



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARIANA GOMES VIDAL SAMPAIO

**AVALIAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO E ANTIPARASITÁRIO DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS EXTRAÍDOS DE ESPÉCIES *Eugenia* PROVENIENTES DA
CAATINGA**

Recife
2019

MARIANA GOMES VIDAL SAMPAIO

**AVALIAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO E ANTIPARASITÁRIO DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS EXTRAÍDOS DE ESPÉCIES *Eugenia* PROVENIENTES DA
CAATINGA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Biotecnologia.

Orientador: Prof^a. Dra. Márcia Vanusa da Silva.

Coorientador: Prof^o. Dr. Irwin Rose de Alencar Menezes.

Recife

2019

Catálogo na fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia - CRB-4/1788

Sampaio, Mariana Gomes Vidal

Avaliação do perfil fitoquímico e antiparasitário dos óleos essenciais extraídos de espécies *Eugenia* provenientes da Caatinga / Mariana Gomes Vidal Sampaio. – 2019.

122 f. : il.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Vanusa da Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Irwin Rose de Alencar Menezes.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Recife, 2019.

Inclui referências.

1. Plantas medicinais. 2. Plantas da caatinga. I. Silva, Márcia Vanusa da (orientadora) II. Menezes, Irwin Rose de Alencar (coorientador). III. Título.

581.634

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2020 - 001

MARIANA GOMES VIDAL SAMPAIO

**AVALIAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO E ANTIPARASITÁRIO DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS EXTRAÍDOS DE ESPÉCIES *Eugenia* PROVENIENTES DA
CAATINGA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 09/12/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Márcia Vanusa da Silva (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Thiago Henrique Napoleão (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dra. Priscilla Andrade de Moura (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dra. Hortência Farias de Andrade (Examinador Externo)
Centro Universitário Tiradentes

Dedico esse trabalho aos meus pais Sérgio e Marilan e a minha avó Mariêta, pelo amor incondicional que sempre me ofereceram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me enviar anjos aqui na terra e sempre ter colocado no meu caminho pessoas especiais que tornaram essa jornada mais fácil e prazerosa.

Ao Menino Jesus de Praga, meu protetor e que me fornece a força necessária para seguir lutando em busca dos meus sonhos.

Agradeço aos meus pais, Sérgio e Marilan, os quais amo incondicionalmente, pela oportunidade de estudar e por muitas vezes terem abdicado das suas vidas, pensando no meu futuro.

À minha avó Mariêta, meu exemplo e referência, pelas orações, amor, preocupação e cuidado diários.

Aos meus avós, Mário (*in memoriam*), Benjamim (*in memoriam*) e Maria (*in memoriam*), dos quais sinto muitas saudades, por todo apoio e carinho dedicados em vida.

Ao meu noivo, Paulo Reginaldo, que durante esses quase quatro anos jamais me deixou esquecer a tese e que me ajudou no que foi possível, agradeço pela sua compreensão e reafirmo que esse processo foi mais tranquilo por ter você comigo.

Ao meu amigo Bruno Santos, que me incentivou a tentar a seleção de doutorado e que esteve ao meu lado em todo esse tempo, não importando se a distância era entre Juazeiro ou Quixadá e Goiânia.

Aos amigos de vida, doutorado e profissão, Ramon Bezerra e Lilian Vandesmet, sem a ajuda de vocês teria sido muito mais difícil.

Aos amigos de todas as horas: Maria Eduarda, Valéria, Samylla, Amanda, Priscila, Rafaell, Mauro, Juliana, Clara, Priscilla e Nayla; e aos tios: Mana, Marise, Marcos, Raquel, Mário, Fábio e Maninha, pelas palavras de incentivo e momentos de descontração.

À minha professora e orientadora Márcia Vanusa, que sempre me recebeu muito bem e aceitou o desafio de me orientar, mesmo que de longe e entendeu a minha ausência por conta do trabalho, sempre com palavras positivas e buscando uma solução para todas as dificuldades.

Aos professores Irwin Rose e Henrique Douglas pela parceria na realização dos meus experimentos e à Vilmar Lermen, sua família e toda a comunidade Agrodóia de Exu, Pernambuco, pelo acolhimento e auxílio na coleta das espécies.

Às colegas de doutorado: Morgana, Pri Moura e Lívia Caroline, vocês tornaram as minhas idas a Recife muito mais agradáveis.

Ao Centro Universitário Católica de Quixadá, por permitir que muitas vezes eu me ausentasse do trabalho em busca da realização desse sonho.

“Aos seus anjos, Ele mandou que te guardem em todos os teus caminhos.” (BÍBLIA, Salmos, 90).

