, entre elas a propriedade antimicrobiana. Este trabalho objetivou, no primeiro capítulo, avaliar a atividade antioxidante e potencial antimicrobiano de extratos aquosos e etanólicos de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* O. Berg. Estas extrações são de baixo custo, baixa toxicidade e de fácil aquisição. Observamos que os extratos possuem índices de atividade antioxidante muito forte e forte e atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* (ATCC-11229), *Staphylococcus aureus* (ATCC- 25923) e *Candida albicans* (ATCC 90028). A atividade antioxidante é relacionada a variadas bioatividades no organismo humano que incluem fatores nutricionais e medicamentosos. Os microrganismos em questão estão relacionados entre os patógenos com maiores índices de infecções hospitalares e prolongados períodos de internações. Dentre os resultados obtidos no primeiro capítulo destaca-se o extrato etanólico de raiz com alto índice de atividade antioxidante e forte atividade antimicrobiana contra *E. coli* e *C. albicans* e moderada contra *S. aureus*. Contra *S. aureus* todos os extratos apresentaram atividade antimicrobiana moderada. Contra *C. albicans* a infusão e a maceração de raiz apresentaram atividade antimicrobiana moderada e todos os demais extratos apresentaram boa atividade antimicrobiana. No segundo capítulo avaliou-se a atividade antimicrobiana dos mesmos órgãos vegetais de *E. klotzschiana*, porém, com extrações foram efetuadas com solventes em ordem crescente de polaridade. Contra *E. coli* foram obtidas atividades antimicrobianas moderadas dos extratos acetônico, diclorometânico e hexânico de folhas. Contra *S. aureus* o extrato hexânico de folhas teve boa atividade antimicrobiana. Os demais extratos de folhas e raízes e os extratos acetônico e metanólico de caules apresentaram moderada atividade antimicrobiana. Contra *C. albicans* os extratos diclorometânicos de folhas e raízes tiveram atividades moderadas e todos os demais apresentaram atividades fortes.

Palavras-chave: extração a frio, infusão aquosa, maceração etanólica, pêra-do-cerrado, potencial antibiótico,

ABSTRACT

Alexander Fleming consecrated the history of antibiotic compounds with the discovery of penicillin in 1928. Therefore, since that same time, the first cases of antimicrobial resistance to antibiotics have been registered by the same Fleming. The discovery of this potent antibiotic enabled advances in medical areas, allowing surgical interventions, health treatments with immunosuppression, increased human longevity, allowed the expansion of food production among many factors. Then what was called the Antibiotic Era was constituted. However, with the indiscriminate use of antibiotics, environmental degradation, population growth, reduced health care, among other factors, there has been an increasing establishment of antibiotic resistance by contemporary microorganisms. It was believed that the compounds and molecules previously known would be sufficient substrate for the elaboration of new drugs through chemical synthesis. The reality is few bioactive molecules have been approved and the pharmaceutical industries have given up on research programs in the area for economic reasons. Then there is the need to go back to the beginning and resume research that yielded the most efficient and abundant molecules used today in natural products. Botany shown itself to be a promising source of pure compounds or molecules that serve as a structure for the synthesis of antibiotics. The Myrtaceae family has a wide description of extracts with varied bioactivities, including the antimicrobial properties. This work aimed, in the first chapter, to evaluate the antioxidant activity, the antimicrobial potential of aqueous and, the ethanolic extracts from leaves, stems and roots of *Eugenia klotzschiana* O. Berg. The World Health Organization highlights that rural populations have little access to health and consequently to antibiotic drugs. In this way, aqueous extractions by maceration or infusion and ethanolic maceration of plant organs can be used as a source of antibiotic compounds against infections by *Escherichia coli* (ATCC-11229), *Staphylococcus aureus* (ATCC- 25923) and *Candida albicans* (ATCC 90028). The highlight was the root ethanolic extract, which showed strong antimicrobial activity against *E. coli* and *C. albicans*. The high index of antioxidant activity in these extracts indicates the presence of compounds that act synergistically, increasing immunological resistance and combating microbial activity. The second chapter evaluated the antimicrobial activity of the same plant organs, however, the extractions occurred with solvents in an eluotropic series of increasing polarity. The moderate antimicrobial activities were obtained against *E. coli*, and strong to moderate against *S. aureus* and *C. albicans*. The extraction methodologies, chosen organs (leaves, stems and roots) and antimicrobial tests with these microorganisms make this work an unprecedented research.

Keywords: maceration, infusion, ethanolic, aqueous, eluotropic, Myrtaceae.

LISTA DE ABREVIações

ACE – Acetona

AcoEt – Acetato de etila

DCM – Diclorometano

FAO – Organização das Nações Unidas para alimentação e a agricultura

Hx – Hexano

IAA – Índice de atividade antioxidante

C. albicans – *Candida albicans*

DMSO - Dimethyl sulfoxide

DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazil.

E. coli – *Escherichia coli*

Efo – Extrato de maceração etanólica de folha

Er – Extrato de maceração etanólica de raiz

Eca – Extrato de maceração etanólica de caule

IC₅₀ – Concentração inibitória de 50%

Ifo – Extrato de infusão de folha

Ir – Extrato infusão de raiz

Ica – Extrato de infusão de caule

MeOH – Metanol

MIC – Concentração mínima inibitória

Mfo – Extrato de maceração aquosa de folha

Mr – Extrato de maceração aquosa de raiz

Mca – Extrato de maceração aquosa de caule

PBS - Phosphate Buffered Saline

RPMI 1640 - Roswell Park Memorial Institute medium 1640

S. aureus – *Staphylococcus aureus*

TSB - Tryptic Soy Broth

IUV – Índice de Radiação Ultravioleta

WHO – Organização Mundial de Saúde

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Massa (g) e rendimento (%) dos extratos obtidos por infusão aquosa e maceração aquosa e extração etanólica dos diferentes órgãos de *Eugenia klotzschiana* O.Berg. **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 1. 2: Valores ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) de Concentração Mínima Inibitória (MIC) para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* obtidos com extratos de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* O. Berg. Clorexidina = controle positivo. Infusão de folha (Ifo), infusão de caule (Ica), infusão de raiz (Ir), maceração de folha (Mfo), maceração de caule (Mca), maceração de raiz (Mr), maceração etanólica de folhas (Efo), maceração etanólica de caule (Eca), maceração etanólica de raiz (Er). 36

Tabela 2.1: Massa (g) e rendimento (%) dos extratos obtidos por extração eluotrópica de folhas (Fo), caules (Ca) e raízes (Ra) de *Eugenia klotzschiana* O. Berg. **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 2.2: Valores ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) de Concentração Mínima Inibitória (MIC) para *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Candida albicans* (*C. albicans*) da reação com extratos de folha (Fo), caule (Ca) e raiz (Ra) de *Eugenia klotzschiana* O. Berg obtidos com os solventes Hexano (Hx), Diclorometano (DCM), Acetato de etila (AcoEt), Acetona (ACE) e Metanol (MeOH). Clorexidina = controle positivo. 63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Concentração inibitória de 50% (IC_{50}) e Índice de atividade antioxidante (IAA) de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* O. Berg extraídas por infusão aquosa e maceração aquosa e etanólica. Letras minúsculas não diferem pelo teste de Tukey ($p>0,05$). Barras representam desvio padrão (n=3). Quercetina e Ácido gálico: referência industrial de composto antioxidante utilizado como controle positivo.**Erro! Indicador não definido.**

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	14
Recursos, sociedade, economia e saúde – um enlace ecológico	14
Produtos naturais como fontes farmacológicas.....	16
REFERÊNCIAS.....	20
CAPÍTULO 1	24
Atividade antioxidante e antibiótica de extratos de folha, caule e raízes de <i>Eugenia klotzschiana</i> O. Berg (Myrtaceae)	
RESUMO.....	25
ABSTRACT	26
1 INTRODUÇÃO	27
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
1.2.1 Material vegetal.....	29
1.2.2 Atividade antioxidante	30
1.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	32
1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
1.4.1 Extrações	32
1.4.2 Atividade antioxidante e antibiótica	34
1.5 CONCLUSÃO	38
1.6 REFERÊNCIAS.....	39
CAPÍTULO 2	52
Atividade antimicrobiana de extratos de folhas, caules e raízes de <i>Eugenia klotzschiana</i> obtidos por extração eluotrópica	
RESUMO.....	53
ABSTRACT	54
2.1 INTRODUÇÃO	55
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	57
2.2.1 Material vegetal.....	57
2.2.2 Extrações	58
2.2.3 Atividade antimicrobiana	58
2.2.4 Atividade antibacteriana	58
2.2.5 Atividade antifúngica	59
2.2.6 Concentração mínima inibitória (MIC).....	59

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	60
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
2.4.1 Extrações	60
2.4.2 Atividade antimicrobiana	62
2.5 CONCLUSÃO	65
2.6 REFERÊNCIAS.....	65
CONCLUSÕES GERAIS.....	78

INTRODUÇÃO GERAL

Recursos, sociedade, economia e saúde – um enlace ecológico

Recursos podem ser tanto componentes bióticos quanto abióticos do ambiente (TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2010) que são consumidos ou sustentam taxas de crescimento populacionais de um organismo (ex.: espaço para reprodução, abrigo/refúgio) balizando processos biológicos à medida que variam sua quantidade ou disponibilidade no ambiente (TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2010; RICKLEFS, 2012). Os recursos em um sistema podem ser renováveis (que são continuamente regenerados ou renovados), não renováveis (que não são regenerados ou que se tornam indisponíveis após o uso) ou limitantes e seu compartilhamento pode, como em situações de competição, acarretar a extinção de uma espécie ou grupo de consumidores em detrimento de outra (RICKLEFS, 2012).

A relação entre disponibilidade de recursos e o desenvolvimento ou subsistência de organismos permite caracterizar comportamentos há tempos avaliados por ecólogos. Exemplo disso temos a *Lei do Mínimo de Liebig* de 1840 com o crescimento populacional ancorado na variação de um recurso limitante; modelos matemáticos sobre competição de Alfred James Lotka, Vito Volterra e Giorgii Frantsevich Gause e a Equação Logística de Pierre François Verhulst com a capacidade suporte (RICKLEFS, 2012). Estes comportamentos podem ajudar a explicar as dinâmicas populacionais em um determinado espaço geográfico em um intervalo de tempo.

A apropriação dos recursos que compõem uma paisagem e seu uso como matéria para a elaboração e trabalho humanos constitui o uso dos recursos naturais, sendo um recurso natural aquele que é oferecido pela natureza sem intervenção humana (PETTAY *et al.*, 2007), ou então, ativos naturais (matéria-prima) que ocorrem na natureza e podem ser usados para produção ou consumo econômico (OECD, 1997). A exploração e aplicação dos recursos naturais proporcionam o desenvolvimento individual ou comunitário de algumas espécies formando castas ou hierarquias sociais orientadas pelo acesso aos recursos disponíveis e determinando o sucesso evolutivo de espécies (PETTAY *et al.*, 2007; WARR; AYRES, 2012).

A degradação ambiental (representada pelo desmatamento, poluição do ar, agricultura mal manejada, produção de lixo, poluição das águas e solos e perda de espécies) e a injustiça social (em superpopulações, com acúmulo e centralização da riqueza, fome, pobreza e exploração do indivíduo) são apontados por Donohoe (2003) entre os maiores efeitos danosos a saúde humana. Pimentel e colaboradores (2007) também associam a poluição ambiental, pobreza e desnutrição com a baixa resistência imunológica das populações humanas, ressurgência de doenças antigas, uso excessivo de antibióticos e surgimento de novas patologias infecciosas. Todos os estudos corroboram as preocupações apresentadas no relatório do Painel de Alto Nível sobre Ameaças, Desafios e Mudanças do Secretário-Geral da ONU em 2005 fortalecendo a discussão e apresentando a necessidade de planejamentos e práticas eficientes (SUMMIT *et al.*, 2005).

A saúde humana é reconhecidamente multifatorial sendo determinada por questões sociais, econômicas, comportamentais e ambientais. É definida pela Organização Mundial de Saúde como “estado completo de bem-estar físico, mental e social independente da presença ou ausência de doença”. A degradação ambiental estabelecida pela posse da terra e mercantilização dos serviços ecossistêmicos (produtos, condições ou processos de sistemas naturais que beneficiam direta ou indiretamente os seres humanos ou melhoram o bem-estar social) interferem em todos os fatores que determinam as situações de saúde humana entre outras consequências como: contribuir para o surgimento de novos patógenos, extinguir espécies de controle de zoonoses, extinguir espécies com serviços ecossistêmicos de proteção e que ainda são desconhecidos, seleção de patógenos multirresistentes e geração de desigualdades sociais (KARESH; FORMENTY, 2015; CASTRO *et al.*, 2019; EVERARD *et al.*, 2020; MAJEED; OZTURK, 2020; VAN TRAN, 2020; VERMA *et al.*, 2020).

O surgimento de novas doenças, novos patógenos, fatores nutricionais das populações, dificuldade de acesso a atendimentos de saúde, uso indiscriminado de agroquímicos nas lavouras e antibióticos na produção de carnes e medicamentos de baixa qualidade têm resultado sistematicamente na resistência antibiótica. A Organização Mundial de Saúde (2019) estima que 700.000 pessoas morram ao ano no mundo como consequência da resistência a antibióticos até o ano de 2050 a um custo de 100 trilhões de dólares. Microrganismos como *Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus e *Candida albicans* estão entre as maiores causadores de infecções em ambientes hospitalares exigindo maiores tempos de internações para tratamentos (CDC, 2019; ECDC, 2019). No início da década de 1990, 80% dos medicamentos eram naturais ou similares aos naturais e em menos de dez anos caiu a aproximadamente 50% com o advento da síntese química (LI, J. W. H.; VEDERAS, 2011). Porém, nos últimos 30 anos o provento de novos compostos antibióticos obtidos por síntese química não corresponderam às necessidades e a descoberta por novos medicamentos através do estudo dos recursos naturais retomou importância (BROWN; WRIGHT, 2016; BOUFRIDI; QUINN, 2018).

Muito embora tenha havido uma ascendente necessidade de novas estruturas químicas farmacológicas é relatado um crescente abandono das investigações por parte da indústria devido ao dispendioso investimento em extrações, purificações, identificação estrutural, quebras de patentes e concorrências na área industrial (LI; VEDERAS, 2011; PATRIDGE *et al.*, 2016; BOUFRIDI; QUINN, 2018). Em revisão apresentada por Newman e Cragg (2020) vê-se que, em contrapartida do aumento do número de vacinas, as demais áreas apresentam decréscimos quanto aos números de novas moléculas ou compostos com propriedades bioativas. Boufridi e Quinn (2018) alertam que, mesmo as moléculas naturais representando um número menor em relação as moléculas sintéticas nos bancos de dados das bibliotecas de registros, elas têm apresentado taxas de acertos (bioatividade contra um alvo específico) várias vezes maiores que as sintéticas.

Produtos naturais como fontes farmacológicas

Os produtos naturais são compostos químicos obtidos a partir do metabolismo de microrganismos, plantas, algas ou animais. Os que possuem propriedades farmacológicas podem ser moléculas íntegras, moléculas modificadas quimicamente a partir de uma molécula íntegra ou moléculas sintetizadas com base em um modelo natural (NEWMAN; CRAGG, 2020). As classificações mais discriminatórias sobre os tipos de produtos naturais utilizados na indústria de fármacos são variadas e dependem da abordagem de cada autor.

Na década de 1950 os fármacos de origem natural representavam 33% de todas as aprovações realizadas pelo FDA (Food and Drugs Administration). Já na década de 1970 estas aprovações superaram 50%. Porém, na atualidade correspondem a menos que 24% de todos os compostos aprovados pelo FDA. As plantas, fungos e bactérias contribuíram respectivamente com 25%, 12% e 16% de todos os produtos naturais aprovados, sendo que 69% de todos os antimicrobianos são de origem natural (100% oriundos do metabolismo microbiano) (PATRIDGE *et al.*, 2016). Em uma dimensão global, segundo a classificação adotada por Newman e Cragg (2020), os produtos biológicos (geralmente um peptídeo grande (> 50 resíduos) ou proteína isolada de um organismo/linha celular ou produzida por meios biotecnológicos em um hospedeiro substituto) correspondem a 18,4%, os produtos naturais (produto natural inalterado, podendo ser semi ou totalmente sintético) a 3,8% e os produtos naturais botânicos (misturas definidas de origem botânica) a 0,8% de todas as aprovações farmacológicas entre 1981 e 2019. Esse decréscimo pode ser explicado pelo abandono em pesquisas de recursos naturais e investimentos em outras linhas de pesquisa como síntese química e genética molecular para tratar **patologias** humanas.

Desde a década de 1970, com o advento da síntese química, optou-se pela utilização das moléculas até então conhecidas alterando-as estruturalmente com a finalidade de obter um maior número de fármacos. No entanto, tais drogas apresentavam propriedades farmacocinética, de toxicidade e estabilidade metabólica insuficientes para serem utilizadas (CHALLINOR; BODE, 2015). Os desafios com as metodologias de extrações, purificações, descrições estruturais, exigência de sínteses complexas, deficiência de suprimento do material biológico, competição entre indústrias farmacêuticas, advento de medicamentos genéricos e baixo retorno financeiro resultaram na desistência de muitas indústrias farmacêuticas em pesquisas de novos medicamentos (BOUFRIDI; QUINN, 2018; WRIGHT, 2017). Isso refletiu diretamente na oferta de novos medicamentos, principalmente os antibióticos, e fomentou a atual crise industrial nessa área.

Com o esgotamento ou baixo rendimento dos compostos ou moléculas obtidas pela síntese combinatória e a melhoria nas tecnologias de refinamento a pesquisa com produtos naturais tem sido exigida e retomada (ALMEIDA *et al.*, 2020; LAWRENCE, 1999; POLAVARAPU; SANTORO, 2020). Dentre as vantagens para o

retorno a estas pesquisas estão o grande número de moléculas menores que 500 Daltons, moléculas com menos anéis aromáticos, mais carbonos com hibridização sp^3 e mais centros estereoquímicos encontrados nos produtos naturais. Estas características permitem maiores sucessos nas sínteses combinatórias e estão diretamente ligadas ao sucesso clínico das moléculas (BOUFRIDI; QUINN, 2018).

De tal maneira as investigações de produtos naturais com propriedades farmacológicas, destacando os antibióticos, têm sido encaradas com grande expectativa e entusiasmo. Em recente revisão realizada por Dai e colaboradores (2020), 256 novas estruturas químicas de origens botânica (alcalóides, cumarinas, fenóis, quinonas, terpenóides), fúngica e bacterianas, distribuídas entre onze classes químicas estão sob análise com potenciais propriedades antibacterianas. Associada à síntese química, à biologia molecular, à biologia genética, revisão de propriedades medicamentosas de antibióticos antigos e preservação dos antibióticos contemporâneos, a pesquisa de novos produtos naturais com atividades antibióticas é apontada por Wright (2017) como o caminho para a solução da crise da resistência microbiana aos medicamentos.

Dentre os recursos naturais tem sido demonstrado que as plantas são uma importante fonte de compostos farmacológicos, porém pouco explorada (BORGES *et al.*, 2013). As aplicações etnofarmacológicas associadas aos atuais recursos tecnológicos e metodologias de extração ratificadas têm possibilitado a descobertas de inúmeras moléculas com funções de prevenção, proteção e combate a injúrias da saúde humana. A família Myrtaceae é uma das famílias bem descritas com diversas propriedades: anti-inflamatória a analgésica (DENNY *et al.*, 2013), antibiótica (DA SILVA SA *et al.*, 2017; ZIDA *et al.*, 2017; HMOTEH; MUSTHAF; VORAVUTHIKUNCHAI, 2018; SANTOS, C. A. *et al.*, 2020), inseticida (MURCIA-MESEGUER; ALVES, 2018), antioxidante (RAMADHANIA *et al.*, 2017; JOFRÉ *et al.*, 2019), antineoplásica (CHUA *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2020), hepatoprotetivo (AL-SAYED *et al.*, 2020), gastroprotetivo (AL-SAYED *et al.*, 2020), neuroprotetivo (THOMAZ *et al.*, 2018; MARMITT *et al.*, 2020), anticoagulante (REHMAN *et al.*, 2019) entre outros.

Nosso trabalho foi desenvolvido com a *Eugenia klotzschiana* O. Berg, uma espécie arbustiva de Myrtaceae indicada para contenção de erosões em terrenos

degradados. Seus frutos periformes são insumos culinários consumidos em geleias, compotas e sucos (CARNEIRO *et al.*, 2017). Endêmica da fitofisionomia cerrado, a espécie está classificada como vulnerável pela Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (2004) no território paulista.