RESUMO

A Caatinga, um bioma nativo do Brasil, possui uma flora rica e diversificada, porém com potencial ainda subexplorado. A literatura comprova que cerca de cem espécies do gênero *Eugenia*, pertencentes à família Myrtaceae já foram identificadas nesse bioma, com utilização na medicina como: antidiabético, antimicrobiano, antiparasitário, fotoprotetor, analgésico, antipirético, antiartrítico, cicatrizante, anti-inflamatório, hepatoprotetor, anti-oxidante, ulceroprotetor, entre outros. As plantas medicinais vêm se tornando uma alternativa na terapêutica de doenças tropicais negligenciadas, como as parasitoses, pois alguns antiparasitários são tóxicos, dispendiosos e apresentam efeitos colaterais. Dessa forma, espécies nativas devem ser pesquisadas com o intuito de serem utilizadas na fabricação de novas drogas que atuem contra essas patologias. Diante desse contexto, objetivou-se realizar um levantamento bibliográfico sobre as atividades biológicas das espécies do gênero *Eugenia* nativas da Caatinga brasileira, bem como avaliar a composição fitoquímica e antiparasitária dos óleos essenciais extraídos das folhas de *Eugenia gracillima* Kiaersk (OEEG) e *Eugenia stipitata* McVaugh (OEES). Para avaliar a composição química e a atividade antiparasitária, os óleos essenciais (OEs) foram extraídos por hidrodestilação e a análise fitoquímica foi realizada por cromatografia gasosa, sendo testado contra as formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* e formas promastigotas de *Leishmania braziliensis* e *Leishmania infantum*. A atividade citotóxica foi realizada em fibroblastos através de um método de microdiluição em placa e posteriormente revelado com resazurina. O OEEG apresentou germacreno D, muuroleno, biciclogermacreno, germacreno B, Δ -cadieno e Δ -elemeno; como componentes majoritários e apresentou valores de LC50 de (74,64 μ g/ml) para *Leishmania braziliensis* e (76,99 μ g/ml) para *Leishmania infantum*, obtendo valores maiores que 1000 μ g/ml para as formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* nas mesmas concentrações. Apresentou ainda alta seletividade contra as formas promastigotas de *L. braziliensis* (73,66) e *L. infantum* (71,41), mas não apresentou efeito antiparasitário relevante frente às formas epimastigotas de *T. cruzi*. O OEES obteve valores de LC50 de (37,65 μ g/ml) para *Leishmania braziliensis* e (54,71 μ g/ml) para *Leishmania infantum*, obtendo valores maiores que 1000 μ g/ml para as formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* nas mesmas concentrações. Também apresentou alta seletividade contra as formas promastigotas de *L. braziliensis* (13,58) e *L. infantum* (9,35), sendo seus constituintes químicos mais abundantes: β -eudesmol, γ -eudesmol, elemol, óxido de cariofileno, cloveno e espatulenol. Os resultados revelam que os OEEG e OEES representam compostos com potencial capacidade

biológica a serem exploradas, possuindo notável atividade leishmanicida, tornando-se favorável para a realização de novos testes de caráter antiparasitário que poderão ser promissores na terapêutica alternativa contra doenças tropicais negligenciadas.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Caatinga. Atividades biológicas. *Eugenia*.

ABSTRACT

Caatinga, a native biome of Brazil, has a rich and diverse flora, but with underexploited potential. The literature shows that about one hundred species of the genus *Eugenia*, belonging to the Myrtaceae family, have already been identified in this biome, being used in medicine as: antidiabetic, antimicrobial, antiparasitic, analgesic, antipyretic, antiarthritic, scarring, anti-inflammatory, hepatoprotective, antioxidant, ulceroprotective, among others. Medicinal plants have become an alternative in the treatment of neglected tropical diseases, such as parasitic diseases, as some antiparasitics are toxic, expensive and have side effects. Thus, native species should be researched in order to be used in the manufacture of new drugs that act against these pathologies. In this context, we aimed to conduct a bibliographic survey on the biological activities of species of the genus *Eugenia* native to the Brazilian Caatinga, as well as to evaluate the phytochemical and antiparasitic composition of the essential oils extracted from the leaves of *Eugenia gracillima* Kiaersk (OEEG) and *Eugenia stipitata* McVaugh. (OEES). To evaluate the chemical composition and antiparasitic activity, the essential oils (OEs) were extracted by hydrodistillation and the phytochemical analysis was performed by gas chromatography, being tested against the epimastigote forms of *Trypanosoma cruzi* and promastigote forms of *Leishmania braziliensis* and *Leishmania infantum*. Cytotoxic activity was performed on fibroblasts by a plate microdilution method and further developed with resazurin. The OEEG presented germacrene D, muurolene, bicyclogermacrene, germacrene B, Δ -cadiene and Δ -elemene; major components and presented LC50 values of (74.64 $\mu\text{g/ml}$) for *Leishmania braziliensis* and (76.99 $\mu\text{g/ml}$) for *Leishmania infantum*, obtaining values greater than 1000 $\mu\text{g/ml}$ for the epimastigote forms of *Trypanosoma cruzi* in them concentrations. It also showed high selectivity against the promastigote forms of *L. braziliensis* (73.66) and *L. infantum* (71.41), but did not show relevant antiparasitic effect against the epimastigote forms of *T. cruzi*. The OEES obtained LC50 values of (37.65 $\mu\text{g/ml}$) for *Leishmania braziliensis* and (54.71 $\mu\text{g/ml}$) for *Leishmania infantum*, obtaining values greater than 1000 $\mu\text{g/ml}$ for the epimastigote forms of *Trypanosoma cruzi* at the same concentrations. It also showed high selectivity against the promastigote forms of *L. braziliensis* (13.58) and *L. infantum* (9.35), being its most abundant chemical constituents: β -eudesmol, γ -eudesmol, elemol, caryophyllene oxide, clovene and spatulenol. The results show that the OEEG and OEES represent compounds with potential biological capacity to be explored, having remarkable leishmanicidal activity, making it favorable for the performance of new antiparasitic tests that may be promising in alternative therapy against neglected tropical diseases.

Keywords: Medicinal plants. Caatinga. Biological activities. *Eugenia*.