O domínio cerrado ocupa 22% do território brasileiro, comporta um terço da biodiversidade nacional e cinco por cento da flora e fauna mundial. É o segundo maior bioma (Savana) nacional e com intensa antropização pela expansão agrícola e pecuária (MARTINELLI *et al.*, 2010; SANTOS, M. A. DOS *et al.*, 2010; CLEMENTE; ESPÍRITO-SANTO; LEITE, 2020) resultando na extinção de inúmeras espécies (BRASIL, [S.d.]). A paisagem é um mosaico florístico de pastagens a florestas em latossolos ácidos e bem drenados (SANTOS, M. A. DOS *et al.*, 2010) com baixa disponibilidade de nutrientes. O período de seca compreende quatro a sete meses do ano e as temperaturas médias anuais variam de 20° a 26° C. Embora as médias de temperatura sejam baixas o INPE registra altos índice de radiação UV. Estes estresses abióticos, assim como ataques constantes de microrganismos e herbívoros, são responsáveis pela ativação do metabolismo secundário das plantas estimulando a síntese de fitoquímicos que, no caso das Myrtaceae, possuem comprovadas atividades biológicas benéficas aos seres humanos, principalmente terpenos (ABBASI *et al.*, 2020; BATIHA *et al.*, 2020; CELAJ *et al.*, 2020). Até então sabe-se que o óleo essencial de folhas e flores de *E. klotzschiana* possuem predominância de sesquiterpenos na análise química, altos índices de atividade antioxidante com EC₅₀ variando de 5,70 µg.mL⁻¹ a 29,77 µg.mL⁻¹, e boa atividade antimicrobiana contra *Prevotella nigrescens* e *Streptococcus mutans* (CARNEIRO *et al.*, 2017) e IC₅₀ igual a 6,40 µg.mL⁻¹ de infusão de folhas de *E. klotzschiana* (TAKAO, L. K. .; IMATOMI; GUALTIEIRI, 2015). Poucos estudos foram realizados com os fitoquímicos presentes nas folhas, caules, raízes e frutos de *Eugenia klotzschiana*. Nosso trabalho apresenta um estudo com folhas, caules e raízes utilizando metodologias de extração ainda não empregadas e novos testes antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, N. *et al.* Extraction and phytoanalysis of chemical compounds of *Eucalyptus globulus* leaf native to Dehloran, Ilam Province, Iran by HS-SPME and GC-MS. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 8, n. 6, p. 647, 2020.
- ALMEIDA, A. *et al.* Plant triterpenoids with bond-missing skeletons: biogenesis, distribution and bioactivity. **Natural Product Reports**, 2020.
- AL-SAYED, E. *et al.* Anti-inflammatory, hepatoprotective and antioxidant activity of ellagitannin isolated from *Melaleuca styphelioides*. **Phytochemistry**, v. 177, n. May, p. 112429, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112429>>.
- BATIHA, G. E. S. *et al.* *Syzygium aromaticum* L. (myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. **Biomolecules**, v. 10, n. 2, 2020.
- BORGES, A. *et al.* Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. **Microbial Drug Resistance**, v. 19, n. 4, p. 256–265, 2013.
- BOUFRIDI, A.; QUINN, R. J. Harnessing the Properties of Natural Products. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*, v. 58, n. September 2017, p. 451–70, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010716-105029>>.
- BRASIL. *Cerrado*. **ICMBio Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade**. [S.l.]: Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<https://www.icmbio.gov.br/portal/geoprocessamentos>>. , [S.d.]
- BROWN, E. D.; WRIGHT, G. D. Antibacterial drug discovery in the resistance era. **Nature**, v. 529, n. 7586, p. 336–343, 2016.
- CARNEIRO, N. S. *et al.* Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from leaves and flowers of *Eugenia klotzschiana* Berg (Myrtaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 1907–1915, 2017.
- CASTRO, M. C. *et al.* Development, environmental degradation, and disease spread in the Brazilian Amazon. **PLoS Biology**, v. 17, n. 11, p. 4–11, 2019.
- CDC. *Antibiotic resistance threats in the United States, 2019*. **Center for Disease Control and Prevention**. Atlanta, GA, U.S.A.: U. S., 2019.
- CELAJ, O. *et al.* **Phloroglucinols from Myrtaceae: attractive targets for structural characterization, biological properties and synthetic procedures**. [S.l.: s.n.], 2020. v. 2.
- CHALLINOR, V. L.; BODE, H. B. Bioactive natural products from novel microbial sources. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1354, n. 1, p. 82–97, 2015.
- CHUA, L. K. *et al.* Anticancer Potential of *Syzygium* Species: a Review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 74, n. 1, p. 18–27, 2019.

CLEMENTE, C. M. S.; ESPÍRITO-SANTO, M. M. DO; LEITE, M. E. Estimates of deforestation avoided by protected areas: a case study in Brazilian tropical dry forests and Cerrado. **Landscape Research**, v. 45, n. 4, p. 470–483, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/01426397.2020.1730773>>.

DA SILVA SA, F. A. *et al.* Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Myrcia tomentosa* (Aubl.) DC. leaves. **Molecules**, v. 22, n. 7, p. 1–10, 2017.

DAI, J. *et al.* Recent progress of antibacterial natural products: Future antibiotics candidates. **Bioorganic Chemistry**, v. 101, n. May, 2020.

DENNY, C. *et al.* *Guava pomace*: A new source of anti-inflammatory and analgesic bioactives. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 1, 2013. Disponível em: <BMC Complementary and Alternative Medicine>.

DONOHOE, M. Causes and health consequences of environmental degradation and social injustice. **Social Science and Medicine**, v. 56, n. 3, p. 573–587, 2003.

ECDC. *Antimicrobial Resistance Tackling the Burden in the European Union*. **European Centre for Disease Prevention and Control**. [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.oecd.org/health/health-systems/AMR-Tackling-the-Burden-in-the-EU-OECD-ECDC-Briefing-Note-2019.pdf>>. , 2019

EVERARD, M. *et al.* The role of ecosystems in mitigation and management of Covid-19 and other zoonoses. **Environmental Science and Policy**, v. 111, n. May, p. 7–17, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envsci.2020.05.017>>.

HMOTEH, J.; MUSTHAF, K. S.; VORAVUTHIKUNCHAI, S. P. Effects of *Rhodomyrtus tomentosa* extract on virulence factors of *Candida albicans* and human neutrophil function. **Archives of Oral Biology**, v. 87, n. April 2017, p. 35–42, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.11.007>>.

JOFRÉ, I. *et al.* Antioxidant Effect of a Polyphenol-Rich Murtilla (*Ugni molinae* Turcz.) extract and its effect on the regulation of metabolism in refrigerated boar sperm. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, 2019.

KARESH, W. B. .; FORMENTY, P. Infectious diseases. **Connecting Global Priorities: Biodiversity and Human Health A State of Knowledge Review**. Geneva, Switzerland: World Health Organization and Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2015. p. 360pp. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/174012/1/9789241508537_eng.pdf>.

LAWRENCE, R. N. Rediscovering natural product biodiversity. **Drug Discovery Today**, v. 4, n. 10, p. 449–451, 1999.

LI, J. W. H.; VEDERAS, J. C. Drug discovery and natural products: End of era or an endless frontier? **Biomeditsinskaya Khimiya**, v. 57, n. 2, p. 148–160, 2011.

MAJEED, M. T.; OZTURK, I. Environmental degradation and population health outcomes: a global panel data analysis. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 13, p. 15901–15911, 2020.

MARMITT, D. J. *et al.* Neuroprotective potential of *Myrciaria plinioides* D. Legrand

extract in an in vitro human neuroblastoma model. **Inflammopharmacology**, v. 28, n. 3, p. 737–748, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10787-019-00652-y>>.

MARTINELLI, L. A. *et al.* Agriculture in Brazil: Impacts, costs, and opportunities for a sustainable future. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 2, n. 5–6, p. 431–438, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cosust.2010.09.008>>.

MURCIA-MESEGUER, A.; ALVES, T. J. S. Insecticidal toxicity of thirteen commercial plant essential oils against **Spodoptera exigua** (Lepidoptera: Noctuidae). *Phytoparasitica*, n. Mapama 2017, p. 1–13, 2018.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020.

OECD. **Glossary of Environment Statistics, Studies in Methods**. New York: United Nations, 1997. v. 67. (F).

PATRIDGE, E. *et al.* An analysis of FDA-approved drugs: Natural products and their derivatives. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 2, p. 204–207, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2015.01.009>>.

PETTAY, J. E. *et al.* Natural Selection on Female Life-History Traits in Relation to Socio-Economic Class in Pre-Industrial Human Populations. **PLoS ONE**, v. 2, n. 7, 2007.

PIMENTEL, D. *et al.* Ecology of increasing diseases: Population growth and environmental degradation. **Human Ecology**, v. 35, n. 6, p. 653–668, 2007.

POLAVARAPU, P. L.; SANTORO, E. Vibrational optical activity for structural characterization of natural products. **Natural Product Reports**, 2020. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=D0NP00025F>>.

RAMADHANIA, Z. M. *et al.* Antioxidant activity from ten species of Myrtaceae. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 10, n. Special Issue may, p. 5–7, 2017.

REHMAN, A. A. *et al.* In vivo assessment of anticoagulant and antiplatelet effects of *Syzygium cumini* leaves extract in rabbits. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 1–8, 2019.

RICKLEFS, R. E. **A Economia da Natureza**. 6. ed. Rio de Janeiro/RJ: Guanabara Koogan, 2012.

SANTOS, C. A. *et al.* Bioactive Properties of *Syzygium cumini* (L.) Skeels Pulp and Seed Phenolic Extracts. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. May, 2020.

SANTOS, M. A. DOS *et al.* O Cerrado Brasileiro: Notas Para Estudo. **CEDEPLAR - Centro de Desenvolvimento e Planejamento Regional da UFMG**, v. 387, p. 15, 2010.

SÃO PAULO. **Resolução SMA - 48**, de 21-9-2004. *IMESP Imprensa Oficial do Estado de São Paulo*, v. 114, n. 179, p. 34, 2004. Disponível em: <http://www.ambiente.sp.gov.br/wp-content/uploads/resolucao/2004/2004_Res_SMA48.pdf>.

SUMMIT, W. *et al.* Poverty, infectious disease, and environmental degradation as threats to collective security: A UN panel report. **Population and Development Review**, v. 31, n. 3, p. 595–600, 2005.

THOMAZ, D. V. *et al.* Antioxidant and neuroprotective properties of *Eugenia dysenterica* leaves. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, 2018.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em Ecologia**. 3. ed. Porto Alegre/RS: Artmed, 2010.

VAN TRAN, N. The environmental effects of trade openness in developing countries: conflict or cooperation? **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 16, p. 19783–19797, 2020.

VERMA, S. R. *et al.* Role of environmental factors on the spread of bacterial diseases : A modeling study. **Computational Ecology and Software**, v. 10, n. 2, p. 59–73, 2020.

VESCO, P. *et al.* Natural resources and conflict: A meta-analysis of the empirical literature. **Ecological Economics**, v. 172, n. December 2019, p. 106633, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2020.106633>>.

WARR, B.; AYRES, R. U. Useful work and information as drivers of economic growth. **Ecological Economics**, v. 73, p. 93–102, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolecon.2011.09.006>>.

WHO. **Address by the Regional Director at the Regional Meeting of AMR Taskforce**. . [S.l.]: Regional Office for South-East Asia, 2019. Disponível em: <<https://www.who.int/southeastasia/news/speeches/detail/address-by-the-regional-director-at-the-regional-meeting-of-amr-taskforce>>.

WRIGHT, G. D. Opportunities for natural products in 21st century antibiotic discovery. **Natural Product Reports**, v. 34, n. 7, p. 694–701, 2017.

ZHANG, X. *et al.* Active monomer rtr-1 derived from the root of *Rhodomyrtus tomentosa* induces apoptosis in gastric carcinoma cells by inducing er stress and inhibiting the stat3 signaling pathway. **Cancer Management and Research**, v. 12, p. 3117–3129, 2020.

ZIDA, A. *et al.* Anti-*Candida albicans* natural products, sources of new antifungal drugs: A review. **Journal de Mycologie Medicale**. [S.l.]: Elsevier Masson SAS. , 1 mar. 2017

CAPÍTULO 1

Atividade antioxidante e antibiótica de extratos de folha, caule e raízes de *Eugenia klotzschiana* O. Berg (Myrtaceae)

Este artigo fez parte do conteúdo apresentado no exame de qualificação e foi submetido ao Journal of Ethnopharmacology.

RESUMO

Os investimentos nas áreas de saúde que tratam infecções crônicas decorrentes da resistência antibiótica apresentada pelos microrganismos. Fatores sociais, ambientais, biológicos e econômicos têm agravado a atual situação nomeada como Crise dos Antibióticos. A busca por novas moléculas e compostos com propriedades antibióticas é um dos caminhos apontados para a provável solução e pesquisas com recursos naturais podem ser promissoras. De tal modo, este trabalho se propôs a investigar o potencial antioxidante e antimicrobiano de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* obtidos por maceração etanólica e aquosa e infusão aquosa. Os maiores rendimentos foram obtidos com as extrações foliares. Os extratos caulinares apresentaram os maiores índices de atividade antioxidante (IAA). As extrações, além de serem de baixo custo, apresentaram forte e moderadas atividades antimicrobianas contra *Escherichia coli* (ATCC-11229) como o extrato de maceração etanólica, infusão aquosa de folhas e extrato de maceração etanólica de folhas; moderada atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (ATCC- 25923) de todos os extratos e forte atividade antimicrobiana contra *Candida albicans* (ATCC 90028) de todos os extratos com exceção dos extratos de maceração aquosa de raiz e infusão de raiz com atividades moderadas.

ABSTRACT

Investments in health care areas with chronic infections resulting from antibiotic resistance presented by microorganisms have been increasing. Social, environmental, biological and economic factors have aggravated the current situation known as the Antibiotic Crisis. The search for new molecules and compounds with antibiotic properties is one of the paths indicated for the probable solution and research with natural resources can be promising. In such a way, this work proposed to investigate the antioxidant and antimicrobial potential of leaves, stems and roots of *Eugenia klotzschiana* obtained by ethanolic and aqueous maceration and aqueous infusion. The highest yields were obtained with leaf extractions. The stem extracts showed the highest levels of antioxidant activity index (AAI). The extractions, in addition to being low cost, had strong and moderate antimicrobial activities against *Escherichia coli* (ATCC-11229) such as ethanolic maceration extract, aqueous leaf infusion and ethanolic leaf maceration extract; moderate antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923) from all extracts and strong antimicrobial activity against *Candida albicans* (ATCC 90028) from all extracts with the exception of aqueous root maceration and root infusion extracts with moderate activities.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos 30 anos observou-se menor eficiência dos antibióticos industriais frente à crescente resistência dos microrganismos (DODDS, 2017; LANDECKER, 2016; LEVIN-REISMAN *et al.*, 2017). *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), *Escherichia coli* (*E.coli*) e *Candida albicans* (*C.albicans*) estão entre os microrganismos com maior número de registros de resistência e infecções hospitalares (FAO, 2017; ZIDA *et al.*, 2017). Estima-se que os custos anuais com saúde tem excedido US\$20 bi nos Estados Unidos da América e €1,6 bilhões na Europa devido a resistência a antibióticos (FAIR; TOR, 2014). Na Europa a previsão de gastos entre 2015 e 2050 em consequência a resistência a antibióticos é de €1,1 bilhões anuais (ECDC, 2019). A priorização da síntese química e o reduzido número de compostos aprovados no FDA (Food and Drugs Administration) nas últimas duas décadas fomentaram uma crise na indústria de fármacos que tem impulsionado a busca por novas moléculas e compostos (BROWN; WRIGHT, 2016) e investigação dos novos microrganismos patogênicos (BOUFRIDI; QUINN, 2018). Os recursos naturais podem oferecer moléculas de baixa toxicidade e maior eficiência no combate a resistência antibiótica (DAI, JIN; MUMPER, 2010; LAWRENCE, 1999; LUKITANINGSIH *et al.*, 2020) e estudos com extratos vegetais têm apresentado promissores resultados.

As plantas têm sido usadas há muito tempo pela medicina popular (BOUFRIDI; QUINN, 2018). Seus metabólitos são extensamente descritos na literatura como: protetores do sistema imune (SAFONOVA; SHILOV; PEREVOZCHIKOV, 2001), anticâncer (VUONG *et al.*, 2015), bactericidas (CHEN, M. *et al.*, 2017; ISLAM *et al.*, 2018; VÁZQUEZ-SÁNCHEZ; CABO; RODRÍGUEZ-HERRERA, 2015), anti-inflamatórios (LIU, J. Q. *et al.*, 2018), antioxidantes (JUHAIMI *et al.*, 2020), neuroprotetivos (Farzaei *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018), anti-hipertensivos (ANWAR *et al.*, 2017), , hipoglicêmicos e hipolipidêmicos (JOSHI *et al.*, 2018) e antivirais (SNENE *et al.*, 2017). Portanto, são uma valiosa fonte de novos antibióticos (ELOFF, 2019).

A produção de metabólitos secundários em plantas é estimulado pela presença de estresses no ambiente (DAI, JIN; MUMPER, 2010; LI, Y. *et al.*, 2020). O cerrado é um ambiente estressante devido aos elevados índice de radiação ultravioleta e teores de alumínio, solo escasso em nutrientes, com pH ácido, poucos nutrientes, longos períodos de seca, incêndios sazonais e predação. Esses fatores de estresse ativam

continuamente os sistemas de defesa das plantas que ocorrem nessa área (ABE; MIATTO; BATALHA, 2018; ALONSO-AMELOT; OLIVEROS-BASTIDAS; CALCAGNO-PISARELLI, 2007; COUTINHO, 1978). Em plantas, um dos principais mecanismos de defesa inclui a síntese de compostos do metabolismo secundário (N; P, 2018; TAIZ *et al.*, 2014). Esses metabólitos secundários podem atuar no controle antibiótico de fungos e bactérias (NOMAN *et al.*, 2020), manifestam efeito alelopático (JATOBA *et al.*, 2016), reduzem a presença de espécies reativas de oxigênio (radicais livres) (DOS SANTOS PEREIRA *et al.*, 2018; LUKITANINGSIH *et al.*, 2020) e impedem a herbivoria. Portanto, espécies viventes nesse ambiente estressante são promissoras fontes de novos fármacos.

A família Myrtaceae possui inúmeras descrições como fonte de compostos antioxidantes (DE OLIVEIRA, L. M. *et al.*, 2018; WESTON, 2010), antifúngicos (BARAC *et al.*, 2018; HMOTEH; MUSTHAFA; VORAVUTHIKUNCHAI, 2018; WESTON, 2010), antivirais (HA *et al.*, 2016; KANAMOTO *et al.*, 2001), anti-inflamatórios (DENNY *et al.*, 2013; DOS SANTOS PEREIRA *et al.*, 2018), antihiperlipidêmicos (DE SOUZA CARDOSO *et al.*, 2018), anticancerígenos (VUONG *et al.*, 2015) e outros. Sendo o mecanismo de resposta a estresse um fator evolutivo e hereditário, acredita-se que *Eugenia klotzschiana* O. Berg, restrita a um ambiente de permanente estresse como o cerrado, pode apresentar metabólitos promissores a descoberta de novos fármacos.

Eugenia klotzschiana O. Berg (Myrtaceae) é uma espécie endêmica de cerrado e em vulnerabilidade ambiental (SÃO PAULO, 2004). Apresenta porte arbustivo com formação de touceiras e suas folhas são ricas em magnésio e ferro (OLIVEIRA, G. C. DE *et al.*, 1999). Takao e colaboradores (2015) demonstraram que a atividade antioxidante da infusão de folhas de *E. klotzschiana* equivale a atividade encontrada no tradicional chá verde. Carneiro e colaboradores (2017) comprovaram que os óleos essenciais das folhas de *E. klotzschiana* apresentam boa atividade antibacteriana contra bactérias orais gram-positivas e negativas e moderada a alta atividade antioxidante fornecendo evidências iniciais de uma nova e alternativa fonte de substâncias de interesse medicinal. Em virtude do potencial farmacológico de *Eugenia klotzschiana*, e de estudos escassos, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante e antibiótico dos extratos de folhas, caules e raízes. Além disso serão comparadas as diferentes técnicas de extração por infusão e maceração

(aquosa e etanólica), tradicionais metodologias de extração da etnobotânica/etnofarmacologia de plantas medicinais.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Material vegetal

1.2.1.1 Coleta do material vegetal

As folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* foram coletadas em área de Cerrado da Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Paulo, Brasil (21° 58' a 22° 00' S e 47° 51' a 47° 52' O), em 21 de janeiro de 2015 (estação chuvosa) período de frutificação da espécie. Os órgãos superiores foram coletados com auxílio de tesoura de poda e as raízes por escavação com enxadão.