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 –	Atividades biológicas de espécies de <i>Eugenia</i> utilizadas para o tratamento de doenças.....	39
Tabela 2 –	Constituintes fitoquímicos dos extratos e óleos de espécies de <i>Eugenia</i>	41
Tabela 3 –	Atividade antimicrobiana das espécies de <i>Eugenia</i> da Caatinga	56

Artigo 2

Table 1 –	Chemical composition of the essential oil from <i>Eugenia stipitata</i> McVaugh.....	93
Table 2 –	Antiprotozoal activity and cytotoxicity of <i>Eugenia stipitata</i> essential oil.	94

Artigo 3

Table S1 –	Chemical composition of the essential oil of <i>Eugenia gracillima</i> Kiaersk.....	107
Table S2 –	Antioxidant activity of <i>Eugenia gracillima</i> essential oil.....	108
Table S3 –	Antiprotozoal activity and cytotoxicity of <i>Eugenia gracillima</i> essential oil.....	109

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVOS	16
1.1.1	Objetivo Geral	16
1.1.2	Objetivos Específicos.....	16
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1	PLANTAS MEDICINAIS.....	17
2.2	PLANTAS DA CAATINGA.....	18
2.3	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS: ÓLEOS ESSENCIAIS.....	19
2.4	ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....	22
2.4.1	Óleos essenciais utilizados frente à Doença de Chagas.....	22
2.4.2	Óleos essenciais utilizados frente à leishmaniose.....	23
2.5	ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE PLANTAS DA FAMÍLIA MYRTACEAE.....	25
2.6	ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS PERTENCENTES AO GÊNERO <i>Eugenia</i>	27
2.7	<i>Eugenia gracillima</i>	29
2.7.1	Propriedades biológicas de espécies <i>Eugenia</i> com compostos químicos similares aos encontrados em <i>Eugenia gracillima</i>	30
2.8	<i>Eugenia stipitata</i>	31
3	RESULTADOS.....	33
3.1	ARTIGO 1 – <i>Eugenia</i> spp. (Myrtaceae) DA MAIOR FLORESTA TROPICAL SAZONALMENTE SECA DA AMÉRICA DO SUL: UMA REVISÃO FITOQUÍMICA E FARMACOLÓGICA.....	33
3.2	ARTIGO 2 - CHEMICAL COMPOSITION, ANTIPROTOZOAL AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF <i>Eugenia stipitata</i> MCVAUGH LEAVES ESSENTIAL OIL.....	81
3.3	ARTIGO 3 - CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT AND ANTIPROTOZOAL ACTIVITY OF <i>Eugenia gracillima</i> KIAERSK. LEAVES ESSENTIAL OIL.....	95
4	CONCLUSÕES.....	110
	REFERÊNCIAS.....	111

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas na medicina popular é amplamente implementada na maioria dos países. Em alguns deles, como na África e na Ásia, cerca de 80% da população depende predominantemente de preparações como óleos e extratos de plantas para os cuidados primários de saúde (WHO, 2013; AI et al., 2019).

Porém, o conhecimento das práticas tradicionais de cura pode desaparecer, devido à modernização da indústria farmacêutica e à tendência de mudança no estilo de vida da população. Existe urgência em estudar e gravar esse precioso conhecimento do uso de ervas como remédios, uma vez que a diminuição da utilização de plantas vem ocorrendo devido à escassez de espécies, que é causada principalmente pela atividade humana, juntamente com o longo período de estação seca. Diante do exposto, a conservação e a comprovação científica de ervas medicinais raras assumem maior significância (AGRA et al., 2008).

As plantas aromáticas têm grande importância para a indústria farmacêutica, pois essas espécies apresentam potencial inibidor de bactérias, fungos e leveduras. O problema emergente da resistência à antibioticoterapia impulsiona múltiplos estudos sobre a potencial atividade antimicrobiana dos óleos essenciais (ZAMORA; TORRES; NUNES, 2018), sendo comprovada a sua capacidade de inibir o crescimento até mesmo de cepas bacterianas multi resistentes aos antibióticos convencionais (TARIQ et al., 2019).

Óleos essenciais são metabólitos secundários de plantas aromáticas, caracterizados como voláteis, cuja extração é realizada por vapor ou hidrodestilação. Possuem algumas propriedades conhecidas, como microbicida, analgésico, sedativo, anti-inflamatório e anestésico local (BAKKALI et al., 2008). Também são considerados economicamente importantes na indústria, para a obtenção de produtos como: cosméticos, perfumes e medicamentos (SWAMY; SINNIHA, 2015).

Estes óleos são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, líquidas que possuem cheiro e podem ser extraídos de várias partes das plantas (flores, inflorescências, sementes, folhas, gravetos, cascas, frutos e raízes), através de métodos específicos. Possuem coloração amarelada, aparência oleosa e aroma geralmente agradável. A volatilidade consiste na sua principal característica, a qual permite a diferenciação entre os óleos essenciais e os fixos (SIMÕES et al., 2007).

A família Myrtaceae é constituída por cerca de 3.500 espécies de plantas, distribuídas em 130 gêneros, localizados em regiões tropicais e subtropicais com ampla distribuição em todos os biomas brasileiros (PROENÇA et al., 2006). Os principais gêneros da família Myrtaceae são

Myrtus, *Psidium*, *Pimenta*, *Eugenia*, *Pseuocaryophyllus*, *Syzygium*, *Eucalipto*, *Leptospermum*, *Plinia* e *Melaleuca* (FLORA DO BRASIL, 2018).

Dentre os domínios morfoclimáticos nos quais a família Myrtaceae pode ser encontrada, inclui-se a Caatinga, que compreende aproximadamente 845 mil km², localizada na região semi-árida do Brasil. Consiste em uma vegetação com a capacidade de perder as folhas no período do outono e inverno, composta por pequenas árvores, arbustos, gramíneas e xerófilos. Essa região tropical seca apresenta alto nível de insolação, alta temperatura, escassos recursos hídricos e baixo índice pluviométrico, que muitas vezes causam longos períodos de seca (GORLACH-LIRA; COUTINHO, 2007).

A Caatinga é um bioma ainda pouco explorado, embora apresente uma ampla diversidade de espécies em sua flora, tornando-se uma importante fonte para a descoberta de moléculas e compostos alternativos biologicamente ativos (ALVAREZ; KIILL, 2014). Alguns óleos essenciais possuem atividade antiparasitária comprovada, como o óleo das flores frescas de *Eugenia klotzschiana*, com ação anti-*Trypanosoma cruzi*, bem como o óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora* ativo contra espécies de *Leishmania* (CARNEIRO et al., 2017; RODRIGUES et al., 2013).

A planta *Eugenia gracillima* Kiaersk, popularmente conhecida como murta, é uma espécie nativa da Chapada do Araripe, Nordeste brasileiro, cujos frutos vêm sendo utilizados para a produção de doces e geléias por agricultores locais, sendo uma planta ainda pouco explorada (ARAÚJO et al., 2015) e com escassos relatos publicados na literatura. Outra espécie de polpa succulenta é *Eugenia stipitata* McVaugh, conhecida popularmente como araçá-boi e utilizado na medicina popular para o tratamento de distúrbios intestinais e urinários (FERNÁNDEZ-TRUJILLO et al., 2011).

As parasitoses representam um grave problema de saúde pública em países subdesenvolvidos, pois devido às condições sócio-econômicas da população, o tratamento não tem despertado interesse da indústria farmacêutica, fato que torna patologias como a leishmaniose e a tripanossomíase negligenciadas. Atrelado a esse fato, a terapêutica disponível ainda apresenta alta toxicidade (WHO, 2003).

O estudo com plantas medicinais pode basear-se em estratégias distintas: seleção fitoquímica, que visa pesquisar uma classe específica de compostos; seleção aleatória de plantas ativas frente a uma ação farmacológica ou atividade microbiológica predeterminada, e seleção etnofarmacológica (COS et al., 2006). Para este estudo, foi realizada uma revisão de literatura sobre o potencial fitoquímico e farmacológico de óleos essenciais e extratos obtidos das espécies de *Eugenia* pertencentes à família Myrtaceae e encontradas no bioma Caatinga. A

partir da mesma, as espécies *Eugenia gracillima* Kiaersk e *Eugenia stipitata* McVaugh foram escolhidas de acordo com a estratégia de seleção aleatória de plantas, buscando-se identificar os seus constituintes químicos, bem como pesquisar as suas atividades antiparasitárias.

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo identificar através de levantamento bibliográfico, as principais espécies de *Eugenia* provenientes da Caatinga, bem como avaliar o perfil fitoquímico e antiparasitário de óleos essenciais de folhas de *Eugenia gracillima* Kiaersk e *Eugenia stipitata* McVaugh.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Identificar através de levantamento bibliográfico, espécies de *Eugenia* provenientes da Caatinga, bem como avaliar o perfil fitoquímico e antiparasitário de óleos essenciais de folhas de *Eugenia gracillima* Kiaersk e *Eugenia stipitata* McVaugh.

1.1.2 Objetivos específicos

- Realizar levantamento bibliográfico sobre as espécies do gênero *Eugenia* nativas da Caatinga brasileira;
- Obter, caracterizar e quantificar os óleos essenciais das folhas de *Eugenia gracillima* Kiaersk (OEEG) e *Eugenia stipitata* McVaugh (OEES), através da técnica de hidrodestilação e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/MS);
- Determinar as atividades citotóxica e tripanocida dos OEEG e OEES, contra a forma epimastigota de *Trypanosoma cruzi* e leishmanicida, contra as formas promastigotas de *Leishmania braziliensis* e *Leishmania infantum*;
- Investigar a capacidade antioxidante *in vitro* do OEEG.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS

O reino vegetal representa um enorme reservatório de compostos biologicamente ativos, com várias estruturas químicas e propriedades que ajudam na prevenção de patologias, os quais podem ser estudados e explorados para a descoberta de novos agentes terapêuticos. Pesquisas nesta área têm sido priorizadas no cenário atual, a fim de combater várias doenças infecciosas que se tornaram fatais a nível mundial (KAVITHA; SATISH, 2013).

Até o ano de 2019 foram reconhecidas 46.781 espécies para a flora brasileira, sendo 4.770 algas, 33.330 angiospermas, 1.570 briófitas, 5718 fungos, 30 gimnospermas e 1.362 samambaias e licófitas (FLORA DO BRASIL, 2019).

As plantas medicinais equivalem aos mais antigos recursos utilizados na prevenção, cura ou tratamento de doenças na história da humanidade, tornando a fitoterapia uma alternativa eficiente, de baixo custo e culturalmente difundida na busca de soluções terapêuticas (SILVA et al., 2010).

As comunidades rurais, assim como a população urbana, são adeptas ao uso da fitomedicina para tratamentos patológicos sem prescrição médica. A partir desse uso descontrolado, é necessária uma avaliação das substâncias presentes nas plantas medicinais, como também o controle de qualidade de matérias-primas, com o intuito de utilizá-las de forma segura nas indústrias farmacêuticas e cosméticas. Para a realização desse controle é imprescindível o desenvolvimento de processos extrativos que possibilitem a caracterização e a quantificação dos compostos ativos (MICHELIN, 2008).

A obtenção de um fitoterápico de qualidade tem correlação direta com o conhecimento prévio das classes de componentes químicos encontrados nesses vegetais. Quando confirmada a presença de determinados grupos químicos, o estudo fitoquímico e biológico é direcionado, através de ensaios que avaliam substâncias oriundas de plantas, em extratos ou compostos isolados. Apesar do interesse na utilização desses produtos vegetais, ainda são poucas as pesquisas que relatam as propriedades biológicas de espécies em biomas predominantemente brasileiros como a Caatinga (LÔBO et al., 2010).

A qualidade da droga vegetal e dos seus derivados, ainda sofrem influências de diversos fatores, tais como: clima, características do solo empregado no plantio, período de colheita, aspectos genéticos da planta, condições de secagem e tempo de estocagem (MICHELIN et al., 2010).