A exsicata da espécie está registrada no Herbário da Universidade Federal de São Carlos (SPSC) sob o número 8311.

1.2.1.2 Preparo do material vegetal

As folhas, caules e raízes foram secas em estufa com circulação de ar (Fanem) a 40° C por 72 horas. Em seguida foram pulverizadas separadamente em moinho industrial (Manesco e Ranieri – MR 340) e o pó mantido sob refrigeração de 5 °C em sacos plásticos vedados.

1.2.1.3 Obtenção dos extratos

As metodologias de extrações aquosas e etanólicas são rápidas, de baixo custo, de fácil acesso e seguras ao consumo humano (DAI, JIN; MUMPER, 2010; VUONG *et al.*, 2015). Portanto, para a obtenção dos extratos, foram utilizadas três técnicas de extração: infusão aquosa, maceração aquosa e maceração etanólica. Foram utilizados 20 g do pó de folhas, caules ou raízes para cada extração. Na extração por infusão os materiais vegetais foram suspensos separadamente em 200 mL de água destilada a 98° C e colocados em banho de ultrassom (UNIQUE Ultrasonic cleaner) por 30 minutos. Na extração por maceração os materiais vegetais

foram suspensos em 200 mL de água destilada, separadamente, em becker de vidro e colocados em banho de ultrassom por 30 minutos. Para a extração etanólica, os materiais vegetais pulverizados foram suspensos em 200 mL de etanol absoluto P.A. (Dinâmica Química), separadamente, em becker de vidro e colocados em banho de ultrassom por 30 minutos. Todos os extratos foram filtrados em Funil de Büchner coberto com papel de filtro (205 µm) acoplado a bomba de vácuo (FANEM). Em seguida os extratos etanólicos foram secos em caixa com ventilação contínua e os extratos aquosos da maceração e infusão foram congelados a -20° C e liofilizados (Liofilizador Enterprise I Terroni).

Ao final das extrações foram obtidos 09 extratos: infusão de folha (Ifo), infusão de caule (Ica), infusão de raiz (Ir), maceração de folha (Mfo), maceração de caule (Mca) e maceração de raiz (Mr), maceração etanólica de folha (Efo), maceração etanólica de caule (Eca) e maceração etanólica de raiz (Er).

1.2.2 Atividade antioxidante

O potencial antioxidante foi avaliado utilizando-se DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) em solução metanólica na concentração 30,75 µg.mL⁻¹. Os extratos foram solubilizados em seis concentrações (4,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,2; 0,1 mg.mL⁻¹) para os testes. Triplicatas com 1,95mL de DPPH e 0,05 mL de extrato permaneceram em temperatura ambiente por 90 minutos até a leitura em espectrofotômetro (HACH DR5000) a 517nm. O controle negativo foi feito com 1,95 mL de solução de DPPH e 0,05 mL de metanol. Os controles positivos foram realizados com Quercetina HPLC (Sigma-Aldrich) e Ácido Gálico Anidro (Vetec) nas mesmas concentrações dos extratos. O índice de atividade antioxidante (AAI) foi calculado pela fórmula: $IAA = \frac{\text{concentração final do radical DPPH } (\mu\text{g.mL}^{-1})}{IC_{50} (\mu\text{g.mL}^{-1})}$. O IC₅₀ foi calculado por regressão linear entre capacidade de sequestrar radical (I%) e a concentração do extrato. A capacidade de sequestrar radical (I%) foi definido usando a fórmula: $I\% = \frac{\text{absorbância do controle negativo} - \text{absorbância da amostra}}{\text{absorbância do controle negativo}} \times 100$. Scherer e Godoy (2009) definem escalas de atividade antioxidante em que AAI<0,5 (fraca); 0,5<AAI<1,0 (moderada); 1,0<AAI<2,0 (forte) e AAI>2,0 (muito forte)

1.2.3 Atividade antibacteriana

Para a avaliação da atividade bactericida *Escherichia coli* (ATCC-11229) e *Staphylococcus aureus* (ATCC- 25923) foram repicadas em caldo Mueller Hinton (Sigma Aldrich) e incubadas por 24 horas a 38° C em estufa (FANEM Estufa de Cultura Modelo 002 CB). Centrifugou-se (Eppendorf Centrifuge 5418) a suspensão a 3000 rpm por 10 minutos e o pellet foi ressuscitado em solução PBS (phosphate buffered saline) até a obtenção de turbidez 0.5 da escala Mc Farland (absorbância 0.08 – 1.0, 625nm). Em seguida, fez-se uma nova diluição 1:10 para obtenção de suspensão de trabalho com 5×10^5 UFC.mL⁻¹. Os extratos foram solubilizados em 3% de DMSO (dimetilsulfóxido) e caldo Mueller Hinton. Em microplaca de 96 poços, fez-se diluição seriada em triplicata com 95 µL de suspensão (extrato vegetal/caldo) obtendo concentração inicial de 1000 µg.mL⁻¹ e final de 15,62 µg.mL⁻¹.

O controle foi montado com clorexidina comercial (Riohex 0,5% Solução Alcoólica) seguindo as mesmas concentrações dos extratos. Pipetou-se 5 µL da suspensão bacteriana de trabalho em cada poço e as placas foram incubadas a 38° C em estufa. Após 24 horas adicionou-se 20 µL de solução de Rezasurina (Sigma-Aldrich) a 100 µg.mL⁻¹ incubando por quatro horas a 38° C. Os controles negativos foram feitos em triplicatas com caldo Mueller-Hinton + suspensão bacteriana + DMSO, caldo Mueller-Hinton + suspensão bacteriana e somente caldo Mueller-Hinton.

1.2.4 Atividade antifúngica

Para a avaliação da atividade antifúngica, *Cândida albicans* (C. albicans – ATCC 90028) foi inoculada em caldo TSB – Tryptic Soy Broth (Becton, Dickinson and Company) e incubada por 48 horas a 38° C em estufa. O inóculo foi centrifugado (Eppendorf Centrifuge 5418) a 3000 rpm por 10 minutos e o pellet foi ressuscitado em PBS até a turbidez correspondente a 0.5 da Escala de Mc Farland mensurada em espectrofotômetro (FEMTO Espectrofotômetro 600) a 530nm para obter suspensão-padrão. A suspensão de trabalho foi adquirida através de duas diluições seriadas 1:20 e 1:50 em PBS da suspensão-padrão obtendo-se $5,0 \times 10^2$ a $2,5 \times 10^3$ células.mL⁻¹. Cada extrato vegetal foi dissolvido em DMSO a 3% e em caldo RPMI 1640 (Sigma Aldrich), pH 7,0 ± 0,1, na concentração de 1000 µg.mL⁻¹. As triplicatas foram montadas

em microplacas de 96 poços, por diluição seriada, de modo que cada poço continha 95µL da respectiva concentração do extrato vegetal suspenso em RPMI 1640 e 0,05 µL de suspensão com células de *C. albicans*. A placa foi incubada por 48 horas a 36,1° C em estufa. Após a incubação, 20 µL de solução aquosa de resazurina a 100 µg.mL⁻¹ foi adicionado a cada poço verificando-se visualmente o resultado decorridos 05 horas. Os controles em triplicatas com RPMI 1640, RPMI 1640 + suspensão fúngica e RPMI 1640 + suspensão fúngica + DMSO foram montados na mesma placa.

1.2.5 Concentração mínima inibitória (MIC)

A resazurina (Sigma Aldrich) é um composto que permite dimensionar a atividade de desidrogenases mitocondriais e conseqüentemente a viabilidade celular de uma amostra. Na presença de atividade metabólica celular (presença de células viáveis) a resazurina (azul) adquire elétrons da cadeia respiratória celular e é reduzida a resorufin (rósea) (ABCAM, 2018). A MIC foi definida pela menor concentração em que a resazurina permaneceu azul (NCCLS, 2002). Um composto têm boa atividade antibiótica quando a MIC <100 µg.mL⁻¹, 100<moderada<500, 500<fraca<1000 e maior que 1000 µg.mL⁻¹ é inativa (Holetz et al., 2002; Da Silva Sa et al., 2017)

1.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados pelo teste de Tukey a 0.05 de significância no programa Graphpad Prism 6.0. A relação estatística entre os rendimentos das extrações foi calculada por qui-quadrado em Graphpad Quick Calcs.

1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1 Extrações

O rendimento dos extratos apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os órgãos e entre as técnicas de extração. As extrações efetuadas com água foram as que apresentaram maiores rendimentos em todos os órgãos, com destaque para

a infusão. Dentre os órgãos avaliados, a folha apresentou o maior rendimento (Tabela 1.1).

Tabela 1.1: massa (g) e rendimento (%) dos extratos obtidos por infusão aquosa e macerações aquosa e etanólica dos diferentes órgãos de *Eugenia klotzschiana*.

Extrato	Infusão aquosa		Maceração aquosa		Maceração etanólica	
	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)
Folha	9,107 Aa	18,21	6,933 Ac	13,867	8,465 Ab	16,93
Caule	4,939 Ba	9,88	3,674 Bb	7,35	2,980 Bc	5,96
Raiz	4,805 Ba	9,61	3,351 Bb	6,70	0,633 Cc	1,27

Letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as linhas; letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as colunas.

Extrações podem ter diferentes rendimentos que variam devido a polaridade do solvente, características físico-químicas do órgão vegetal, tempo e temperatura de extração e proporção solvente/material vegetal (LUKITANINGSIH *et al.*, 2020; VUONG *et al.*, 2015). De acordo com Narita e Inouye (2012) a extração subcrítica aquosa (alta temperatura e pressão) apresenta rendimento progressivo de 25° C à 270° C podendo substituir a extração etanólica em alguns casos, porém, temperaturas acima de 210°C degradam os compostos antioxidantes. Dai e Mumper (2010) descreveram que as extrações aquosas têm baixa eficiência na extração de fitoquímicos em baixas temperaturas e que o aquecimento e pressurização do solvente melhoram o rendimento, explicando o menor rendimento da maceração aquosa em relação a infusão.

No presente trabalho as folhas apresentaram maior rendimento quando comparadas aos demais órgãos. As folhas são os órgãos vegetativos com maior atividade metabólica nas plantas e nas extrações podem ter sido carreados carboidratos, proteínas e pigmentos que agregam massa ao extrato final (DAI, JIN;; MUMPER, 2010). Este órgão têm relação direta com estresse hídrico e radiação ultravioleta, dois dos fatores que Alonso-Amelot e colaboradores (2007) apresentam como modificadores da concentração de compostos antioxidantes nos órgãos vegetais. Além desses fatores, nas raízes, a presença de microrganismos patogênicos no solo ativam os mecanismos de defesa e é um fator relevante para explicar a presença de compostos antioxidantes no órgão (SMOLANDER *et al.*, 2012). No

período em que as plantas utilizadas neste trabalho foram coletadas os índices de radiação ultravioleta (IUV=12,02) e a temperatura média do período (Tmed=26,75 °C) (INPE- Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais) estavam elevados. Porém, a planta não era acometida por estresse hídrico por se tratar de estação chuvosa. Além disso, a planta estava em fase reprodutiva. Portanto, é possível que o potencial antioxidante dessa espécie seja ainda mais acentuado em outros períodos de coleta.

1.4.2 Atividade antioxidante e antibiótica

Os resultados obtidos para o IC₅₀ de todos os extratos, excetuando o de infusão de raiz (Ir) e maceração aquosa de raiz (Mr), são significativamente menores em comparação aos controles positivos (ácido gálico e quercetina). Esse resultado se reflete no obtido para a atividade antioxidante (AAI). Todos os extratos avaliados apresentaram AAI significativamente maior que os controles positivos excetuando Ir e Mr. Com base na escala determinada por Scherer e Godoy (2009), todos os extratos avaliados são muito fortes por apresentarem valores acima de 2, com exceção de Mr que é forte (1>IAA>2). Essas duas variáveis utilizadas indicam o potencial dos extratos de *E. klotzschiana* na obtenção de novos compostos ou complexos fitoterápicos com atividade antioxidante.

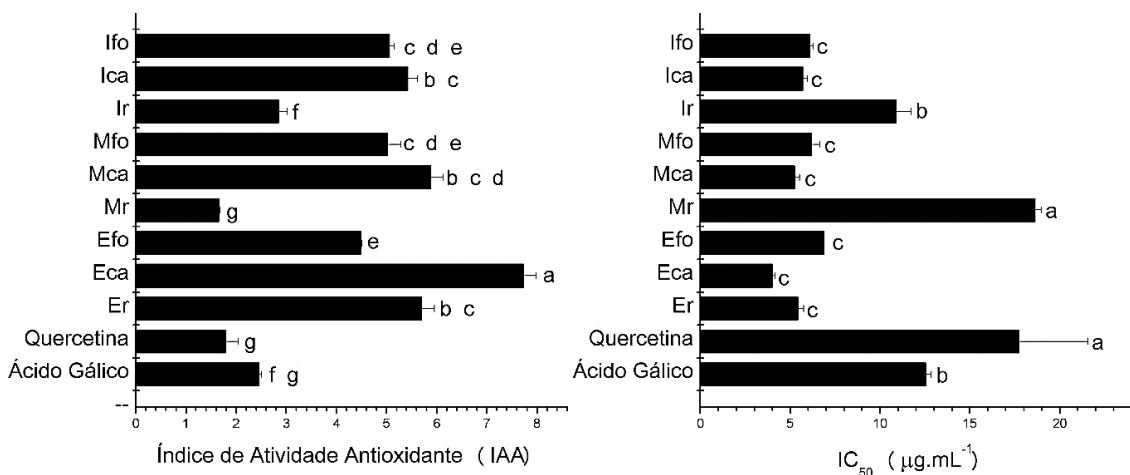


Figura 1: Concentração inibitória de 50% (IC₅₀) e índice de atividade antioxidante (IAA) de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* extraídas por infusão aquosa e maceração aquosa e etanólica. Letras minúsculas não diferem pelo Teste de Tukey (p>0,05). Barras representam desvio padrão (n=3). Quercetina e Ácido Gálico: referência industrial de composto antioxidante utilizado como controle positivo.

Takao e colaboradores (2015) obtiveram na análise da infusão de folhas de *Eugenia klotzschiana* um IAA de 2,15 enquanto em nosso estudo o IAA foi de 1,78. Essa diferença possivelmente é resultante de épocas de coleta distintas. O mesmo autor destaca a importância da relação IAA/rendimento de um determinado extrato em que o baixo rendimento pode ser compensado por uma alta atividade antioxidante e vice-versa. Neste trabalho podemos evidenciar que o rendimento em caules e raízes foi menor em relação ao obtido com as folhas, porém, o IAA dos extratos lca, Mca, Eca e Er possuem valores estatisticamente iguais ou superiores ao compararmos aos IAA dos extratos das folhas.

Os compostos antioxidantes são descritos como bioativos benéficos para o tratamento de diversas enfermidades, inclusive como antibióticos (Islam et al., 2018; Yin et al., 2019) e a família Myrtaceae é conhecida por possuir elevadas concentrações de terpenos em suas folhas (KESZEI et al., 2010; RODRIGUES et al., 2018; TOLEDO et al., 2020). A literatura descreve as extrações etanólicas (DA SILVA SA et al., 2017) e hidrodestilação para obtenção de óleos essenciais (CARNEIRO et al., 2017; DIAS et al., 2019) como ótimos recursos para obtenção de terpenos. Carneiro e colaboradores (2017), trabalhando com óleos essenciais obtidos de folhas de *E. klotzschiana* secas em temperatura ambiente, obtiveram predominantemente dois sesquiterpenos: espatulenol, β -bisabolene. O espatulenol, compondo a molécula natural Nudibacatumona ((+)-espathulenol, (-)-4 β ,10 α -aromadendranediol e ent-T-muurolol) apresentou propriedades antimicrobianas contra *E. coli* e *S. aureus* (LIU, H. X. et al., 2013) porém, não apresentou nenhuma atividade antifúngica e antibacteriana (*E. coli* e *Bacillus megaterium*) quando associada a tridensenona no trabalho de Wessels e colaboradores (2001). Nascimento (2007) relata eficiente ação antimicrobiana na sinergia entre β -bisabolene e Ampicilina contra diferentes cepas de *S. aureus*. Nas extrações com folhas in natura de *E. klotzschiana* a predominância foi de α -copaene que é conhecido na medicina por suas propriedades antimicrobianas (TOLEDO et al., 2020) e anti-inflamatórias (MONIZ et al., 2019). No entanto, utilizando folhas secas em estufa a 40° C na extração, além de maior rendimento em β -bisabolene, Carneiro e colaboradores (2017) obtiveram as moléculas α -(E)-bergamotene, germacrene-D e α -cariofileno. O α -(E)-bergamotene está amplamente associado a respostas inseticidas (LI, R. et al., 2017; MURCIA-MESEGUER; ALVES, 2018) por suas propriedades citotóxicas (KHANAVI et al., 2012) e atividade

antibacteriana (KIM *et al.*, 2016). O composto α -cariofileno (α -humulene) é conhecido e testado por suas propriedades anti-inflamatória (ROGERIO *et al.*, 2009), antitumoral (AMBROŽ *et al.*, 2019; CHEN, H. *et al.*, 2019) e envolvido em resposta antimicrobiana (MENG *et al.*, 2016). De tal modo, podemos inferir que o processamento das folhas com secagem em estufa a 40° C induz a formação de compostos que potencializam a atividade antimicrobiana dos extratos foliares de *E. klotzschiana*.

Extrações aquosas em espécies de *Eugenia* têm apresentado, além de terpenos, quantidades significativas de tanino (DE SOUZA *et al.*, 2018; N; P, 2018) , polifenóis (DENNY *et al.*, 2013; VUONG *et al.*, 2015), flavonoides (N; P, 2018)(N; P, 2018) e catequinas (VUONG *et al.*, 2015) entre os fenóis e saponinas (NASCIMENTO, D. K. D. *et al.*, 2016) como glicosídeo de atividades antimicrobianas comprovadas (TOLEDO *et al.*, 2020).

Nos testes microbiológicos observamos (Tabela 1.2) que os extratos apresentaram distintos resultados.

Tabela 1.1: Valores ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) de Concentração Mínima Inibitória (MIC) para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* obtidos com extratos de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana*. Clorexidina = controle positivo. Infusão de folha (Ifo), infusão de caule (Ica), infusão de raiz (Ir), maceração de folha (Mfo), maceração de caule (Mca), maceração de raiz (Mr), maceração etanólica de folhas (Efo), maceração etanólica de caule (Eca), maceração etanólica de raiz (Er).

Extratos	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
Ifo	250	500	31,25
Ica	>1000	250	31,25
Ir	>1000	500	250
Mfo	>1000	500	15,62
Mca	>1000	250	15,62
Mr	>1000	250	250
Efo	500	125	31,25
Eca	1000	250	15,62
Er	15,62	250	15,62
Clorexidina	7,81	3,9	15,62

Para os testes com *E. coli* foi obtido atividade boa (MIC=15,62 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) com extrato Er, atividade moderada (MIC=250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) com extratos Ifo e Efo (MIC=500

$\mu\text{g.mL}^{-1}$) e atividade fraca com *Eca* ($\text{MIC}=1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Holetz e colaboradores (2002) com extrato hidroalcoólico de folhas de *Eugenia uniflora* obtiveram $\text{MIC}=500 \mu\text{g.mL}^{-1}$, Da Silva Sa e colaboradores (2017) e Sá e colaboradores (2018) com extrato etanólico de folhas de *Myrcia tomentosa* e *Campomanesia adamantium*, respectivamente, obtiveram $\text{MIC}>1000$ para *E.coli*. As bactérias gram-negativas, como *E. coli*, impedem ou dificultam o acesso ao citoplasma celular devido a membrana externa que repele compostos anfipáticos, pela alta atividade de bombas de efluxo com reconhecimento de moléculas hidrofílicas na membrana interna e por vesículas com enzimas de defesa química que lhes conferem resistência (FAIR; TOR, 2014). Em extrações etanólicas obtém-se maior quantidade de sesquiterpenos (DA SILVA SA *et al.*, 2017) que, em bactérias gram-negativas, podem inibir a formação de filmes (ZIDA *et al.*, 2017), interromper o empacotamento da bicamada lipídica impedindo a ação de enzimas de defesa, desestabilizar a estrutura da membrana e/ou aumentar a sua permeabilidade (CONTRERAS-MORENO *et al.*, 2016).

Nos experimentos com *Staphylococcus aureus* os extratos apresentaram atividade moderada ($125<\text{MIC}<500 \mu\text{g.mL}^{-1}$) com destaque para o extrato Efo com $\text{MIC}=125 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Durães e colaboradores (2017), com extrato etanólico de folhas de *Psidium myrsinites*, também obtiveram $\text{MIC}=125 \mu\text{g.mL}^{-1}$; De Souza e colaboradores (2018), com extrato hidrodestilado de folhas de *Eugenia uniflora* obtiveram $\text{MIC}=153,93 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e Sá e colaboradores (2018), com extrato etanólico de *Campomanesia adamantium* obtiveram $\text{MIC}= 250 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Monoterpenos e sesquiterpenos são hidrofóbicos, portanto permeiam facilmente a membrana celular afetando as vias metabólicas e injuriando organelas (KNOBLOCH *et al.*, 1989). Todos os extratos apresentaram boa atividade ($15,62<\text{MIC}<31,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$) contra *C. albicans*, exceto Ir e Mr que apresentaram atividade moderada ($\text{MIC}=250 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Resultado semelhante foi obtido por Da Silva Sa e colaboradores (2017) ($8,0 <\text{MIC}<32,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e Sá e colaboradores (2018) ($\text{MIC}=125$) com extratos etanólicos de folhas de *Myrcia tomentosa* e *Campomanesia adamantium*, respectivamente. Porém, demais trabalhos como Holetz e colaboradores (2002) com *Eugenia uniflora*, Toledo e colaboradores (2020) com *Eugenia involucrata* e Durães e colaboradores (2017) com *Psidium myrsinites* descrevem atividade inativa de seus extratos de folhas hidroalcoólicos, hidrodestilados e etanólicos, respectivamente. *Candida albicans* possui duas morfologias patogênicas distintas, a filamentosa e a levedura, em que a

primeira possui força mecânica para invadir estruturas orgânicas e a segunda a propriedade de formação de biofilmes resistentes. Os sesquiterpenos impedem a formação do biofilme além de interferir no processo de transição filamento/levedura (ZIDA *et al.*, 2017). Os resultados de boa atividade contra *C. albicans* podem também ser atribuídos à provável presença de fenóis nos extratos. Knobloch e colaboradores (1989) observaram que terpenos mais solúveis em água possuem maior potencial antimicrobiano contra bactérias que contra fungos. Uma maior concentração de fenóis pode ser desencadeada por períodos maiores de exposição à radiação UV coincidindo com os altos índices IUV do período de coleta (ALONSO-AMELOT; OLIVEROS-BASTIDAS; CALCAGNO-PISARELLI, 2007). Um dos mecanismos de ação dos compostos fenólicos é a inativação de enzimas essenciais da membrana celular, privação de íons metálicos ao metabolismo microbiano por formação de complexos (DOS SANTOS PEREIRA *et al.*, 2018) e modificações na integridade de membrana (ZIDA *et al.*, 2017).

Existem poucos relatos de atividade antioxidante e antimicrobiana com extrações aquosa e etanólica de caules e raízes de Myrtaceae. Soliman e colaboradores (2014) investigaram a composição óleos voláteis de casca de caule de *Eucalyptus cinerea* identificando monoterpenos, sesquiterpenos e hidrocarbonetos. Ao avaliarem as propriedades antimicrobianas através da técnica de difusão em disco obtiveram inibição de 50% para *S. aureus*, 43,47% para *E. coli* e 52,38% para *C. albicans*. Pallant e Steenkamp (2008) identificaram alcaloides, antraquinonas, flavonoides, fenóis, saponinas e terpenoides em extrato aquoso de casca do caule *Syzygium cordatum* e obtiveram MIC=500 µg.mL⁻¹ e >1000 µg.mL⁻¹ em testes contra *S. aureus* e *C. albicans*, respectivamente. Cordier e colaboradores (2013) identificaram alcaloides, flavonoides, glicosídeos, ácidos fenólicos e terpenoides em extratos aquosos de *Syzygium cordatum*.

1.5 CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram iguais e maiores índices de atividade antioxidante dos extratos em relação aos controles positivos (Quercetina e Ácido Gálico). Todos os extratos demonstraram boa atividade antimicrobiana contra *C. albicans* excetuando-se Ir e Mr com atividade moderada. Contra *E. coli* destacou-se o extrato

Er com atividade boa e contra *S. aureus* obtivemos atividade antimicrobiana moderada com todos os extratos. Esse trabalho é inédito ao comparar as diferentes metodologias de extração com folhas, caules e raízes de *E. klotzschiana* e os resultados obtidos demonstraram que há significativas diferenças entre os métodos de extração e que, em nosso estudo, a extração por infusão rendeu maior massa. De tal modo podemos sugerir o uso etnofarmacológico de macerações, infusões e extrações etanólicas de folhas, caules e raízes de *E. klotzschiana* para obtenção de compostos antioxidantes para complementação alimentar assim como para obtenção de antibióticos naturais.

1.6 REFERÊNCIAS

- ABBASI, N. *et al.* Extraction and phytoanalysis of chemical compounds of Eucalyptus globulus Leaf Native to Dehloran, Ilam Province, Iran by HS-SPME and GC-MS. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, v. 8, n. 6, p. 647, 2020.
- ABCAM. ab112119 Cell Cytotoxicity Assay Kit - Fluorometric. n. 3, p. 15, 2018. Disponível em: <<https://www.abcam.com/cell-cytotoxicity-assay-kit-colorimetric-ab112118.html>>.
- ABD HAMID, H. *et al.* Comparative analysis of antioxidant and antiproliferative activities of Rhodomyrtus tomentosa extracts prepared with various solvents. *Food and Chemical Toxicology*, v. 108, p. 451–457, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2016.10.004>>.
- ABE, N.; MIATTO, R. C.; BATALHA, M. A. Relationships among functional traits define primary strategies in woody species of the Brazilian “cerrado”. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 41, n. 2, p. 351–360, 2018.
- ADEYEMI, O. S. *et al.* Quercetin caused redox homeostasis imbalance and activated the kynurenine pathway (Running title: Quercetin caused oxidative stress). *Biology*, v. 9, n. 8, p. 1–9, 2020.
- ALMEIDA, A. *et al.* Plant triterpenoids with bond-missing skeletons: biogenesis, distribution and bioactivity. *Natural Product Reports*, 2020.
- ALONSO-AMELOT, M. E.; OLIVEROS-BASTIDAS, A.; CALCAGNO-PISARELLI, M. P. Phenolics and condensed tannins of high altitude Pteridium arachnoideum in relation to sunlight exposure, elevation, and rain regime. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 35, n. 1, p. 1–10, 2007.
- AL-SAYED, E. *et al.* Anti-inflammatory, hepatoprotective and antioxidant activity of ellagitannin isolated from Melaleuca styphelioides. *Phytochemistry*, v. 177, n. May, p. 112429, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112429>>.

- AMBROŽ, M. *et al.* Sesquiterpenes α -humulene and β -caryophyllene oxide enhance the efficacy of 5-fluorouracil and oxaliplatin in colon cancer cells. *Acta Pharmaceutica*, v. 69, n. 1, p. 121–128, 2019.
- ANWAR, M. A. *et al.* *Salvia fruticosa* Induces Vasorelaxation in Rat Isolated Thoracic Aorta: Role of the PI3K/Akt/eNOS/NO/cGMP Signaling Pathway. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-00790-9>>.
- BARAC, A. *et al.* Antifungal activity of *Myrtus communis* against *Malassezia* sp. isolated from the skin of patients with pityriasis versicolor. *Infection*, v. 46, n. 2, p. 253–257, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s15010-017-1102-4>>.
- BASTOS, R. G. *et al.* Phytochemical composition, antioxidant and in vivo antidiabetic activities of the hydroethanolic extract of *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) leaves. *South African Journal of Botany*, v. 123, p. 317–332, 2019.
- BATIHA, G. E. S. *et al.* *Syzygium aromaticum* L. (myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. *Biomolecules*, v. 10, n. 2, 2020.
- BILLMARY-Z, C. M. *et al.* Preliminary phytochemical screening of *pimenta racemosa* var. *racemosa* (myrtaceae) from tachira - Venezuela. *Pharmacologyonline*, v. 2, n. August, p. 52–59, 2014.
- BORGES, A. *et al.* Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial Drug Resistance*, v. 19, n. 4, p. 256–265, 2013.
- BOUFRIDI, A.; QUINN, R. J. Harnessing the Properties of Natural Products. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, v. 58, n. September 2017, p. 451–70, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010716-105029>>.
- BRASIL. *Cerrado. ICMBio Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade*. [S.l.]: Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<https://www.icmbio.gov.br/portal/geoprocessamentos>>. , [S.d.]
- BROWN, E. D.; WRIGHT, G. D. Antibacterial drug discovery in the resistance era. *Nature*, v. 529, n. 7586, p. 336–343, 2016.
- CARNEIRO, N. S. *et al.* Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from leaves and flowers of *Eugenia klotzschiana* Berg (Myrtaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 89, n. 3, p. 1907–1915, 2017.
- CASCAES, M. M. *et al.* Flavonoids, antioxidant potential and antimicrobial activity of *Myrcia rufipila* mcvaugh leaves (myrtaceae). *Natural Product Research*, v. 0, n. 0, p. 1–5, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1629912>>.
- CASTRO, M. C. *et al.* Development, environmental degradation, and disease spread in the Brazilian Amazon. *PLoS Biology*, v. 17, n. 11, p. 4–11, 2019.
- CDC. *Antibiotic resistance threats in the United States, 2019*. Center for Disease Control and Prevention. Atlanta, GA, U.S.A.: U. S., 2019.

CELAJ, O. *et al.* Phloroglucinols from Myrtaceae: attractive targets for structural characterization, biological properties and synthetic procedures. *Phytochemistry Reviews*. [S.l: s.n.], 2020. v. 2. .

CHALLINOR, V. L.; BODE, H. B. Bioactive natural products from novel microbial sources. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1354, n. 1, p. 82–97, 2015.

CHAMBERS, S. A.; GADDY, J. A.; TOWNSEND, S. D. Synthetic Ellagic Acid Glycosides Inhibit Early Stage Adhesion of *Streptococcus agalactiae* Biofilms as Observed by Scanning Electron Microscopy. *Chemistry - A European Journal*, v. 26, n. 44, p. 9923–9928, 2020.

CHANG, A. Y. *et al.* Past, present, and future of global health financing: A review of development assistance, government, out-of-pocket, and other private spending on health for 195 countries, 1995-2050. *The Lancet*, v. 393, n. 10187, p. 2233–2260, 2019.

CHANG, R. *et al.* Essential oil composition and antioxidant and antimicrobial properties of *Campomanesia pubescens* O. Berg, native of Brazilian Cerrado. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 30, n. 9, p. 1843–1848, 2011.

CHEN, H. *et al.* α -Humulene inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation and induces apoptosis through the inhibition of Akt signaling. *Food and Chemical Toxicology*, v. 134, n. April, p. 110830, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110830>>.

CHEN, M. *et al.* The antibiotic activity and mechanisms of sugar beet (*Beta vulgaris*) molasses polyphenols against selected food-borne pathogens. *LWT - Food Science and Technology*, v. 82, p. 354–360, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.063>>.

CHUA, L. K. *et al.* Anticancer Potential of *Syzygium* Species: a Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 74, n. 1, p. 18–27, 2019.

CLEMENTE, C. M. S.; ESPÍRITO-SANTO, M. M. DO; LEITE, M. E. Estimates of deforestation avoided by protected areas: a case study in Brazilian tropical dry forests and Cerrado. *Landscape Research*, v. 45, n. 4, p. 470–483, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/01426397.2020.1730773>>.

CONTRERAS-MORENO, B. Z. *et al.* Antimicrobial activity of essential oil of *Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Myrtaceae) leaves. *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research*, v. 4, n. 6, p. 224–230, 2016.

CORDIER, W. *et al.* Attenuation of oxidative stress in U937 cells by polyphenolic-rich bark fractions of *Burkea africana* and *Syzygium cordatum*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 13, 2013.

COUTINHO, L. M. O conceito de Cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 1, p. 17–23, 1978.

DA SILVA, V. P. *et al.* Chemical composition and in vitro leishmanicidal, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of the Myrtaceae family occurring in the

Cerrado biome. *Industrial Crops and Products*, v. 123, n. July, p. 638–645, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.033>>.

DA SILVA SA, F. A. *et al.* Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Myrcia tomentosa* (Aubl.) DC. leaves. *Molecules*, v. 22, n. 7, p. 1–10, 2017.

DAI, J. *et al.* Recent progress of antibacterial natural products: Future antibiotics candidates. *Bioorganic Chemistry*, v. 101, n. May, 2020.

DAI, J.; MUMPER, R. J. *Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties*. *Molecules*. [S.l: s.n.]. , 2010

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010.

DE OLIVEIRA, L. M. *et al.* Chemical characterization of *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd) fruit. *Food Chemistry*, v. 248, n. August 2017, p. 247–252, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.053>>.

DE SOUZA, J. M. *et al.* Evaluation of antimicrobial, hypotensive and diuretic effect of *Eugenia uniflora* extracts. *Mundo da Saude*, v. 42, n. 2, p. 269–282, 2018.

DE SOUZA CARDOSO, J. *et al.* Antioxidant, antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance. *Redox Report*, v. 23, n. 1, p. 41–46, 2018.

DENNY, C. *et al.* Guava pomace: A new source of anti-inflammatory and analgesic bioactives. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 13, n. 1, p. 1, 2013. Disponível em: <BMC Complementary and Alternative Medicine>.

DIAS, A. L. B. *et al.* Chemical composition and in vitro antibacterial and antiproliferative activities of the essential oil from the leaves of *Psidium myrtilodes* O. Berg (Myrtaceae). *Natural Product Research*, v. 33, n. 17, p. 2566–2570, 2019. Disponível em: <<http://doi.org/10.1080/14786419.2018.1457664>>.

DODDS, D. R. Antibiotic resistance: A current epilogue. *Biochemical Pharmacology*, v. 134, n. December, p. 139–146, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2016.12.005>>.

DONOHOE, M. Causes and health consequences of environmental degradation and social injustice. *Social Science and Medicine*, v. 56, n. 3, p. 573–587, 2003.

DOS SANTOS PEREIRA, E. *et al.* *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. *Food Chemistry*, v. 258, n. November 2017, p. 95–103, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.024>>.

DURÃES, E. R. B. *et al.* Estudo fitoquímico, toxicidade e atividade antimicrobiana das folhas de *Psidium myrsinites* DC. (Myrtaceae). *Bioscience Journal*, v. 33, n. 5, p. 1305–1313, 2017.

ECDC. *Antimicrobial Resistance Tackling the Burden in the European Union*. *European Centre for Disease Prevention and Control*. [S.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.oecd.org/health/health-systems/AMR-Tackling-the-Burden-in-the-EU-OECD-ECDC-Briefing-Note-2019.pdf>>. , 2019

- ELOFF, J. N. *Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. BMC Complementary and Alternative Medicine.* [S.l: s.n.], 2019
- EVERARD, M. *et al.* The role of ecosystems in mitigation and management of Covid-19 and other zoonoses. *Environmental Science and Policy*, v. 111, n. May, p. 7–17, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envsci.2020.05.017>>.
- FAIR, R. J.; TOR, Y. Perspectives in Medicinal Chemistry Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, p. 25–64, 2014.
- FAO. *Global framework for development & stewardship to combat antimicrobial resistance - draft roadmap. Food and Agriculture Organization of the United Nations.* [S.l: s.n.]. Disponível em: <<http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js23198en/>>. , 2017
- FARZAEI, M. H. *et al.* Medicinal Plants in Neurodegenerative Diseases: Perspective of Traditional Persian Medicine. *Current Drugs Metabolism*, v. 19, 2018.
- FIDELIS, M. *et al.* In vitro antioxidant and antihypertensive compounds from camucamu (*Myrciaria dubia* McVaugh, Myrtaceae) seed coat: A multivariate structure-activity study. *Food and Chemical Toxicology*, v. 120, n. May, p. 479–490, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.043>>.
- GARZÓN, G. A. *et al.* Phenolic profile, in vitro antimicrobial activity and antioxidant capacity of *Vaccinium meridionale swartz* pomace. *Heliyon*, v. 6, n. 5, 2020.
- HA, T. K. Q. *et al.* Antiviral phenolics from the leaves of *Cleistocalyx operculatus*. *Fitoterapia*, v. 110, p. 135–141, 2016.
- HMOTEH, J.; MUSTHAFA, K. S.; VORAVUTHIKUNCHAI, S. P. Effects of *Rhodomyrtus tomentosa* extract on virulence factors of *Candida albicans* and human neutrophil function. *Archives of Oral Biology*, v. 87, n. April 2017, p. 35–42, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.11.007>>.
- HOLETZ, F. B. *et al.* Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, n. 7, p. 1027–1031, 2002.
- IOM, Institute of Medicine (US) Committee on Emerging Microbial Threats to Health *et al.* Emerging Infections: Microbial Threats to Health in the United States. *National Academies Press*, Washington, DC., 1992. , p. 312 Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK234855/>>.
- ISAH, T. *Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. Biological research.* [S.l: s.n.], 2019
- ISLAM, Z. *et al.* Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of *Crotalaria pallida* stem extract. *Clinical Phytoscience*, p. 1–7, 2018.
- JATOBA, L. DE J. *et al.* Allelopathy of bracken fern (*Pteridium arachnoideum*): New evidence from green fronds, litter, and soil. *PLoS ONE*, v. 11, n. 8, p. 1–17, 2016.
- JOFRÉ, I. *et al.* Antioxidant Effect of a Polyphenol-Rich Murtilla (*Ugni molinae* Turcz.)

extract and its effect on the regulation of metabolism in refrigerated boar sperm. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2019, 2019.

JOSHI, A. *et al.* Evaluation of phytochemical composition and antioxidative, hypoglycaemic and hypolipidaemic properties of methanolic extract of *Hemidesmus indicus* roots in streptozotocin-induced diabetic mice. *Clinical Phytoscience*, v. 4, n. 1, p. 7, 2018. Disponível em: <<https://clinphytoscience.springeropen.com/articles/10.1186/s40816-018-0064-0>>.

JUHAIMI, F. AL *et al.* The effect of harvest times on bioactive properties and fatty acid compositions of prickly pear (*Opuntia ficus-barbarica* A. Berger) fruits. *Food Chemistry*, v. 303, n. December 2018, p. 125387, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125387>>.

KANAMOTO, T. *et al.* Anti-human immunodeficiency virus activity of YK-FH312 (a betulinic acid derivative), a novel compound blocking viral maturation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 45, n. 4, p. 1225–1230, 2001.

KARESH, W. B. .; FORMENTY, P. Infectious diseases. *Connecting Global Priorities: Biodiversity and Human Health A State of Knowledge Review*. Geneva, Switzerland: World Health Organization and Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2015. p. 360pp. Disponível em: <[www.cbd.int/en/health/stateofknowledge\http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/174012/1/9789241508537_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/174012/1/9789241508537_eng.pdf)>.

KESZEI, A. *et al.* Functional and evolutionary relationships between terpene synthases from Australian Myrtaceae. *Phytochemistry*, v. 71, n. 8–9, p. 844–852, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.03.013>>.

KHANA VI, M. *et al.* Investigation of Cytotoxic Activity in Four *Stachys* Species from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, v. 11, n. 2, p. 589–593, 2012.

KIM, S. M. *et al.* A comparison of functional fragrant components of cymbidium (Oriental orchid) species. *Horticultural Science and Technology*, v. 34, n. 2, p. 331–341, 2016.

KNOBLOCH, K. *et al.* Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*, v. 1, n. 3, p. 119–128, 1989.

LAMMIE, S. L.; HUGHES, J. M. Antimicrobial Resistance, Food Safety, and One Health: The Need for Convergence. *Annual Review of Food Science and Technology*, v. 7, n. 1, p. 287–312, 2016. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-food-041715-033251>>.

LANDECKER, H. Antibiotic Resistance and the Biology of History. *Body and Society*, v. 22, n. 4, p. 19–52, 2016.

LAWRENCE, R. N. Rediscovering natural product biodiversity. *Drug Discovery Today*, v. 4, n. 10, p. 449–451, 1999.