Partes da planta como raiz, caule e folha podem fornecer compostos para serem empregados na produção de medicamentos. Como o consumo de plantas medicinais frescas ou como droga vegetal em diferentes formulações farmacêuticas pode auxiliar a população na prevenção e tratamento de doenças, percebe-se a necessidade da inclusão do conhecimento sobre os fitoterápicos no cotidiano de profissionais da saúde, de forma que os mesmos possam utilizá-lo na prática (ROSA; BARCELOS; BAMPI, 2012).

As ervas medicinais têm sido utilizadas popularmente na forma de chá, embora a maioria deles não seja cientificamente testada. Os chás e infusões de plantas podem conter substâncias tóxicas ou mesmo ocasionar efeitos mutagênicos. Em contrapartida, o consumo dessas substâncias também pode suprimir os efeitos de certos agentes perigosos para a população (VICENTINI et al., 2001).

A descoberta dos antibióticos produzidos por fermentação microbiana ocorrida no século XX, concomitante ao desenvolvimento de fármacos sintéticos produzidos pela indústria farmacêutica foram fatores cruciais para o declínio do uso de produtos naturais e conseqüentemente, do investimento em fármacos de origem vegetal (MONTANARI; BOLZANI, 2001).

2.2 PLANTAS DA CAATINGA

Os vegetais aparentemente são menos tóxicos quando comparados às drogas sintéticas, o que os tornam atraentes para o desenvolvimento de medicamentos. O Brasil possui a quinta maior extensão territorial do mundo, sendo muito conhecido por sua diversidade biológica e cultural. Entre os biomas brasileiros, um deles é exclusivo do país: a Caatinga, predominante na região Nordeste, ocupando 11% do território nacional, com clima semi árido e precipitação geralmente inferior a 900 mm / ano. Porém, mesmo com as condições desfavoráveis, abriga uma grande diversidade de espécies de plantas (ALBUQUERQUE et al., 2012; GIL, 2002).

A região da Caatinga é caracterizada por altas temperaturas, baixa média de umidade e precipitação anual, com a estação seca durando cerca de sete meses ou mais. Os solos são de diferentes origens e a maior parte deles são quimicamente férteis, bem drenado e oxigenado, quando presentes, os corpos de água raramente são permanentes, secando completamente durante o verão (BASSO et al, 2005). Em contrapartida, o inverno é a estação chuvosa com temperaturas mais amenas. Essas características fazem com que a vegetação da Caatinga esteja adaptada às condições climáticas locais (TRENTIN et al, 2011).

Os brejos da Região Nordeste do Brasil são divisões da floresta tropical perenifolia dentro da vegetação de Caatinga. O maior brejo está situado no Cariri cearense, formação natural da Chapada do Araripe e possui um grande reservatório de água no subsolo que irriga os três estados fronteiriços: Ceará, Pernambuco e Piauí. As regiões florestais da Chapada do Araripe podem ser identificadas resumidamente como: mata úmida, cerrado, carrasco e caatinga (AUGUSTO; GOÉS, 2007).

As famílias com o maior número de espécies encontradas na Caatinga são: Euphorbiaceae, Mimosoideae, Malvaceae, Rubiaceae, Myrtaceae, Cactaceae, Caesalpinoideae e Malpighiaceae. Esse bioma possui uma vegetação xerófila, de fisionomia e florística bastante diversificada, em grande parte do seu território, cujas espécies são, em geral, lenhosas, herbáceas, sendo algumas com espinhos, além das cactáceas e bromeliáceas (RAMALHO et al., 2009).

A Caatinga, região de grande biodiversidade, configura-se como um habitat específico para plantas medicinais e aromáticas não encontradas em outras regiões do mundo (MAIA, 2004), as quais constituem uma fonte de compostos que tem atraído a atenção em uma tentativa de desenvolver novas drogas (SILVA et al., 2013). O interesse no estudo dessas plantas cresce consideravelmente, devido às suas atividades biológicas como: antibiofilme (TRENTIN et al., 2013), antifúngica (FONTENELLE et al., 2008), antiparasitária (SOUZA et al., 2017b), entre outras.

As espécies nativas brasileiras vêm sendo estudadas devido à sua importância econômica, medicinal, ecológica e por apresentarem risco de extinção pela ação predatória do homem, visando o aproveitamento racional e a preservação das espécies. Apesar das inúmeras motivações para se proceder aos estudos desses vegetais, existem sérios problemas com a formulação de métodos de produção práticos e eficientes nas pesquisas com plantas medicinais (BRASILEIRO et al., 2009).

Pesquisas realizadas com plantas provenientes da Caatinga têm avaliado a ação de muitas espécies com efeito terapêutico comprovado entre a população de classe econômica menos favorecida (ALMEIDA; ALBURQUERQUE, 2002).

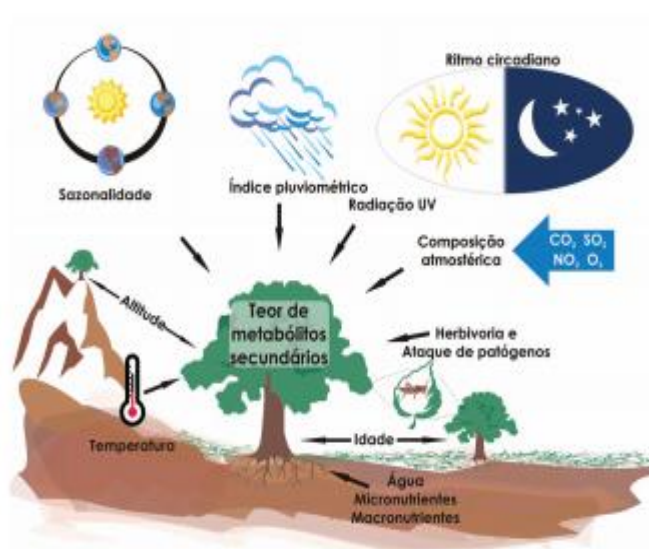
2.3 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS: ÓLEOS ESSENCIAIS