LEVIN-REISMAN, I. *et al.* Antibiotic tolerance facilitates the evolution of resistance. *Science*, v. 355, n. 6327, p. 826–830, 2017.

LI, J. W. H.; VEDERAS, J. C. Drug discovery and natural products: End of era or an

endless frontier? *Biomeditsinskaya Khimiya*, v. 57, n. 2, p. 148–160, 2011.

LI, R. *et al.* Flower-specific jasmonate signaling regulates constitutive floral defenses in wild tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 114, n. 34, p. E7205–E7214, 2017.

LI, Y. *et al.* The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 148, n. December 2019, p. 80–89, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>>.

LIU, H. X. *et al.* Nudibaccatumone, a trimer comprising a phenylpropanoid and two sesquiterpene moieties from *Piper nudibaccatum*. *Journal of Natural Products*, v. 76, n. 4, p. 732–736, 2013.

LIU, J. Q. *et al.* Two new farnesyl phenolic compounds with anti-inflammatory activities from *Ganoderma duripora*. *Food Chemistry*, v. 263, n. October 2017, p. 155–162, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.097>>.

LIU, K. *et al.* Novel Approach to Classify Plants Based on Metabolite-Content Similarity. *BioMed Research International*, v. 2017, n. 2010, 2017.

LUKITANINGSIH, E. *et al.* In vivo antioxidant activities of *Curcuma longa* and *Curcuma xanthorrhiza*: A review. *Food Research*, v. 4, n. 1, p. 13–19, 2020.

LUNA, M. S. M. *et al.* Bioprospection of *Libidibia ferrea* var. *ferrea*: Phytochemical properties and antibacterial activity. *South African Journal of Botany*, v. 130, p. 103–108, 2020.

MACHADO, G. H. A. *et al.* Antibacterial activity and in vivo wound healing potential of phenolic extracts from jaboticaba skin. *Chemical Biology and Drug Design*, v. 92, n. 1, p. 1333–1343, 2018.

MAJEED, M. T.; OZTURK, I. Environmental degradation and population health outcomes: a global panel data analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, n. 13, p. 15901–15911, 2020.

MARMITT, D. J. *et al.* Neuroprotective potential of *Myrciaria plinioides* D. Legrand extract in an in vitro human neuroblastoma model. *Inflammopharmacology*, v. 28, n. 3, p. 737–748, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10787-019-00652-y>>.

MARTINELLI, L. A. *et al.* Agriculture in Brazil: Impacts, costs, and opportunities for a sustainable future. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, v. 2, n. 5–6, p. 431–438, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cosust.2010.09.008>>.

MENG, X. *et al.* Chemical composition, antibacterial activity and related mechanism of the essential oil from the leaves of *Juniperus rigida* Sieb. et Zucc against *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 194, n. April, p. 698–705, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.050>>.

MONIZ, A. M. H. *et al.* Chemical composition and biological evaluation of the essential oil of the leaves of *psidium striatum* in the amazon region. *Chemical Engineering Transactions*, v. 75, n. February, p. 385–390, 2019.

MURCIA-MESEGUER, A.; ALVES, T. J. S. Insecticidal toxicity of thirteen commercial plant essential oils against *Spodoptera exigua* (Lepidoptera : Noctuidae). *Phytoparasitica*, n. Mapama 2017, p. 1–13, 2018.

N, S.; P, S. S. Screening of phytochemical and pharmacological activities of *Syzygium caryophyllatum* (L.) Alston. *Clinical Phytoscience*, v. 4, n. 1, p. 3, 2018. Disponível em: <<https://clinphytoscience.springeropen.com/articles/10.1186/s40816-017-0059-2>>.

NARITA, Y.; INOUE, K. High antioxidant activity of coffee silverskin extracts obtained by the treatment of coffee silverskin with subcritical water. *Food Chemistry*, v. 135, n. 3, p. 943–949, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.078>>.

NASCIMENTO, A. M. A. *et al.* Synergistic bactericidal activity of *Eremanthus erythropappus* oil or β -bisabolene with ampicillin against *Staphylococcus aureus*. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, v. 92, n. 1, p. 95–100, 2007.

NASCIMENTO, D. K. D. *et al.* Phytochemical screening and acute toxicity of aqueous extract of leaves of *Conocarpus erectus* Linnaeus in Swiss albino mice. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 88, n. 3, p. 1431–1437, 2016.

NASR, A.; SALEEM KHAN, T.; ZHU, G. P. Phenolic compounds and antioxidants from *Eucalyptus camaldulensis* as affected by some extraction conditions, a preparative optimization for GC-MS analysis. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, v. 49, n. 5, p. 464–476, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1575860>>.

NCCLS. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition*. . Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA: NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400. , 2003

NCCLS. *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Second Edition*. NCCLS Document M27-A2, NCCLS. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Wayne, Pennsylvania 19087-1898, EUA: NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, 2002.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020.

NOMAN, A. *et al.* Plant-insect-microbe interaction: A love triangle between enemies in ecosystem. *Science of the Total Environment*, v. 699, p. 134181, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134181>>.

OECD. *Glossary of Environment Statistics, Studies in Methods*. New York: United Nations, 1997. v. 67. (F).

OLIVEIRA, G. C. DE *et al.* Caracterização de plantas de *Eugenia klotzschiana* Berg (pêra-do-Cerrado) e do ambiente de sua ocorrência na região fisiográfica dos campos das vertentes em Minas Gerais. *R. Un. Alfenas*, v. 5, p. 9–13, 1999.

PALLANT, C. A.; STEENKAMP, V. In-vitro bioactivity of Venda medicinal plants used in the treatment of respiratory conditions. *Human and Experimental Toxicology*, v. 27, n. 11, p. 859–866, 2008.

PATRIDGE, E. *et al.* An analysis of FDA-approved drugs: Natural products and their derivatives. *Drug Discovery Today*, v. 21, n. 2, p. 204–207, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2015.01.009>>.

PETTAY, J. E. *et al.* Natural Selection on Female Life-History Traits in Relation to Socio-Economic Class in Pre-Industrial Human Populations. *PLoS ONE*, v. 2, n. 7, 2007.

PIMENTEL, D. *et al.* Ecology of increasing diseases: Population growth and environmental degradation. *Human Ecology*, v. 35, n. 6, p. 653–668, 2007.

POLAVARAPU, P. L.; SANTORO, E. Vibrational optical activity for structural characterization of natural products. *Natural Product Reports*, 2020. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=D0NP00025F>>.

QIAN, W. *et al.* Antibacterial Mechanism of Vanillic Acid on Physiological, Morphological, and Biofilm Properties of Carbapenem-Resistant *Enterobacter hormaechei*. *Journal of Food Protection*, v. 83, n. 4, p. 576–583, 19 dez. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.4315/JFP-19-469>>.

RAMADHANIA, Z. M. *et al.* Antioxidant activity from ten species of myrtaceae. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, v. 10, n. Special Issue may, p. 5–7, 2017.

RAMMOHAN, A. *et al.* In silico, in vitro antioxidant and density functional theory based structure activity relationship studies of plant polyphenolics as prominent natural antioxidants. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 13, n. 2, p. 3690–3701, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2019.12.017>>.

RAMOS, R. T. M. *et al.* Spectrophotometric quantification of flavonoids in herbal material, crude extract, and fractions from leaves of *Eugenia uniflora* Linn. *Pharmacognosy Research*, v. 9, n. 3, p. 253–260, 2017.

RANGHOO-SANMUKHIYA, V. M. *et al.* Biochemical and phylogenetic analysis of *Eugenia* and *Syzygium* species from Mauritius. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, v. 12, n. November 2017, p. 21–29, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.10.004>>.

REHMAN, A. A. *et al.* In vivo assessment of anticoagulant and antiplatelet effects of *Syzygium cumini* leaves extract in rabbits. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 19, n. 1, p. 1–8, 2019.

RIBEIRO, A. R. C. *et al.* *Myrciaria tenella* (DC.) O. Berg (myrtaceae) leaves as a source of antioxidant compounds. *Antioxidants*, v. 8, n. 8, p. 1–14, 2019.

RICKLEFS, R. E. *A Economia da Natureza*. 6. ed. Rio de Janeiro/RJ: Guanabara Koogan, 2012.

RODRIGUES, V. H. *et al.* Extraction of *Eucalyptus* leaves using solvents of distinct polarity. Cluster analysis and extracts characterization. *Journal of Supercritical*

Fluids, v. 135, n. August 2017, p. 263–274, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.01.010>>.

ROGERIO, A. P. *et al.* Preventive and therapeutic anti-inflammatory properties of the sesquiterpene α -humulene in experimental airways allergic inflammation. *British Journal of Pharmacology*, v. 158, n. 4, p. 1074–1087, 2009.

SÁ, S. *et al.* Phytochemistry and antimicrobial activity of *Campomanesia adamantium*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 28, n. 3, p. 303–311, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.02.008>>.

SAFONOVA, G. M.; SHILOV, Y. I.; PEREVOZCHIKOV, A. B. Protective effects of vegetable polyphenol compounds on the immune system under acute stress. *Doklady Akademii Nauk*, v. 378, n. 5, p. 697–700, 2001.

SANI, S. A. *et al.* Phytochemical, antioxidant and antibacterial activities of two kinds of Sabah Zingberaceae. *Journal of Physics: Conference Series*, v. 1358, n. 1, 2019.

SANTOS, C. A. *et al.* Bioactive Properties of *Syzygium cumini* (L.) Skeels Pulp and Seed Phenolic Extracts. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, n. May, 2020.

SANTOS, L. S. *et al.* Chemotaxonomic evaluation of different species from the Myrtaceae family by UPLC-qToF/MS-MS coupled to supervised classification based on genus. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 90, n. March, p. 104028, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104028>>.

SANTOS, M. A. DOS *et al.* O Cerrado Brasileiro: Notas Para Estudo. *CEDEPLAR - Centro de Desenvolvimento e Planejamento Regional da UFMG*, v. 387, p. 15, 2010.

SÃO PAULO. Resolução SMA - 48, de 21-9-2004. *IMESP Imprensa Oficial do Estado de São Paulo*, v. 114, n. 179, p. 34, 2004. Disponível em: <http://www.ambiente.sp.gov.br/wp-content/uploads/resolucao/2004/2004_Res_SMA48.pdf>.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, v. 112, n. 3, p. 654–658, fev. 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608007218>>. Acesso em: 3 mar. 2016.

SHABBIR, A. *et al.* Immunostimulatory effect of methanolic leaves extract of *Psidium guajava* (Guava) on humoral and cell-mediated immunity in mice. *Journal of Animal and Plant Sciences*, v. 26, n. 5, p. 1492–1500, 2016.

SIMONETTI, E. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 18, n. 1, p. 9–18, 2016.

SMOLANDER, A. *et al.* Nitrogen transformations in boreal forest soils-does composition of plant secondary compounds give any explanations? *Plant and Soil*, v. 350, n. 1–2, p. 1–26, 2012.

SNENE, A. *et al.* In vitro antimicrobial, antioxidant and antiviral activities of the essential oil and various extracts of wild (*Daucus virgatus* (Poir.) Maire) from Tunisia.

Industrial Crops and Products, v. 109, p. 109–115, 2017.

SOBEH, M. *et al.* Phenolic compounds from *Syzygium jambos* (Myrtaceae) exhibit distinct antioxidant and hepatoprotective activities in vivo. *Journal of Functional Foods*, v. 41, n. June 2017, p. 223–231, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.055>>.

SOLANGAARACHCHI, S. M.; GOULD, K. S. Anthocyanin pigmentation in the adventitious roots of *Metrosideros excelsa* (Myrtaceae). *New Zealand Journal of Botany*, v. 39, n. 1, p. 161–166, 2001.

SOLIMAN, F. M. *et al.* Chemical composition and bioactivity of the volatile oil from leaves and stems of *Eucalyptus cinerea*. *Pharmaceutical Biology*, v. 52, n. 10, p. 1272–1277, 2014.

SUMMIT, W. *et al.* Poverty, infectious disease, and environmental degradation as threats to collective security: A UN panel report. *Population and Development Review*, v. 31, n. 3, p. 595–600, 2005.

SUWENDAR, S. *et al.* Antibacterial effect potentiation of n-hexane fraction of rose apple leaves. *Journal of Physics: Conference Series*, v. 1469, n. 1, 2020.

TAIZ, L. *et al.* *Plant Physiology and Development*. 6. ed. [S.l: s.n.], 2014. Disponível em: <<http://en.scientificcommons.org/37678896>>.

TAKAO, L. K. .; IMATOMI, M. .; GUALTIEIRI, S. C. Antioxidant activity and phenolic content of Myrtaceae leaf infusions from cerrado (Brazilian savannah). *Brazilian Journal of Biology*, 2015.

TAKAO, L. K.; IMATOMI, M.; GUALTIERI, S. C. J. Antioxidant activity and phenolic content of leaf infusions of Myrtaceae species from Cerrado (Brazilian Savanna). *Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia*, v. 75, n. 4, p. 948–952, 2015.

TENFEN, A. *et al.* Phenolic profile by HPLC-ESI-MS/MS of six Brazilian *Eugenia* species and their potential as cholinesterase inhibitors. *Natural Product Research*, v. 0, n. 0, p. 1–4, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1686369>>.

THOMAZ, D. V. *et al.* Antioxidant and neuroprotective properties of *Eugenia dysenterica* leaves. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2018, 2018.

TOLEDO, A. G. *et al.* Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of leaves of *Eugenia involucrata* DC. *Bioscience Journal*, v. 36, n. 2, p. 568–577, 2020.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. *Fundamentos em Ecologia*. 3. ed. Porto Alegre/RS: Artmed, 2010.

VAN TRAN, N. The environmental effects of trade openness in developing countries: conflict or cooperation? *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, n. 16, p. 19783–19797, 2020.

VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, D.; CABO, M. L.; RODRÍGUEZ-HERRERA, J. J. Antimicrobial

activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Food Science and Technology International*, v. 21, n. 8, p. 559–570, 2015.

VERMA, S. R. *et al.* Role of environmental factors on the spread of bacterial diseases : A modeling study. *Computational Ecology and Software*, v. 10, n. 2, p. 59–73, 2020.

VUONG, Q. V. *et al.* Physicochemical, antioxidant and anti-cancer activity of a *Eucalyptus robusta* (Sm.) leaf aqueous extract. *Industrial Crops and Products*, v. 64, n. 1, p. 167–174, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.061>>.

WANG, D. *et al.* Effects of paeoniflorin on neurobehavior, oxidative stress, brain insulin signaling, and synaptic alterations in intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive impairment in mice. *Physiology and Behavior*, v. 191, n. 263, p. 12–20, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.03.016>>.

WARR, B.; AYRES, R. U. Useful work and information as drivers of economic growth. *Ecological Economics*, v. 73, p. 93–102, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolecon.2011.09.006>>.

WESSELS, M.; KÖNIG, G. M.; WRIGHT, A. D. 3-acetoxyspathulenol, a new aromadendrane-type natural product from the soft coral *Parerythropodium fulvum*. *Journal of Natural Products*, v. 64, n. 3, p. 370–372, 2001.

WESTON, R. J. Bioactive products from fruit of the feijoa (*Feijoa sellowiana*, Myrtaceae): A review. *Food Chemistry*, v. 121, n. 4, p. 923–926, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.047>>.

WHO. *Address by the Regional Director at the Regional Meeting of AMR Taskforce*. . [S.l.]: Regional Office for South-East Asia, 2019. Disponível em: <<https://www.who.int/southeastasia/news/speeches/detail/address-by-the-regional-director-at-the-regional-meeting-of-amr-taskforce>>.

WHO. *WHO Health Emergency Dashboard*. . [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://extranet.who.int/publicemergency>>. , 2020

WINK, M. Plant secondary metabolism: diversity, function and its evolution. *Natural Product Communications*, v. 3, n. 8, p. 1205–1216, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, R. O. FOR S.-E. A. *A brief guide to emerging infectious diseases and zoonoses*. WHO Regional Office for South-East Asia. [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/204722>>. , 2014

WRIGHT, G. D. Opportunities for natural products in 21st century antibiotic discovery. *Natural Product Reports*, v. 34, n. 7, p. 694–701, 2017.

XUE, Y.; DU, M.; ZHU, M. J. Quercetin prevents *Escherichia coli* O157:H7 Adhesion to epithelial cells via suppressing focal adhesions. *Frontiers in Microbiology*, v. 10, n. JAN, p. 1–10, 2019.

YAN, M.; BARAN, P. S. Fighting evolution with chemical synthesis. *Nature*, v. 533, p. 326–327, 2016.

YIN, L. *et al.* Flavonoids analysis and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of crude and purified extracts from *Veronicastrum latifolium*. *Industrial Crops and Products*, v. 137, n. October 2018, p. 652–661, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.007>>.

ZHANG, X. *et al.* Active monomer rtr-1 derived from the root of *rhodomyrtus tomentosa* induces apoptosis in gastric carcinoma cells by inducing er stress and inhibiting the stat3 signaling pathway. *Cancer Management and Research*, v. 12, p. 3117–3129, 2020.

ZIDA, A. *et al.* *Anti-Candida albicans natural products, sources of new antifungal drugs: A review.* *Journal de Mycologie Medicale*. [S.l.]: Elsevier Masson SAS. , 1 mar. 2017

CAPÍTULO 2

Atividade antimicrobiana de extratos de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* O. Berg obtidos por extração eluotrópica.

RESUMO

Depois da descoberta da penicilina, em 1928, o próprio pesquisador Alexander Fleming alertava para cepas microbianas resistentes aos metabólitos de *Staphylococcus aureus*. Porém, desde a década de 1970 tem-se observado crescente aumento da resistência a antibióticos pelos microrganismos e a diminuição da oferta de novos medicamentos. Diversos fatores contribuíram para que indústrias de fármacos abandonassem suas pesquisas e direcionassem seus objetivos para áreas economicamente mais rentáveis. No entanto, os fatores que fomentam a crise dos antibióticos têm se expandido e a necessidade de novos compostos puros ou moléculas bases para a síntese química estão se tornando primordiais para a sobrevivência humana. De tal maneira, entendendo que os metabólitos secundários botânicos podem contribuir com essa busca, este estudo teve o propósito de avaliar o potencial antimicrobiano de extratos crus de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* obtidos por meio da extração seriada eluotrópica. Os testes de atividade antimicrobiana foram realizadas em microplacas com diluições seriadas com cepas de *Escherichia coli* (ATCC-11229), *Staphylococcus aureus* (ATCC- 25923) e *Candida albicans* (ATCC 90028). Os extratos metanólicos foram os que apresentaram maior rendimento. Contra *E. coli* foram obtidas atividades antimicrobianas moderadas com os extratos foliares obtidos com hexano, diclorometano e acetona. O extrato de folha obtido com hexano e diclorometano apresentaram, respectivamente, atividades forte e moderada contra *S. aureus*. Porém, o melhor desempenho se deu com atividades antimicrobianas de forte a moderada, entre os diferentes órgãos vegetais, contra as cepas de *Candida albicans*. Acredita-se então que os extratos de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* O. Berg são promissoras fontes de compostos para futuras pesquisas farmacológicas com propósitos antimicrobianos.

Palavras-chave: antimicrobiano, extrato eluotrópico, extrato foliar, extrato caulinar, extrato radicular.

ABSTRACT

After the discovery of penicillin in 1928, researcher Alexander Fleming himself warned of microbial strains resistant to the metabolites of *Staphylococcus aureus*. However, since the 1970s, there has been an increase resistance to antibiotics by microorganisms and a decrease supply of new drugs. Several factors have contributed to the pharmaceutical industry abandoning its research and directing its objectives to economically promising areas. However, the factors that fueled the antibiotic crisis have expanded and the need for new pure compounds or base molecules for chemical synthesis are becoming fundamental for human survival. In such a way, understanding the botanical secondary metabolites can contribute to this search. This study aimed to evaluate the antimicrobial potential of raw extracts from leaves, stems and roots of *Eugenia klotzschiana* obtained through eluotropic serial extraction. The antimicrobial activity tests were performed on microplates with serial dilutions with strains of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. The methanolic extracts showed the highest yield. Against *E. coli*, moderate antimicrobial activity was acquired with leaf extracts extracted with hexane, dichloromethane and acetone. The leaf extract obtained with hexane and dichloromethane showed, respectively, strong and moderate activity against *S. aureus*. However, the best performance occurred with strong to moderate antimicrobial activities, among the different plant organs, against *Candida albicans* strains. It is believed that the extracts from leaves, stems and roots of *Eugenia klotzschiana* are promising sources of compounds for future pharmacochemical research with antimicrobial purposes.