O Brasil é um país de grande extensão territorial e diferentes condições climáticas, características que favorecem a diversidade da flora brasileira, com muitas espécies vegetais utilizadas como importantes matérias-primas, produtos alimentícios e outras pouco conhecidas,

apesar de serem potencialmente benéficas. Diante desse contexto, os metabólitos secundários vegetais sobressaem na área de produção de medicamentos, devido a seus efeitos biológicos sobre a saúde dos seres humanos (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Os fatores fundamentais que podem coordenar ou alterar a síntese dos metabólitos secundários possuem correlações entre si e não operam de forma isolada, tais como: chuva e sazonalidade; temperatura e altitude, entre outros. É observado ainda em pesquisas de campo e com vegetações anuais que os efeitos sazonais podem ser confundidos com alterações metabólicas sob controle interno da planta (hormonal), devendo assim ser analisados em conjunto, conforme demonstrado na Figura 1 (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Figura 1 – Principais fatores que podem influenciar o acúmulo de metabólitos secundários em plantas.



Fonte: GOBBO-NETO; LOPES, 2007

Os compostos bioativos naturais ou fitoquímicos são encontrados nos vegetais e constituem nutrientes e fibras que atuam como um sistema de defesa contra doenças. Estes são classificados em dois grupos, que são os constituintes primários e secundários; de acordo com suas funções no metabolismo das plantas. Os constituintes primários compreendem os açúcares, aminoácidos, proteínas e clorofila, enquanto os constituintes secundários consistem em alcalóides, terpenóides e compostos fenólicos (KRISHNAIAH; SARBATLY; BONO, 2007), além de flavonóides, taninos, entre outros (KRISHNAIAH et al., 2009).

Os compostos fenólicos atuam através de diferentes mecanismos, que incluem a ruptura da membrana, ligação e inibição da síntese de proteínas, inibição enzimática, produção de

parede celular complexa e formação de pontes dissulfeto (BOZDOGAN; APPELBAUM, 2004).

Os compostos terpênicos variam de acordo com o número de isoprenos encontrados na sua constituição: hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30) e carotenos (C40) (OLIVEIRA et al., 2003). Os monoterpenos apresentam baixa massa molecular, e por esse motivo são voláteis, configurando-se como os constituintes dos óleos essenciais, atraindo insetos polinizadores, principalmente. Os sesquiterpenos consistem na maior classe de terpenos que também são encontrados nos óleos essenciais e em hormônios vegetais (OLIVEIRA et al., 2003).

Os óleos essenciais caracterizam-se por serem uma mistura complexa de compostos do metabolismo secundário de plantas, que são geralmente voláteis, apresentam odores e podem conter até cem moléculas individuais formadas essencialmente por monoterpenos e sesquiterpenos, fenilpropanóides e isotiocianatos (SHARIFI-RAD et al., 2017). A composição desses óleos sofre influência de fatores como: pluviosidade, temperatura e incidência solar (SOUZA et al., 2017a); podendo ser obtidos a partir de várias estruturas das plantas, como: flores, folhas, sementes, frutos e raízes, os quais apresentam potencial farmacológico significativo (ARGENTA et al., 2011; VERAS et al., 2012).

Os óleos essenciais são formados por 20 a 60 componentes em diferentes concentrações. Cerca de dois ou três compostos aparecem em concentrações consideradas altas (20-70%), enquanto outros são encontrados em pequenas quantidades (traços). Geralmente os componentes majoritários determinam as propriedades biológicas do óleo (BAKKALI et al., 2008; CROTEAU et al., 2000).

Em geral, monoterpenos, sesquiterpenos e seus derivados oxigenados são os principais componentes dos OE, embora os diterpenos e os fenilpropanóides também possam ser encontrados. As concentrações entre essas moléculas variam e algumas delas podem constituir até 70% do óleo total, tornando-se os componentes majoritários e responsáveis pelas atividades biológicas atribuídas aos OEs (SHARIFI-RAD et al., 2017).

Normalmente sintetizados nas folhas em estruturas chamadas tricomas glandulares e armazenados em espaços extracelulares, entre a cutícula e a parede celular, os óleos essenciais (OEs) são provenientes do metabolismo secundário das plantas, o qual desempenha um papel importante na interação dessas com o meio ambiente, atuando nos mecanismos de defesa contra as condições adversas (MICHELIN, 2008).

Os óleos essenciais e vários extratos de plantas têm provocado interesse como fonte de produtos naturais. Eles têm sido estudados devido à sua aplicação como uma alternativa de

medicamento para o tratamento de muitas doenças e a preservação de alimentos dos efeitos tóxicos provocados pelos antioxidantes (TEPE et al., 2004).

As plantas apresentam atividade antimicrobiana em decorrência dos seus metabólitos secundários que são produzidos e atuam na defesa dos produtos naturais contra microrganismos, insetos e herbívoros (COWAN, 1999). Tais propriedades têm sido explicadas através da estrutura química de substâncias ativas, assim, quando as plantas mostram efeito inibitório sobre o crescimento de bactérias, torna-se recomendável que a natureza e o número de compostos antibacterianos principais sejam estudados detalhadamente (USHIMARU et al., 2007).