Keywords: antimicrobial, eluotropic extract, leaf extract, stem extract, root extract.

2.1 INTRODUÇÃO

A emergência e reemergência de doenças infecciosas tem sido o foco de planejamentos globais há décadas. Dificuldades nos tratamentos, aumento da patogenicidade e virulência dos agentes microbianos, urbanização, controle de vetores, mudanças em ecossistemas e clima, mutações e modificações genéticas microbianas, imunossupressão por tratamentos médicos, maior mobilidade de pessoas e patógenos, intrusão em novos ambientes ecológicos, uso de pesticidas, industrialização, guerras, falhas de saneamento, destruição de ambientes naturais, mudanças em populações de hospedeiros reservatórios, resistência aos antibióticos e desenvolvimento de medicamentos voam entre as pautas de documentos e projetos mundiais que intencionam o fortalecimento dos sistemas de saúde e a prevenção (IOM *et al.*, 1992; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

O *Emerging Infections: Microbial Threats to Health in the United States*, estudo publicado no ano de 1992, já alertava para novos surtos e pandemias nos Estados Unidos, vindos ou não de outras nações, motivados pelo advento do HIV e da AIDS assim como o ressurgimento da tuberculose. No ano de 2005 entra em vigor o *International Health Regulations* formulado pela Organização Mundial de Saúde (WHO) com a finalidade de dar suporte multidisciplinar aos órgãos mundiais de promoção de saúde dos países membros. Desde então, recorrentes notificações são emitidas pela WHO sobre potenciais ameaças à saúde pública. Em 2014 a WHO publicou o *A brief guide to emerging infectious diseases and zoonoses* (Um breve guia para doenças infecciosas emergentes e zoonoses) declarando que, nos trinta anos antecedentes a publicação, mais de trinta novos organismos, e conseqüentemente trinta novas doenças emergentes, haviam sido identificados e que 75% destes são oriundos de zoonoses. Nos anos de 2017-2019 foram quatro advertências no Brasil (Sarampo, Febre Amarela, Influenza A H1N2, COVID-19), uma nos Estados Unidos da América (COVID-19), quatro na China (Influenza H7N4, Influenza H7N9, Pneumonia de causas desconhecidas e COVID-19), quatro na França (Dengue, Zika, Febre do Vale do Rift, Infecções por Salmonella, COVID-19), três no Reino Unido (Infecção Gonocócica, MERS-CoV, COVID-19), duas na Alemanha (Febre do Nilo Ocidental, COVID-19), duas na Arábia Saudita (MERS-CoV, COVID-19), seis notificações na República Democrática do Congo (Sarampo, Poliomielite, Cólera,

Ebola, Doença do vírus Chikungunya, COVID-19) entre outras (WHO, 2020). No ano de 1995 os gastos com saúde correspondiam a 6,9% do PIB global. Já no período compreendido entre os anos de 1995-2016 foram gastos 8,6% do PIB global com projeção de 8,9% para o ano de 2030 e 9,4% no ano de 2050 (CHANG, A. Y. *et al.*, 2019).

Ademais, tão complexa, multifacetada e urgente quanto a emergência e reemergência de doenças infecciosas tem sido a consolidação da resistência antibiótica aos fármacos atuais (LAMMIE; HUGHES, 2016). A cada ano são contabilizadas, nos países da União Européia, 33.000 mortes em decorrência da resistência a antibióticos com custo de 1,1 bilhões de Euros para o sistema de saúde (ECDC, 2019). Desde a década de 1990 a indústria farmacêutica tem diminuído as pesquisas em novos antibióticos. A competição industrial, elevados custos em pesquisas, exigências de complexas etapas químicas de isolamento, competição com medicamentos genéricos e diminuição de mercado fomentaram esse êxodo (FAIR; TOR, 2014; NEWMAN; CRAGG, 2020; PATRIDGE *et al.*, 2016; YAN; BARAN, 2016). Em associação, desde a década de 1970 uma crise na indústria farmacêutica já se instalava com o baixo êxito da síntese química (CHALLINOR; BODE, 2015). Em contrapartida, o uso de antibióticos como auxiliar na produção de carnes e agricultura, prescrições médicas excessivas, uso veterinário e de higiene doméstica aumentavam e contribuíam para o estabelecimento de microrganismos mais resistentes e adaptados aos antibióticos disponíveis (FAIR; TOR, 2014).

Neste cenário, além de mudanças sociais, ecológicas, culturais, políticas, econômicas e filosóficas no estilo de vida contemporâneo, o estudo de novos compostos e moléculas com propriedades antibióticas é uma das propostas apresentadas pela FAO (2017) para combater novas doenças e patógenos. O caminho apontado é o retorno a pesquisas de recursos naturais. Moléculas adaptadas, pequenas (menores que 500 Daltons), de fácil modificação na síntese química e a grande variedade de estruturas químicas que podem ser usadas integralmente ou como base de uma molécula ou composto farmacológico são critérios favoráveis que os recursos naturais apresentam (BOUFRIDI; QUINN, 2018). Dentre os recursos naturais mais amplamente utilizados na medicina popular estão os compostos botânicos. São analgésicos, antipiréticos, antieméticos, antibióticos, antiinflamatórios, cicatrizantes, antiespasmódicos entre muitas outras propriedades

exploradas há centenas de anos (ALMEIDA *et al.*, 2020; DAI, JIANGKUN *et al.*, 2020; WRIGHT, 2017). Estes compostos bioativos são metabólitos secundários resultantes da interação com estresses ambientais aos quais as plantas estão expostas. A família botânica Myrtaceae é reconhecidamente uma das que respondem aos estresses ambientais com grandes quantidades de terpenos. Estes terpenos, assim como compostos fenólicos, saponinas, glicosídeos e outros compostos secundários da família, são ativamente descritos como bioativos antibióticos (DA SILVA *et al.*, 2018; DURÃES *et al.*, 2017; MACHADO *et al.*, 2018; TOLEDO *et al.*, 2020), antioxidantes (NASR; SALEEM KHAN; ZHU, 2019; SOBEH *et al.*, 2018; TAKAO, L. K. .; IMATOMI; GUALTIERI, 2015), antidiabética (BASTOS *et al.*, 2019; N; P, 2018), antihipertensivos (FIDELIS *et al.*, 2018), antineoplásico (CHUA *et al.*, 2019; VUONG *et al.*, 2015), neuroprotetivo (MONIZ *et al.*, 2019; THOMAZ *et al.*, 2018), antiinflamatória (AL-SAYED *et al.*, 2020), estimulante do sistema imunológico (SHABBIR *et al.*, 2016) entre outros. A espécie escolhida para os estudos deste trabalho é a *Eugenia klotzschiana*. Ela está relacionada entre aquelas em risco de extinção no território do Cerrado paulista (SÃO PAULO, 2004). O estudo de Carneiro e colaboradores (2017) com óleos essenciais de folhas da *Eugenia klotzschiana* já prenunciou o potencial antibacteriano nos testes com bactérias orais. Microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* são relacionados como maiores causadores mundiais de sepse hospitalar e infecções de difícil tratamento (CDC, 2019). De tal modo, teriam os extratos eluotrópicos das folhas as propriedades antibióticas contra estes microrganismos? Extratos eluotrópicos de órgãos como caules e raízes poderiam também apresentar alguma atividade biológica contra estes microrganismos? Sendo assim, nosso trabalho expõe os rendimentos obtidos com cada solvente da sequência eluotrópica na extração com folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* e as atividades antimicrobianas obtidas com cada um dos extratos.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Material vegetal

As folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* foram coletadas no município de São Carlos/SP em área de Cerrado (21° 58' a 22° 00' S e 47° 51' a 47° 52' O) na Universidade Federal de São Carlos. A exsicata está depositada no Herbário da Universidade Federal de São Carlos sob registro SPSC-8311. Utilizou-se tesoura

de poda para aquisição das partes aéreas e enxadão para as raízes. Os órgãos foram processados separadamente e secos em estufa de circulação de ar (72 h/40° C). Posteriormente foram pulverizados em moinho industrial (Manesco e Ranieri – MR 340) e armazenados individualmente em sacos plásticos lacrados, sob refrigeração (6° C).

2.2.2 Extrações

As extrações foram realizadas usando a série eluotrópica de solventes Hexano P.A.-ACS SYNTH (Hx), Diclorometano P.A.-ACS SYNTH (DCM), Acetato de Etila 99.5% P.A. NEON (AcoEt), Acetona P.A.-ACS Cromoline Química (ACE) e Metanol P.A.-ACS SYNTH (MeOH). Realizou-se uma suspensão 1:12 de pó vegetal e hexano que permaneceu em banho de ultrassom UNIQUE – UltraSonic Cleaner por 30 minutos e foi filtrada em funil de Buchner com papel de filtro (205 µm). O material retido no filtro foi novamente ressuspensão com a mesma quantidade inicial de hexano, mantido em banho de ultrassom por 30 minutos e filtrado. Esta sequência de dupla suspensão em solvente e banho de ultrassom foi mantida com os demais solventes obedecendo a polaridade crescente. O extrato obtido com cada um dos solventes foi mantido em câmara com ventilação até secagem. Os extratos secos foram armazenados em recipientes vítreos com tampa, protegidos da luz e acondicionados sob refrigeração de 6° C. Da extração eluotrópica com folhas (Fo) foram obtidos os extratos: FoHx, FoDCM, FoAcoEt, FoACE e FoMeOH; com caules (Ca) obteve-se: CaHx, CaDCM, CaAcoET, CaACE e CaMeOH; com raiz (Ra) obteve-se: RaHx, RaDCM, RaAcoEt, RaACE e RaMeOH.

2.2.3 Atividade antimicrobiana

Os extratos vegetais foram dissolvidos em 3% de DMSO e em caldo Mueller Hinton (para bactérias) ou RPMI- 1640 (para fungos) obtendo-se solução de 1000 µg.mL⁻¹. O controle positivo foi realizado com clorexidina comercial (Riohex 0,5% Solução Alcoólica) nas mesmas concentrações dos extratos. Realizou-se diluições seriadas em triplicata das soluções dos extratos em placas com 96 poços de tal modo que foram obtidas concentrações iniciais de 1000 µg.mL⁻¹ e finais de 0,97 µg.mL⁻¹.

2.2.4 Atividade antibacteriana

Bactérias gram-negativas (*Escherichia coli* - ATCC-11229) e gram-positivas (*Staphylococcus aureus* - ATCC- 25923) foram inoculadas em caldo Mueller Hinton

(Sigma-Aldrich) e permaneceram em estufa de cultura (FANEM Estufa de Cultura Modelo 002 CB) a 38° C por 24 horas. Os inóculos foram então centrifugados (Eppendorf Centrifuge 5418) por 10 minutos a 3000 rpm e o pellet com as células bacterianas foi suspenso em solução de PBS (phosphate buffered saline) obtendo-se uma suspensão com absorvância entre 0.08 – 0.1, turbidez correspondente a 0,5 escala de Mc Farland e mensurada em espectrofotômetro (FEMTO Espectrofotômetro 600) em 625 nm. Para obter-se a solução de trabalho (5×10^5 UFC.mL⁻¹) realizou-se então uma diluição 1:10. Nas placas designadas para o teste antibacteriano, já contendo 95 µL dos extratos de teste, foram adicionados 5 µL de suspensão bacteriana. As placas foram colocadas em estufa de cultura por 24 horas a 38° C (NCCLS, 2003).

2.2.5 Atividade antifúngica

O inóculo com *Candida albicans* (ATCC-90028) foi realizado em TSB - Tryptic soy broth (Becton, Dickinson and Company) e acondicionado em estufa de cultura por 48 horas a 36,1° C. Centrifugou-se o inóculo (Eppendorf Centrifuge 5418), a 3000 rpm/ 10 min, e o pellet foi extraído e suspenso em PBS para a obtenção da suspensão-padrão com turbidez correspondente a 0.5 da escala de Mc Farland (0.08 – 0.1, 530nm) mensurada em espectrofotômetro (FEMTO Espectrofotômetro 600). Duas diluições seriadas 1:20 e 1:50 foram realizadas para obter-se a suspensão de trabalho com $5,0 \times 10^2$ a $2,5 \times 10^3$ células.mL⁻¹. Em placas com 96 poços realizou-se, em triplicata, diluição seriada com extratos vegetais diluídos em 3% de DMSO (SYNTH) e em caldo RPMI-1640 (Sigma-Aldrich) em pH = $7,0 \pm 0,1$. Em cada poço com 95 µL de solução de extrato adicionou-se 5 µL de suspensão com células de *Candida albicans* e as placas foram incubadas por 48 horas a 36,1° C em estufa de cultura (NCCLS, 2002).

2.2.6 Concentração mínima inibitória (MIC)

A concentração mínima inibitória foi determinada utilizando-se o teste colorimétrico com resazurina (Sigma Aldrich). Após o período de incubação respectivo para cada microrganismo foram adicionados 20 µL/poço de solução aquosa de resazurina [$100 \mu\text{g.mL}^{-1}$] e a leitura foi realizada após duas horas. Na presença de

células viáveis a resazurina (cor azul) é reduzida a resofurina (cor rosa). A concentração mínima inibitória consistiu na menor concentração do extrato em que a resazurina não foi reduzida (NCCLS, 2003). O potencial antimicrobiano de um extrato é forte quando $MIC < 100$, $100 < moderada < 500$, $500 < fraca < 1000$ e maior que 1000 $\mu g \cdot mL^{-1}$ é inativa (Holetz et al., 2002; Da Silva Sa et al., 2017; Dias et al., 2019).

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos nas extrações foram analisados por qui-quadrado no software on line Chi-Square Calculator (Social Science Statistics).

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Extrações

A metodologia de extração utilizada permitiu obter quantidades significativamente diferentes de extratos para cada solvente utilizado como podemos observar na Tabela 2.1. Em todos os órgãos a extração metanólica foi a de maior rendimento seguida da extração acetônica. As folhas apresentaram o maior rendimento de extração seguida por caule e raiz. Com exceção do extrato FoDCM, podemos observar que o rendimento da extração é diretamente proporcional ao aumento de polaridade do solvente.

Tabela 2.1: massa (g) e rendimento (%) dos extratos obtidos por extração eluotrópica de folhas (Fo), caules (Ca) e raízes (Ra) de *Eugenia klotzschiana* O Berg.

	Fo		Ca		Ra	
	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)
Hx	0,6346 Ad	1,26	0,2155 Bc	0,43	0,1143 Cd	0,23
DCM	2,4287 Ac	4,86	0,2272 Bc	0,45	0,0921 Cd	0,18
AcoET	0,9608 Ad	1,92	0,1754 Cc	0,35	0,3333 Bc	0,66
ACE	2,8629 Ab	5,73	1,7225 Bb	3,45	0,9074 Cb	1,81
MeOH	7,7936 Aa	15,59	3,4623 Ba	6,92	3,2156 Ba	6,43

Letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$); letras maiúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as colunas.

A extração eluotrópica sucessiva, em detrimento da extração direta, pode proporcionar uma riqueza maior de compostos ativos devido a variação nas polaridades dos solventes (NASR; SALEEM KHAN; ZHU, 2019). Extrações etanólicas e metanólicas são mais eficientes na obtenção de compostos fenólicos e tendem a render mais por extraírem maior quantidade de moléculas bioativas polares, carboidratos, ácidos orgânicos e gorduras (DAI, JIN;; MUMPER, 2010; NASR; SALEEM KHAN; ZHU, 2019). Redução de 98-100% da concentração de compostos fenólicos e taninos, obtidos de diferentes órgãos de *Eucalyptus calmadulensis*, é descrito por Nasr e colaboradores (2019) ao promoverem o decréscimo de polaridade de mesclas de acetona/água nas extrações. No extrato foliar metanólico de *Eugenia pollicina* foram caracterizados taninos hidrolisáveis, fenol, saponinas e flavonóides; o extrato hexânico continham baixas concentrações de taninos hidrolisáveis, terpenos, fenol e alcalóides. Em *Eugenia pyxidata* caracterizou-se taninos hidrolisáveis, fenol, flavonóides e pequenas quantidades de saponinas e antraquinona no extrato foliar metanólico; pequenas quantidades de terpenos, taninos, fenol, alcalóides, leucoantocianinas e flavonóis no extrato foliar hexânico (Ranghoo-Sanmukhiya et al., 2019). Terpenos e saponinas (RIBEIRO et al., 2019), flavonóides, triterpenóides e ácidos orgânicos (CASCAES et al., 2019), flavonóides, compostos fenólicos, terpenóides, taninos e alcalóides (REHMAN et al., 2019) são composições que exemplificam a complexidade dos extratos obtidos de extrações metanólicas de folhas em indivíduos da família Myrtaceae. Nas extrações hexânicas de folhas de seis espécies de Myrtaceae, Ranghoo-Sanmukhiya e colaboradores (2019) obtiveram exclusivamente terpenos e traços de outros compostos; Ribeiro (2019) obteve terpenos e ácido ursólico triterpenóide exclusivamente.

Soliman e colaboradores (2014) caracterizaram óleos de casca de caule de *Eucalyptus cinerea* obtendo 1,8-Cineole, α -Terpineol, α -Pinene, Terpinyl acetato, hidrocarbonetos monoterpênicos e compostos oxigenados monoterpênicos em maiores quantidades. Cardenólides, lactonas α,β -insaturadas, esteróides, dihidrochalconas, flavonóides, quinonas e saponinas estão entre os compostos majoritários no extrato alcoólico isopropílico de casca de caule de *Pimenta racemosa* var. *racemosa* obtidos por Billmary-Z e colaboradores (2014). A hidrodestilação da casca do caule de *Campomanesia pubescens* continha grandes quantidades de 1,8-Cineole além de spathulenol, bicyclogermacrene, beta-terpenil-acetato e alfa-terpineol entre os mais

destacados compostos isolados por Chang e colaboradores (2011). Os trabalhos, em sua maioria, apresentam metodologias com extrações aquosas ou hidrodestilações das cascas de caules.

Poucos trabalhos descrevem extrações com raízes de Myrtaceae. Abd Hamid e colaboradores (2017), em extração eluotrópica com raízes de *Rhodomyrtus tomentosa* destaca o rendimento metanólico com obtenção de flavonóides e fenólicos. Rammohan e colaboradores (2020), obtiveram no extrato acetônico de *Syzygium alternifolium* uma maior atividade fenólica se comparados aos extratos metanólicos e hexânicos. Altas concentrações de glicosídeos cardiotônicos (cardenolides ou α,β -insaturated lactones nucleí), terpenóides, esteróides, fenóis, saponinas e taninos e moderadas concentrações de quinonas, antraquinonas, xantonas, flavonóides, flavonas e antocianinas foram obtidas na extração com álcool isopropílico de raízes de *Psidium racemosum* por Billmary-Z e colaboradores (2014). Chang e colaboradores (2011) identificaram o monoterpeneo α -terpenyl acetate e, em maior quantidade, sesquiterpenos (bicyclogermacrene, spathulenol, germacrene D e viridiflorol) em óleos essenciais de raízes de *Campomanesia pubescens*. Solangaarachchi e Gould (2001) isolaram antocianidinas Cy e Dp de extratos metanólicos de raízes de *Metrosideros excelsa*.

Na literatura, observa-se que as metodologias de extrações de compostos antioxidantes tendem a obter extratos mais concentrados por meio de solventes mais polares como água, etanol e metanol e então seguirem o fracionamento destes extratos com solventes mais apolares como acetona, acetato de etila, clorofórmio, diclorometano e hexano. Fundamentam esse argumento os trabalhos de Ramos e colaboradores (2017), da Silva Sa e colaboradores (2017), Sá e colaboradores (2018), Thomaz e colaboradores (2018), Tenfen e colaboradores (2019) e Suwendar e colaboradores (2020).

2.4.2 Atividade antimicrobiana

Todos os extratos apresentaram atividades antimicrobianas que variaram de forte a inativa conforme classificação proposta por Holetz (2002). Os melhores resultados com *E. coli* foram com extratos FoHx, FoDCM e FoACE que apresentaram fraca atividade (MIC=500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Nos testes com *S. aureus* obtivemos atividade forte com o extrato FoHx (MIC=31.25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), moderada com FoDCM (MIC=125

$\mu\text{g.mL}^{-1}$) e fraca com FoAcoEt, FoACE, FoMeOH, CaACE, CaMeOH, RaHX, RaDCM, RaAcoEt, RaACE, RaMeOH ($\text{MIC}=500 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Identificamos melhor atividade antibacteriana contra *S. aureus* nos extratos foliares extraídos com solventes de menor polaridade corroborando resultados encontrados em outros trabalhos (LUNA *et al.*, 2020; SANI *et al.*, 2019). A atividade antifúngica, no entanto, variou de forte (solvente mais polar) a moderada (solvente menos polar) contra *C. albicans*. Os extratos FoMeOH, CaACE ($\text{MIC}=7.81 \mu\text{g.mL}^{-1}$), CaMeOH, FoHx ($\text{MIC}=15.62 \mu\text{g.mL}^{-1}$), RaACE, RaMeOH ($\text{MIC}=31.25 \mu\text{g.mL}^{-1}$), FoACE, CaDCM, CaAcoEt e RaAcoEt ($\text{MIC}=62.5 \mu\text{g.mL}^{-1}$) apresentaram forte atividade contra *C. albicans*, seguidas por FoAcoEt ($\text{MIC}=125 \mu\text{g.mL}^{-1}$) com atividade moderada e RaHx ($\text{MIC}=250 \mu\text{g.mL}^{-1}$), CaHx ($\text{MIC}=500 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e RaDCM ($\text{MIC}=500 \mu\text{g.mL}^{-1}$) com atividade fraca (Tabela 2).

Tabela 2.2: Valores ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) de Concentração Mínima Inibitória (MIC) para *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Candida albicans* (*C. albicans*) da reação com extratos de folha (Fo), caule (Ca) e raiz (Ra) de *Eugenia klotzschiana* obtidos com os solventes Hexano (Hx), Diclorometano (DCM), Acetato de etila (AcoEt), Acetona (ACE) e Metanol (MeOH). Clorexidina = controle positivo.

	<i>E. coli</i>			<i>S. aureus</i>			<i>C. albicans</i>		
	Fo	Ca	Ra	Fo	Ca	Ra	Fo	Ca	Ra
Hx	500	>1000	>1000	31.25	>1000	500	15.62	500	250
DCM	500	>1000	>1000	125	>1000	500	500	62.5	500
AcoEt	>1000	>1000	>1000	500	>1000	500	125	62.5	62.5
ACE	500	>1000	>1000	500	500	500	62.5	7.81	31.25
MeOH	>1000	>1000	>1000	500	500	500	7.81	15.62	31.25
Clorexidina		5		2.5			10		

Espécies da mesma família botânica, quando expostas aos mesmos mecanismos estressantes, tendem a manifestar as mesmas respostas de defesa por intermédio da síntese de metabólitos secundários (ISAH, 2019; LIU, K. *et al.*, 2017; SANTOS, L. S. *et al.*, 2020; WINK, 2008). Frações de acetato de etila de extrações metanólicas de folhas e caules de seis espécies de *Eugenia*, coletadas no Brasil, apresentaram ácido gálico, quercetina, ácido elágico, ácido vanílico, miricitrina, ácido salicílico e isoquercitrina entre os compostos majoritários mais comuns entre as

espécies (TENFEN *et al.*, 2019). O ácido gálico foi descrito como antibacteriano contra *E. coli* e *S. aureus* por Borges e colaboradores (2013) e a quercetina como inibidora da formação de biofilmes e antimicrobiana contra *E. coli* (ADEYEMI *et al.*, 2020; XUE; DU; ZHU, 2019). Também são descritos como antimicrobianos o ácido elágico (CHAMBERS; GADDY; TOWNSEND, 2020) e o ácido vanílico (QIAN *et al.*, 2019).

Nos estudos de Ranghoo-Sanmukhiya e colaboradores (2019) o extrato metanólico de folhas de *Eugenia pollicina* apresentou MIC=1,56 mg.mL⁻¹ e MIC=3,19 mg.mL⁻¹ contra *E. coli* e *S. aureus* ao passo que seu extrato hexânico apresentou MIC=3,13 mg.mL⁻¹ para ambos os microrganismos. Com extrato metanólico de folhas de *Eugenia pyxidata* foi obtido MIC=1,56 mg.mL⁻¹ contra *E. coli* e *S. aureus* e com o extrato hexânico de folhas, para ambos os microrganismos, MIC= 3,13 mg.mL⁻¹. Simonetti e colaboradores (2016) obtiveram contra *E. coli* as MIC= 2500 e 5000 µg.mL⁻¹ para extratos foliares etanólico e hexânico, respectivamente, de *Eugenia anomala*. Pela classificação de Holetz e colaboradores (2002) estes extratos são inativos quanto a atividade antimicrobiana.

Não foram encontrados dados de extrações eluotrópicas com raízes de *Eugenia*. No entanto, cascas de raízes de espécies de Myrtaceae como *Metrosideros excelsa* apresentaram grandes quantidade de antocianinas no trabalho de Solangaarachchi e Gould (2001). De acordo com Dai e Mumper (2010) as antocianinas são melhor extraídas com metanol e estas estão relacionadas a atividades antibacterianas contra *S. aureus* e *E. coli* por promoverem alterações na permeabilidade, desintegrações e perfurações nas membranas bacterianas (GARZÓN *et al.*, 2020). Extração etanólica de raízes de *Pimenta racemosa var. racemosa* (Myrtaceae) identificou-se majoritariamente saponinas, taninos, fenóis, terpenóides e glicosídeos cardiotônicos (BILLMARY-Z *et al.*, 2014). Todos estes compostos já são descritos e conhecidos como antimicrobianos.

Com o aumento da polaridade na extração seriada há obtenção de moléculas maiores e com menor lipofilicidade. Porém, estas moléculas possuem maior potencial redutor, mais grupos hidroxilas e cadeias alquílicas maiores que também podem agir negativamente na fisiologia celular microbiana (ABD HAMID *et al.*, 2017). No entanto, extratos vegetais obtidos com solventes mais polares podem conter maior quantidade de carboidratos e ácidos orgânicos que , além de diminuir as concentrações de

compostos bioativos ainda podem se tornar substrato aos microrganismos nos testes (DAI, JIN;; MUMPER, 2010). Podemos inferir, de tal maneira que, moléculas menores e com maior lipofilicidade estão mais presentes nas folhas e são mais eficientes contra os mecanismos de defesa da *E.coli* (ex.: formação de biofilme) como observado com os extratos FoHx, FoDCM, FoACE. O mecanismo mais eficiente de defesa das células bacterianas de *S. aureus* consiste na formação de biofilme (VÁZQUEZ-SÁNCHEZ; CABO; RODRÍGUEZ-HERRERA, 2015). De tal maneira, podemos sugerir que a lipofilicidade dos extratos FoHx e FoDCM é maior que a lipofilicidade dos demais extratos que apresentaram atividade moderada contra *S. aureus*. Ao contrário do observado contra as bactérias, todos os extratos apresentaram atividades que variaram de forte a moderada permitindo subentender que tanto o caráter lipofílico, dimensão da molécula, concentração e potencial redutor são eficientes contra os mecanismos de defesa de *C. albicans*.

2.5 CONCLUSÃO

O extrato metanólico foi o que proporcionou maior rendimento. Os resultados demonstram moderada atividade antibacteriana dos extratos FoHx, FoDCM e FoACE contra *E. coli*, atividade forte do extrato FoHx e moderado dos demais extratos (excetuando-se CaHx, CaDCM, CaACoEt) contra *S. aureus* e atividades variando de forte a moderada entre todos os extratos contra *C. albicans*.

2.6 REFERÊNCIAS

- ABBASI, N. *et al.* Extraction and phytoanalysis of chemical compounds of Eucalyptus globulus Leaf Native to Dehloran, Ilam Province, Iran by HS-SPME and GC-MS. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, v. 8, n. 6, p. 647, 2020.
- ABCAM. ab112119 Cell Cytotoxicity Assay Kit - Fluorometric. n. 3, p. 15, 2018. Disponível em: <<https://www.abcam.com/cell-cytotoxicity-assay-kit-colorimetric-ab112118.html>>.
- ABD HAMID, H. *et al.* Comparative analysis of antioxidant and antiproliferative activities of Rhodomyrtus tomentosa extracts prepared with various solvents. *Food and Chemical Toxicology*, v. 108, p. 451–457, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2016.10.004>>.
- ABE, N.; MIATTO, R. C.; BATALHA, M. A. Relationships among functional traits define primary strategies in woody species of the Brazilian “cerrado”. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 41, n. 2, p. 351–360, 2018.
- ADEYEMI, O. S. *et al.* Quercetin caused redox homeostasis imbalance and activated the kynurenine pathway (Running title: Quercetin caused oxidative stress). *Biology*, v. 9, n. 8, p. 1–9, 2020.

ALMEIDA, A. *et al.* Plant triterpenoids with bond-missing skeletons: biogenesis, distribution and bioactivity. *Natural Product Reports*, 2020.

ALONSO-AMELOT, M. E.; OLIVEROS-BASTIDAS, A.; CALCAGNO-PISARELLI, M. P. Phenolics and condensed tannins of high altitude *Pteridium arachnoideum* in relation to sunlight exposure, elevation, and rain regime. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 35, n. 1, p. 1–10, 2007.

AL-SAYED, E. *et al.* Anti-inflammatory, hepatoprotective and antioxidant activity of ellagitannin isolated from *Melaleuca styphelioides*. *Phytochemistry*, v. 177, n. May, p. 112429, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112429>>.

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

ANWAR, M. A. *et al.* *Salvia fruticosa* Induces Vasorelaxation in Rat Isolated Thoracic Aorta: Role of the PI3K/Akt/eNOS/NO/cGMP Signaling Pathway. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-00790-9>>.

BARAC, A. *et al.* Antifungal activity of *Myrtus communis* against *Malassezia* sp. isolated from the skin of patients with pityriasis versicolor. *Infection*, v. 46, n. 2, p. 253–257, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s15010-017-1102-4>>.

BASTOS, R. G. *et al.* Phytochemical composition, antioxidant and in vivo antidiabetic activities of the hydroethanolic extract of *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) leaves. *South African Journal of Botany*, v. 123, p. 317–332, 2019.

BATIHA, G. E. S. *et al.* *Syzygium aromaticum* L. (myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. *Biomolecules*, v. 10, n. 2, 2020.

BILLMARY-Z, C. M. *et al.* Preliminary phytochemical screening of *pimenta racemosa* var. *racemosa* (myrtaceae) from tachira - Venezuela. *Pharmacologyonline*, v. 2, n. August, p. 52–59, 2014.

BORGES, A. *et al.* Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial Drug Resistance*, v. 19, n. 4, p. 256–265, 2013.

BOUFRIDI, A.; QUINN, R. J. Harnessing the Properties of Natural Products. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, v. 58, n. September 2017, p. 451–70, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010716-105029>>.

BRASIL. *Cerrado. ICMBio Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade*. [S.l.]: Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<https://www.icmbio.gov.br/portal/geoprocessamentos>>. , [S.d.]

BROWN, E. D.; WRIGHT, G. D. Antibacterial drug discovery in the resistance era. *Nature*, v. 529, n. 7586, p. 336–343, 2016.

CARNEIRO, N. S. *et al.* Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from leaves and flowers of *Eugenia klotzschiana* Berg (Myrtaceae).

Anais da Academia Brasileira de Ciencias, v. 89, n. 3, p. 1907–1915, 2017.

CASCAES, M. M. *et al.* Flavonoids, antioxidant potential and antimicrobial activity of *Myrcia rufipila mcvaugh* leaves (myrtaceae). *Natural Product Research*, v. 0, n. 0, p. 1–5, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1629912>>.

CASTRO, M. C. *et al.* Development, environmental degradation, and disease spread in the Brazilian Amazon. *PLoS Biology*, v. 17, n. 11, p. 4–11, 2019.

CDC. *Antibiotic resistance threats in the United States, 2019*. Center for Disease Control and Prevention. Atlanta, GA, U.S.A.: U. S., 2019.

CELAJ, O. *et al.* Phloroglucinols from Myrtaceae: attractive targets for structural characterization, biological properties and synthetic procedures. *Phytochemistry Reviews*. [S.l: s.n.], 2020. v. 2. .

CHALLINOR, V. L.; BODE, H. B. Bioactive natural products from novel microbial sources. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1354, n. 1, p. 82–97, 2015.

CHAMBERS, S. A.; GADDY, J. A.; TOWNSEND, S. D. Synthetic Ellagic Acid Glycosides Inhibit Early Stage Adhesion of *Streptococcus agalactiae* Biofilms as Observed by Scanning Electron Microscopy. *Chemistry - A European Journal*, v. 26, n. 44, p. 9923–9928, 2020.

CHANG, A. Y. *et al.* Past, present, and future of global health financing: A review of development assistance, government, out-of-pocket, and other private spending on health for 195 countries, 1995-2050. *The Lancet*, v. 393, n. 10187, p. 2233–2260, 2019.

CHANG, R. *et al.* Essential oil composition and antioxidant and antimicrobial properties of *Campomanesia pubescens* O. Berg, native of Brazilian Cerrado. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 30, n. 9, p. 1843–1848, 2011.

CHEN, H. *et al.* α -Humulene inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation and induces apoptosis through the inhibition of Akt signaling. *Food and Chemical Toxicology*, v. 134, n. April, p. 110830, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110830>>.

CHEN, M. *et al.* The antibiotic activity and mechanisms of sugar beet (*Beta vulgaris*) molasses polyphenols against selected food-borne pathogens. *LWT - Food Science and Technology*, v. 82, p. 354–360, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.063>>.

CHUA, L. K. *et al.* Anticancer Potential of *Syzygium* Species: a Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 74, n. 1, p. 18–27, 2019.

CLEMENTE, C. M. S.; ESPÍRITO-SANTO, M. M. DO; LEITE, M. E. Estimates of deforestation avoided by protected areas: a case study in Brazilian tropical dry forests and Cerrado. *Landscape Research*, v. 45, n. 4, p. 470–483, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/01426397.2020.1730773>>.

CONTRERAS-MORENO, B. Z. *et al.* Antimicrobial activity of essential oil of *Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Myrtaceae) leaves. *Journal of Pharmacy and*

Pharmacognosy Research, v. 4, n. 6, p. 224–230, 2016.

CORDIER, W. *et al.* Attenuation of oxidative stress in U937 cells by polyphenolic-rich bark fractions of *Burkea africana* and *Syzygium cordatum*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 13, 2013.

COUTINHO, L. M. O conceito de Cerrado. *Revista Brasileira de Botanica*, v. 1, p. 17–23, 1978.

DA SILVA, V. P. *et al.* Chemical composition and in vitro leishmanicidal, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of the Myrtaceae family occurring in the Cerrado biome. *Industrial Crops and Products*, v. 123, n. July, p. 638–645, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.033>>.

DA SILVA SA, F. A. *et al.* Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Myrcia tomentosa* (Aubl.) DC. leaves. *Molecules*, v. 22, n. 7, p. 1–10, 2017.

DAI, J. *et al.* Recent progress of antibacterial natural products: Future antibiotics candidates. *Bioorganic Chemistry*, v. 101, n. May, 2020.

DAI, J.; MUMPER, R. J. *Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties*. *Molecules*. [S.l.: s.n.], 2010

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010.

DE OLIVEIRA, L. M. *et al.* Chemical characterization of *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd) fruit. *Food Chemistry*, v. 248, n. August 2017, p. 247–252, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.053>>.

DE SOUZA, J. M. *et al.* Evaluation of antimicrobial, hypotensive and diuretic effect of *Eugenia uniflora* extracts. *Mundo da Saude*, v. 42, n. 2, p. 269–282, 2018.

DE SOUZA CARDOSO, J. *et al.* Antioxidant, antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance. *Redox Report*, v. 23, n. 1, p. 41–46, 2018.

DENNY, C. *et al.* Guava pomace: A new source of anti-inflammatory and analgesic bioactives. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 13, n. 1, p. 1, 2013. Disponível em: <BMC Complementary and Alternative Medicine>.

DIAS, A. L. B. *et al.* Chemical composition and in vitro antibacterial and antiproliferative activities of the essential oil from the leaves of *Psidium myrtilodes* O. Berg (Myrtaceae). *Natural Product Research*, v. 33, n. 17, p. 2566–2570, 2019. Disponível em: <<http://doi.org/10.1080/14786419.2018.1457664>>.

DODDS, D. R. Antibiotic resistance: A current epilogue. *Biochemical Pharmacology*, v. 134, n. December, p. 139–146, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2016.12.005>>.

DONOHUE, M. Causes and health consequences of environmental degradation and social injustice. *Social Science and Medicine*, v. 56, n. 3, p. 573–587, 2003.

DOS SANTOS PEREIRA, E. *et al.* *Psidium cattleianum* fruits: A review on its

composition and bioactivity. *Food Chemistry*, v. 258, n. November 2017, p. 95–103, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.024>>.

DURÃES, E. R. B. *et al.* Estudo fitoquímico, toxicidade e atividade antimicrobiana das folhas de *Psidium myrsinites* DC. (Myrtaceae). *Bioscience Journal*, v. 33, n. 5, p. 1305–1313, 2017.

ECDC. *Antimicrobial Resistance Tackling the Burden in the European Union*. European Centre for Disease Prevention and Control. [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.oecd.org/health/health-systems/AMR-Tackling-the-Burden-in-the-EU-OECD-ECDC-Briefing-Note-2019.pdf>>. , 2019

ELOFF, J. N. *Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. [S.l.: s.n.]. , 2019

EVERARD, M. *et al.* The role of ecosystems in mitigation and management of Covid-19 and other zoonoses. *Environmental Science and Policy*, v. 111, n. May, p. 7–17, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envsci.2020.05.017>>.

FAIR, R. J.; TOR, Y. Perspectives in Medicinal Chemistry Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, p. 25–64, 2014.

FAO. *Global framework for development & stewardship to combat antimicrobial resistance - draft roadmap*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js23198en/>>. , 2017

FARZAEI, M. H. *et al.* Medicinal Plants in Neurodegenerative Diseases: Perspective of Traditional Persian Medicine. *Current Drugs Metabolism*, v. 19, 2018.

FIDELIS, M. *et al.* In vitro antioxidant and antihypertensive compounds from camucamu (*Myrciaria dubia* McVaugh, Myrtaceae) seed coat: A multivariate structure-activity study. *Food and Chemical Toxicology*, v. 120, n. May, p. 479–490, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.043>>.

GARZÓN, G. A. *et al.* Phenolic profile, in vitro antimicrobial activity and antioxidant capacity of *Vaccinium meridionale* swartz pomace. *Heliyon*, v. 6, n. 5, 2020.

HA, T. K. Q. *et al.* Antiviral phenolics from the leaves of *Cleistocalyx operculatus*. *Fitoterapia*, v. 110, p. 135–141, 2016.

HMOTEH, J.; MUSTHAF, K. S.; VORAVUTHIKUNCHAI, S. P. Effects of *Rhodomyrtus tomentosa* extract on virulence factors of *Candida albicans* and human neutrophil function. *Archives of Oral Biology*, v. 87, n. April 2017, p. 35–42, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.11.007>>.

HOLETZ, F. B. *et al.* Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, n. 7, p. 1027–1031, 2002.

IOM, Institute of Medicine (US) Committee on Emerging Microbial Threats to Health *et al.* Emerging Infections: Microbial Threats to Health in the United States. *National Academies Press*, Washington, DC., 1992. , p. 312 Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK234855/>>.

ISAH, T. *Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. Biological research.* [S.l: s.n.], 2019

ISLAM, Z. *et al.* Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of *Crotalaria pallida* stem extract. *Clinical Phytoscience*, p. 1–7, 2018.

JATOBA, L. DE J. *et al.* Allelopathy of bracken fern (*pteridium arachnoideum*): New evidence from green fronds, litter, and soil. *PLoS ONE*, v. 11, n. 8, p. 1–17, 2016.

JOFRÉ, I. *et al.* Antioxidant Effect of a Polyphenol-Rich Murtilla (*Ugni molinae* Turcz.) extract and its effect on the regulation of metabolism in refrigerated boar sperm. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2019, 2019.

JOSHI, A. *et al.* Evaluation of phytochemical composition and antioxidative, hypoglycaemic and hypolipidaemic properties of methanolic extract of *Hemidesmus indicus* roots in streptozotocin-induced diabetic mice. *Clinical Phytoscience*, v. 4, n. 1, p. 7, 2018. Disponível em: <<https://clinphytoscience.springeropen.com/articles/10.1186/s40816-018-0064-0>>.

JUHAIMI, F. AL *et al.* The effect of harvest times on bioactive properties and fatty acid compositions of prickly pear (*Opuntia ficus-barbarica* A. Berger) fruits. *Food Chemistry*, v. 303, n. December 2018, p. 125387, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125387>>.