2.4 ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS

As plantas apresentam atividades antibacterianas, antifúngicas, antihelmínticas, amebicidas, antimaláricas, anti-inflamatórias e antioxidantes, além de atividade psicotrópica e neurotrópica (FENNEL et al., 2004). Os óleos extraídos das plantas podem ser utilizados no desenvolvimento de novas drogas, possuindo efeitos farmacológicos com ação anti-helmíntica (PESSOA et al., 2002), além disso, já foi comprovada uma potencial ação inibitória de diversos óleos essenciais contra protozoários que acometem o homem, como *Trypanosoma cruzi*, causador da Doença de Chagas (SANTORO et al., 2007).

2.4.1 Óleos essenciais utilizados frente à Doença de Chagas

Os fármacos utilizados para o tratamento da Doença de Chagas possuem efeitos colaterais bem significativos. Além disto, estes apresentam uma eficiência maior na fase aguda da doença, dificilmente conseguindo tratar com eficácia pacientes crônicos (SANTORO et al., 2007). Por conta destes fatores, verifica-se a importância de se desenvolver novos fármacos, principalmente os derivados de plantas medicinais, por conta da ampla variedade destas e pelo acesso facilitado a pessoas com poder aquisitivo menor (CARVALHO; RODRIGUES, 2001).

A tripanossomíase americana, também conhecida como Doença de Chagas, é uma doença tropical negligenciada na América Latina, sendo causada pelo parasito *Trypanosoma cruzi* (MONCAYO; SILVEIRA, 2017). Esta é uma doença infecciosa comum na América Latina, cuja transmissão pode ocorrer após o contato das fezes contaminadas pelo protozoário de diferentes linhagens de insetos vetores *Triatoma* com a pele do hospedeiro. O parasito pode se multiplicar e se transformar dentro do inseto, isso acontece após a ingestão através de repasto

sanguíneo de um hospedeiro infectado. A Doença de Chagas é uma doença crônica caracterizada por manifestações cardiovasculares e gastrointestinais como disfunções do esôfago e do cólon (IANNI et al., 2001).

Trypanosoma cruzi apresenta um ciclo biológico do tipo heteroxênico, possuindo estágios morfológicos distintos de acordo com a sua passagem por hospedeiros vertebrados e invertebrados. Após a ingestão de tripomastigotas da corrente sanguínea pelos barbeiros vetores, os parasitos são transformados em epimastigotas, que se diferenciam em formas metacíclicas no intestino posterior do triatomíneo e são liberadas nas fezes desse hospedeiro, podendo invadir novas células quando em contato com o vertebrado. No local, ocorre uma diferenciação em formas amastigotas intracelulares, que proliferam e se transformam novamente em tripomastigota, a forma infectante (SILVA JÚNIOR et al., 2014).

As formas amastigotas de *Trypanosoma cruzi* são menos susceptíveis aos óleos essenciais, quando comparadas com tripomastigotas, o que pode ocorrer pois os óleos essenciais devem atravessar a membrana da célula hospedeira e o vacúolo parasitóforo da membrana, para atingir o parasito intracelular. Por outro lado, a forma tripomastigota extracelular está diretamente exposta (BORGES et al., 2012).

Óleos essenciais de plantas da Caatinga, especialmente *Eugenia brejoensis*, são promissores agentes para o tratamento de doenças parasitárias, apresentando alta seletividade contra formas tripomastigotas e amastigotas, possibilitando o desenvolvimento de novas drogas contra a tripanossomíase (SOUZA et al., 2017b).

O óleo essencial de *Eugenia klotzschiana* também apresenta satisfatória atividade tripanocida (CARNEIRO et al., 2017), bem como o óleo essencial de *Eugenia uniflora* (e a família Myrtaceae em geral), representando uma alternativa para combater a doença de Chagas (SANTOS et al., 2012).

2.4.2 Óleos essenciais utilizados frente à leishmaniose

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma patologia causada por várias espécies de protozoários sanguíneos do gênero *Leishmania* que acomete a pele e as cartilagens de forma localizada, difusa ou disseminada e com caráter crônico. Outro tipo de leishmaniose, denominada visceral, causada pela espécie *Leishmania chagasi*, acomete o sistema linfomonocitário e tem disseminação sistêmica (BASANO; CAMARGO, 2004).

O diagnóstico clínico da leishmaniose visceral humana é complexo, pois as manifestações podem ser semelhantes a outras patologias como: doença de chagas, malária,

esquistossomose, entre outras. Em geral, os pacientes apresentam febre, aumento de órgãos (fígado e baço), diminuição na quantidade de leucócitos, anemia, hipergamaglobulinemia, tosse, dor abdominal, diarreia e emagrecimento (GONTIJO; MELO, 2004).

A espécie *Leishmania* possui duas formas evolutivas: as promastigotas são estruturas extracelulares que possuem flagelo para locomoção e habitam o trato digestivo do vetor, enquanto as formas amastigotas são intracelulares obrigatórias e parasitam os macrófagos dos hospedeiros vertebrados (NAKAMURA et al., 2006).

Os promastigotas são injetados exclusivamente no hospedeiro vertebrado através da picada da fêmea de um mosquito flebotomíneo. Após caírem na circulação desse hospedeiro, os promastigotas são fagocitados por macrófagos nos tecidos e se diferenciam em amastigotas, que são os principais alvos na quimioterapia para a leishmaniose (CUNNINGHAM, 2002). *Leishmania* spp. têm capacidade para sobreviver e se multiplicar dentro dos macrófagos, assim, para promover a infecção crônica, esses parasitos desenvolvem uma imunidade protetora (ALEXANDER; SATOSKAR; RUSSEL, 1999).

A terapia antileishmania ainda é baseada no uso de drogas pentavalentes antimoniais desenvolvidas no século passado, que são tóxicas e propensas à resistência, enquanto outros medicamentos, como a anfotericina B e a pentamidina, também apresentam efeitos colaterais. A aprovação da miltefosina, pioneira no tratamento oral de leishmaniose trouxe muitas expectativas, mas ainda torna-se necessário novas pesquisas que possibilitem uma terapêutica mais eficaz (SUNDAR; RAI, 2002; SINGH; SIVAKUMAR, 2004).