KANAMOTO, T. *et al.* Anti-human immunodeficiency virus activity of YK-FH312 (a betulinic acid derivative), a novel compound blocking viral maturation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 45, n. 4, p. 1225–1230, 2001.

KARESH, W. B. .; FORMENTY, P. Infectious diseases. *Connecting Global Priorities: Biodiversity and Human Health A State of Knowledge Review.* Geneva, Switzerland: World Health Organization and Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2015. p. 360pp. Disponível em: <[www.cbd.int/en/health/stateofknowledge\http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/174012/1/9789241508537_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/174012/1/9789241508537_eng.pdf)>.

KESZEI, A. *et al.* Functional and evolutionary relationships between terpene synthases from Australian Myrtaceae. *Phytochemistry*, v. 71, n. 8–9, p. 844–852, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.03.013>>.

KHANA VI, M. *et al.* Investigation of Cytotoxic Activity in Four *Stachys* Species from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, v. 11, n. 2, p. 589–593, 2012.

KIM, S. M. *et al.* A comparison of functional fragrant components of cymbidium (Oriental orchid) species. *Horticultural Science and Technology*, v. 34, n. 2, p. 331–341, 2016.

KNOBLOCH, K. *et al.* Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*, v. 1, n. 3, p. 119–128, 1989.

LAMMIE, S. L.; HUGHES, J. M. Antimicrobial Resistance, Food Safety, and One Health: The Need for Convergence. *Annual Review of Food Science and Technology*, v. 7, n. 1, p. 287–312, 2016. Disponível em:

<<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-food-041715-033251>>.

LANDECKER, H. Antibiotic Resistance and the Biology of History. *Body and Society*, v. 22, n. 4, p. 19–52, 2016.

LAWRENCE, R. N. Rediscovering natural product biodiversity. *Drug Discovery Today*, v. 4, n. 10, p. 449–451, 1999.

LEVIN-REISMAN, I. *et al.* Antibiotic tolerance facilitates the evolution of resistance. *Science*, v. 355, n. 6327, p. 826–830, 2017.

LI, J. W. H.; VEDERAS, J. C. Drug discovery and natural products: End of era or an endless frontier? *Biomeditsinskaya Khimiya*, v. 57, n. 2, p. 148–160, 2011.

LI, R. *et al.* Flower-specific jasmonate signaling regulates constitutive floral defenses in wild tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 114, n. 34, p. E7205–E7214, 2017.

LI, Y. *et al.* The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 148, n. December 2019, p. 80–89, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>>.

LIU, H. X. *et al.* Nudibaccatumone, a trimer comprising a phenylpropanoid and two sesquiterpene moieties from *Piper nudibaccatum*. *Journal of Natural Products*, v. 76, n. 4, p. 732–736, 2013.

LIU, J. Q. *et al.* Two new farnesyl phenolic compounds with anti-inflammatory activities from *Ganoderma duripora*. *Food Chemistry*, v. 263, n. October 2017, p. 155–162, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.097>>.

LIU, K. *et al.* Novel Approach to Classify Plants Based on Metabolite-Content Similarity. *BioMed Research International*, v. 2017, n. 2010, 2017.

LUKITANINGSIH, E. *et al.* In vivo antioxidant activities of *Curcuma longa* and *Curcuma xanthorrhiza*: A review. *Food Research*, v. 4, n. 1, p. 13–19, 2020.

LUNA, M. S. M. *et al.* Bioprospection of *Libidibia ferrea* var. *ferrea*: Phytochemical properties and antibacterial activity. *South African Journal of Botany*, v. 130, p. 103–108, 2020.

MACHADO, G. H. A. *et al.* Antibacterial activity and in vivo wound healing potential of phenolic extracts from jaboricaba skin. *Chemical Biology and Drug Design*, v. 92, n. 1, p. 1333–1343, 2018.

MAJEED, M. T.; OZTURK, I. Environmental degradation and population health outcomes: a global panel data analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, n. 13, p. 15901–15911, 2020.

MARMITT, D. J. *et al.* Neuroprotective potential of *Myrciaria plinioides* D. Legrand extract in an in vitro human neuroblastoma model. *Inflammopharmacology*, v. 28, n. 3, p. 737–748, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10787-019-00652-y>>.

MARTINELLI, L. A. *et al.* Agriculture in Brazil: Impacts, costs, and opportunities for a

sustainable future. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, v. 2, n. 5–6, p. 431–438, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cosust.2010.09.008>>.

MENG, X. *et al.* Chemical composition, antibacterial activity and related mechanism of the essential oil from the leaves of *Juniperus rigida* Sieb. et Zucc against *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 194, n. April, p. 698–705, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.050>>.

MONIZ, A. M. H. *et al.* Chemical composition and biological evaluation of the essential oil of the leaves of *psidium striatum* in the amazon region. *Chemical Engineering Transactions*, v. 75, n. February, p. 385–390, 2019.

MURCIA-MESEGUER, A.; ALVES, T. J. S. Insecticidal toxicity of thirteen commercial plant essential oils against *Spodoptera exigua* (Lepidoptera : Noctuidae). *Phytoparasitica*, n. Mapama 2017, p. 1–13, 2018.

N, S.; P, S. S. Screening of phytochemical and pharmacological activities of *Syzygium caryophyllatum* (L.) Alston. *Clinical Phytoscience*, v. 4, n. 1, p. 3, 2018. Disponível em: <<https://clinphytoscience.springeropen.com/articles/10.1186/s40816-017-0059-2>>.

NARITA, Y.; INOUE, K. High antioxidant activity of coffee silverskin extracts obtained by the treatment of coffee silverskin with subcritical water. *Food Chemistry*, v. 135, n. 3, p. 943–949, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.078>>.

NASCIMENTO, A. M. A. *et al.* Synergistic bactericidal activity of *Eremanthus erythropappus* oil or β -bisabolene with ampicillin against *Staphylococcus aureus*. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, v. 92, n. 1, p. 95–100, 2007.

NASCIMENTO, D. K. D. *et al.* Phytochemical screening and acute toxicity of aqueous extract of leaves of *Conocarpus erectus* Linnaeus in Swiss albino mice. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 88, n. 3, p. 1431–1437, 2016.

NASR, A.; SALEEM KHAN, T.; ZHU, G. P. Phenolic compounds and antioxidants from *Eucalyptus camaldulensis* as affected by some extraction conditions, a preparative optimization for GC-MS analysis. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, v. 49, n. 5, p. 464–476, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1575860>>.

NCCLS. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition*. . Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA: NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400. , 2003

NCCLS. *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Second Edition. NCCLS Document M27-A2, NCCLS. Clinical and Laboratory Standards Institute*. Wayne, Pennsylvania 19087-1898, EUA: NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, 2002.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020.

NOMAN, A. *et al.* Plant-insect-microbe interaction: A love triangle between enemies in ecosystem. *Science of the Total Environment*, v. 699, p. 134181, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134181>>.

OECD. *Glossary of Environment Statistics, Studies in Methods*. New York: United Nations, 1997. v. 67. (F).

OLIVEIRA, G. C. DE *et al.* Caracterização de plantas de *Eugenia klotzschiana* Berg (pêra-do-Cerrado) e do ambiente de sua ocorrência na região fisiográfica dos campos das vertentes em Minas Gerais. *R. Un. Alfenas*, v. 5, p. 9–13, 1999.

PALLANT, C. A.; STEENKAMP, V. In-vitro bioactivity of Venda medicinal plants used in the treatment of respiratory conditions. *Human and Experimental Toxicology*, v. 27, n. 11, p. 859–866, 2008.

PATRIDGE, E. *et al.* An analysis of FDA-approved drugs: Natural products and their derivatives. *Drug Discovery Today*, v. 21, n. 2, p. 204–207, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2015.01.009>>.

PETTAY, J. E. *et al.* Natural Selection on Female Life-History Traits in Relation to Socio-Economic Class in Pre-Industrial Human Populations. *PLoS ONE*, v. 2, n. 7, 2007.

PIMENTEL, D. *et al.* Ecology of increasing diseases: Population growth and environmental degradation. *Human Ecology*, v. 35, n. 6, p. 653–668, 2007.

POLAVARAPU, P. L.; SANTORO, E. Vibrational optical activity for structural characterization of natural products. *Natural Product Reports*, 2020. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=D0NP00025F>>.

QIAN, W. *et al.* Antibacterial Mechanism of Vanillic Acid on Physiological, Morphological, and Biofilm Properties of Carbapenem-Resistant *Enterobacter hormaechei*. *Journal of Food Protection*, v. 83, n. 4, p. 576–583, 19 dez. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.4315/JFP-19-469>>.

RAMADHANIA, Z. M. *et al.* Antioxidant activity from ten species of myrtaceae. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, v. 10, n. Special Issue may, p. 5–7, 2017.

RAMMOHAN, A. *et al.* In silico, in vitro antioxidant and density functional theory based structure activity relationship studies of plant polyphenolics as prominent natural antioxidants. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 13, n. 2, p. 3690–3701, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2019.12.017>>.

RAMOS, R. T. M. *et al.* Spectrophotometric quantification of flavonoids in herbal material, crude extract, and fractions from leaves of *Eugenia uniflora* Linn. *Pharmacognosy Research*, v. 9, n. 3, p. 253–260, 2017.

RANGHOO-SANMUKHIYA, V. M. *et al.* Biochemical and phylogenetic analysis of *Eugenia* and *Syzygium* species from Mauritius. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, v. 12, n. November 2017, p. 21–29, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.10.004>>.

REHMAN, A. A. *et al.* In vivo assessment of anticoagulant and antiplatelet effects of

Syzygium cumini leaves extract in rabbits. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 19, n. 1, p. 1–8, 2019.

RIBEIRO, A. R. C. *et al.* Myrciaria tenella (DC.) O. Berg (myrtaceae) leaves as a source of antioxidant compounds. *Antioxidants*, v. 8, n. 8, p. 1–14, 2019.

RICKLEFS, R. E. *A Economia da Natureza*. 6. ed. Rio de Janeiro/RJ: Guanabara Koogan, 2012.

RODRIGUES, V. H. *et al.* Extraction of Eucalyptus leaves using solvents of distinct polarity. Cluster analysis and extracts characterization. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 135, n. August 2017, p. 263–274, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.01.010>>.

ROGERIO, A. P. *et al.* Preventive and therapeutic anti-inflammatory properties of the sesquiterpene α -humulene in experimental airways allergic inflammation. *British Journal of Pharmacology*, v. 158, n. 4, p. 1074–1087, 2009.

SÁ, S. *et al.* Phytochemistry and antimicrobial activity of Campomanesia adamantium. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 28, n. 3, p. 303–311, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.02.008>>.

SAFONOVA, G. M.; SHILOV, Y. I.; PEREVOZCHIKOV, A. B. Protective effects of vegetable polyphenol compounds on the immune system under acute stress. *Doklady Akademii Nauk*, v. 378, n. 5, p. 697–700, 2001.

SANI, S. A. *et al.* Phytochemical, antioxidant and antibacterial activities of two kinds of Sabah Zingiberaceae. *Journal of Physics: Conference Series*, v. 1358, n. 1, 2019.

SANTOS, C. A. *et al.* Bioactive Properties of Syzygium cumini (L.) Skeels Pulp and Seed Phenolic Extracts. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, n. May, 2020.

SANTOS, L. S. *et al.* Chemotaxonomic evaluation of different species from the Myrtaceae family by UPLC-qToF/MS-MS coupled to supervised classification based on genus. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 90, n. March, p. 104028, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104028>>.

SANTOS, M. A. DOS *et al.* O Cerrado Brasileiro: Notas Para Estudo. *CEDEPLAR - Centro de Desenvolvimento e Planejamento Regional da UFMG*, v. 387, p. 15, 2010.

SÃO PAULO. Resolução SMA - 48, de 21-9-2004. *IMESP Imprensa Oficial do Estado de São Paulo*, v. 114, n. 179, p. 34, 2004. Disponível em: <http://www.ambiente.sp.gov.br/wp-content/uploads/resolucao/2004/2004_Res_SMA48.pdf>.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, v. 112, n. 3, p. 654–658, fev. 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608007218>>. Acesso em: 3 mar. 2016.

SHABBIR, A. *et al.* Immunostimulatory effect of methanolic leaves extract of Psidium guajava (Guava) on humoral and cell-mediated immunity in mice. *Journal of Animal and Plant Sciences*, v. 26, n. 5, p. 1492–1500, 2016.

- SIMONETTI, E. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 18, n. 1, p. 9–18, 2016.
- SMOLANDER, A. *et al.* Nitrogen transformations in boreal forest soils-does composition of plant secondary compounds give any explanations? *Plant and Soil*, v. 350, n. 1–2, p. 1–26, 2012.
- SNENE, A. *et al.* In vitro antimicrobial, antioxidant and antiviral activities of the essential oil and various extracts of wild (*Daucus virgatus* (Poir.) Maire) from Tunisia. *Industrial Crops and Products*, v. 109, p. 109–115, 2017.
- SOBEH, M. *et al.* Phenolic compounds from *Syzygium jambos* (Myrtaceae) exhibit distinct antioxidant and hepatoprotective activities in vivo. *Journal of Functional Foods*, v. 41, n. June 2017, p. 223–231, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.055>>.
- SOLANGAARACHCHI, S. M.; GOULD, K. S. Anthocyanin pigmentation in the adventitious roots of *Metrosideros excelsa* (Myrtaceae). *New Zealand Journal of Botany*, v. 39, n. 1, p. 161–166, 2001.
- SOLIMAN, F. M. *et al.* Chemical composition and bioactivity of the volatile oil from leaves and stems of *Eucalyptus cinerea*. *Pharmaceutical Biology*, v. 52, n. 10, p. 1272–1277, 2014.
- SUMMIT, W. *et al.* Poverty, infectious disease, and environmental degradation as threats to collective security: A UN panel report. *Population and Development Review*, v. 31, n. 3, p. 595–600, 2005.
- SUWENDAR, S. *et al.* Antibacterial effect potentiation of n-hexane fraction of rose apple leaves. *Journal of Physics: Conference Series*, v. 1469, n. 1, 2020.
- TAIZ, L. *et al.* *Plant Physiology and Development*. 6. ed. [S.l: s.n.], 2014. Disponível em: <<http://en.scientificcommons.org/37678896>>.
- TAKAO, L. K. .; IMATOMI, M. .; GUALTIEIRI, S. C. Antioxidant activity and phenolic content of Myrtaceae leaf infusions from cerrado (Brazilian savannah). *Brazilian Journal of Biology*, 2015.
- TAKAO, L. K.; IMATOMI, M.; GUALTIERI, S. C. J. Antioxidant activity and phenolic content of leaf infusions of Myrtaceae species from Cerrado (Brazilian Savanna). *Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia*, v. 75, n. 4, p. 948–952, 2015.
- TENFEN, A. *et al.* Phenolic profile by HPLC-ESI-MS/MS of six Brazilian *Eugenia* species and their potential as cholinesterase inhibitors. *Natural Product Research*, v. 0, n. 0, p. 1–4, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1686369>>.
- THOMAZ, D. V. *et al.* Antioxidant and neuroprotective properties of *Eugenia dysenterica* leaves. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2018, 2018.
- TOLEDO, A. G. *et al.* Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of leaves of *Eugenia involucrata* DC. *Bioscience Journal*, v. 36, n. 2,

p. 568–577, 2020.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. *Fundamentos em Ecologia*. 3. ed. Porto Alegre/RS: Artmed, 2010.

VAN TRAN, N. The environmental effects of trade openness in developing countries: conflict or cooperation? *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, n. 16, p. 19783–19797, 2020.

VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, D.; CABO, M. L.; RODRÍGUEZ-HERRERA, J. J. Antimicrobial activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Food Science and Technology International*, v. 21, n. 8, p. 559–570, 2015.

VERMA, S. R. *et al.* Role of environmental factors on the spread of bacterial diseases : A modeling study. *Computational Ecology and Software*, v. 10, n. 2, p. 59–73, 2020.

VUONG, Q. V. *et al.* Physicochemical, antioxidant and anti-cancer activity of a *Eucalyptus robusta* (Sm.) leaf aqueous extract. *Industrial Crops and Products*, v. 64, n. 1, p. 167–174, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.061>>.

WANG, D. *et al.* Effects of paeoniflorin on neurobehavior, oxidative stress, brain insulin signaling, and synaptic alterations in intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive impairment in mice. *Physiology and Behavior*, v. 191, n. 263, p. 12–20, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.03.016>>.

WARR, B.; AYRES, R. U. Useful work and information as drivers of economic growth. *Ecological Economics*, v. 73, p. 93–102, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolecon.2011.09.006>>.

WESSELS, M.; KÖNIG, G. M.; WRIGHT, A. D. 3-acetoxyspathulenol, a new aromadendrane-type natural product from the soft coral *Parerythropodium fulvum*. *Journal of Natural Products*, v. 64, n. 3, p. 370–372, 2001.

WESTON, R. J. Bioactive products from fruit of the feijoa (*Feijoa sellowiana*, Myrtaceae): A review. *Food Chemistry*, v. 121, n. 4, p. 923–926, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.047>>.

WHO. *Address by the Regional Director at the Regional Meeting of AMR Taskforce*. . [S.l.]: Regional Office for South-East Asia, 2019. Disponível em: <<https://www.who.int/southeastasia/news/speeches/detail/address-by-the-regional-director-at-the-regional-meeting-of-amr-taskforce>>.

WHO. *WHO Health Emergency Dashboard*. . [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://extranet.who.int/publicemergency>>. , 2020

WINK, M. Plant secondary metabolism: diversity, function and its evolution. *Natural Product Communications*, v. 3, n. 8, p. 1205–1216, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, R. O. FOR S.-E. A. *A brief guide to emerging infectious diseases and zoonoses*. WHO Regional Office for South-East Asia. [S.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/204722>>. , 2014

WRIGHT, G. D. Opportunities for natural products in 21st century antibiotic discovery. *Natural Product Reports*, v. 34, n. 7, p. 694–701, 2017.

XUE, Y.; DU, M.; ZHU, M. J. Quercetin prevents escherichia coli O157:H7 Adhesion to epithelial cells via suppressing focal adhesions. *Frontiers in Microbiology*, v. 10, n. JAN, p. 1–10, 2019.

YAN, M.; BARAN, P. S. Fighting evolution with chemical synthesis. *Nature*, v. 533, p. 326–327, 2016.

YIN, L. *et al.* Flavonoids analysis and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of crude and purified extracts from *Veronicastrum latifolium*. *Industrial Crops and Products*, v. 137, n. October 2018, p. 652–661, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.007>>.

ZHANG, X. *et al.* Active monomer rtr-1 derived from the root of *rhodomyrtus tomentosa* induces apoptosis in gastric carcinoma cells by inducing er stress and inhibiting the stat3 signaling pathway. *Cancer Management and Research*, v. 12, p. 3117–3129, 2020.

ZIDA, A. *et al.* *Anti-Candida albicans natural products, sources of new antifungal drugs: A review.* *Journal de Mycologie Medicale*. [S.l.]: Elsevier Masson SAS. , 1 mar. 2017

CONCLUSÕES GERAIS

As extrações aquosas e etanólicas apresentadas no capítulo 01 são as que proporcionam maior rendimento nas extrações, principalmente extrações com as folhas;

Os extratos aquosos e etanólicos de *Eugenia klotzschiana* O. Berg possuem elevado IAA podendo ser indicado como fontes naturais de antioxidantes.

Os extratos estudados apresentaram potencial antimicrobiano maior que o encontrado em outras espécies do gênero *Eugenia* coletadas no Brasil.

O extrato etanólico de raiz apresentou forte atividade antimicrobiana com MIC menor que os resultados apresentados pelos extratos eluotrópicos por ser mais eficiente na obtenção de moléculas como monoterpenos e sesquiterpenos entre outras com propriedades antimicrobianas.

A extração seriada teve o melhor rendimento com o solvente mais polar da série, o metanol. Porém, contra *Escherichia coli*, os extratos obtidos com solventes menos polares apresentaram melhor atividade antimicrobiana. Igualmente foram os resultados contra *Staphylococcus aureus* em que o extrato hexânico de folhas apresentou atividade forte, o extrato diclorometânico de raiz apresentou resultado moderado e demais extratos variaram de fraco a inativos. O microrganismo mais sensível aos extratos de *Eugenia klotzschiana* O. Berg foi *Candida albicans* com resultados fortes tanto nos experimentos com extratos aquosos e etanólicos quanto com os extratos eluotrópicos.