A leishmaniose visceral canina tem apresentado resistência às drogas antiparasitárias sintéticas disponíveis, intensificando a necessidade da adoção de medidas alternativas que visem reduzir a carga parasitária, além de minimizar os danos aos órgãos provocados pelos parasitos e redirecionar a resposta imune animal (OLIVA et al., 2010).

De acordo com Rosa et al. (2003), que pesquisou a atividade anti *Leishmania amazonensis* do óleo essencial de folhas de *Croton cajucara*, verificaram que a planta atuou na diminuição da associação entre macrófagos e parasitos, concomitante com o aumento do nível de produção de óxido nítrico pelo macrófagos infectados. Neste caso, pode-se inferir que o linalol presente no óleo essencial poderia apresentar ainda efeitos inibidores nos macrófagos. A seletividade desse óleo foi comprovada, uma vez que foi demonstrada toxicidade para *L. amazonensis* sem efeito sobre as células de mamíferos, favorecendo a realização de novos estudos com o citado óleo que se apresenta como uma fonte promissora para o tratamento da leishmaniose.

Ao serem testados os óleos essenciais de *Copaifera reticulata* e de *Lippia sidoides* contra as formas promastigotas da *Leishmania*, os resultados mostraram que os citados óleos foram eficazes em comparação com o controle positivo pentamidina (RONDON et al., 2012). Zheljazkov et al. (2008) também mostraram que constituintes minoritários como δ -cadineno, encontrado no óleo essencial do manjeriço apresentou efeitos inibitórios contra *Leishmania donovani*.

Oliveira et al. (2009) pesquisaram a atividade de óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Lippia sidoides* e *Ocimum gratissimum* contra promastigotas de *L. chagasi*. Sendo mais eficaz o óleo de *Cymbopogon citratus*, com um IC50 de 45 $\mu\text{g/mL}$, seguido de *Ocimum gratissimum*, com um IC50 de 75 $\mu\text{g/mL}$ e *Lippia sidoides*, com um IC50 de 89 $\mu\text{g/mL}$.

2.5 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE PLANTAS DA FAMÍLIA MYRTACEAE

Myrtaceae é a maior família da ordem Myrtales, amplamente distribuída mundialmente, porém predominantemente encontrada nas Américas e na Austrália, sendo a família dividida nas subfamílias Myrtoideae e Leptospermoideae (LIMBERGER et al., 2004).

A família Myrtaceae encontra-se distribuída em todos os domínios fitogeográficos brasileiros, contabilizando quase 1000 espécies subordinadas a 23 gêneros. As mirtáceas estão entre as 10 famílias com maior riqueza de espécies que compõem a flora brasileira, sendo a Floresta Atlântica um de seus centros de diversidade e corresponde à sexta maior família em níveis de diversidade. A mesma engloba os gêneros *Myrtus*, *Psidium*, *Pimenta*, *Eugenia*, *Syzygium*, *Eucalyptus*, *Leptospermum* e *Melaleuca*, por exemplo (FORZZA et al., 2010; FERNANDES, 2011).

A citada família abrange espécies de árvores e arbustos que se distribuem amplamente e em quase todo o mundo, exceto na Antártida, sendo esta caracteristicamente neotropical, excluído o gênero *Eugenia* que é pantropical (MARCHIORI; SOBRAL 1997; LANDRUM; KAWASAKI, 1997).

O gênero *Eugenia* compreende mais de mil espécies registradas, sendo considerado o maior da família *Myrtaceae*. Essas plantas encontram-se distribuídas a partir do Sul do México, Cuba, Brasil, Antilhas para o Uruguai e Argentina, com raras espécies na África (GOVAERTS et al., 2008).

Como a maioria dos frutos de mirtáceas desenvolvem-se sob condições ambientais adversas, como ausência de chuvas, enchentes, luz solar intensa e calor, essas plantas consistem

em importantes fontes de metabólitos secundários, envolvidos na defesa das mesmas (REYNERTSON et al., 2008).

Os frutos das mirtáceas nativas brasileiras possuem uma fonte de polifenóis que ajudam a diminuir o risco de doenças crônicas ligadas à obesidade. Frutos de espécies como: *Eugenia dysenterica* (cagaita), *Campomanesia phaea* Berg (cambuci), *Myrciaria dubia* Mc Vaugh (camu-camu) e *Myrciaria* sp. (jaboticaba) apresentam uma grande variedade de polifenóis (taninos), os quais possuem atividade regulatória e mantém os níveis de glicose normal, bem como atenuam as dislipidemias e protegem contra inflamação, estresse oxidativo e obesidade (DONADO-PESTANA et al., 2018).

Muitas espécies são utilizadas na medicina popular por possuírem propriedades antidiarréica, antimicrobiana, antioxidante, anti-reumática, anti-inflamatória, além diminuir a taxa de colesterol sanguínea (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002). Extratos e óleos essenciais de uma ampla variedade de plantas medicinais têm sido pesquisados, com aplicações difundidas na indústria farmacêutica, visto que contém vários compostos bioativos com propriedades biológicas (SANDASI; LEONARD; VILJOEN, 2010).

As atividades biológicas podem ser atribuídas à presença de diferentes fitocompostos em quantidades variáveis nos extratos da planta, podendo variar de acordo com a espécie botânica, idade, parte da planta estudada, extração, meio de cultura, quantidade de inóculo, bem como o solvente utilizado para os procedimentos de extração (MAHIDA; MOHAN, 2006; TAJKARIMI et al., 2010).

O estudo realizado por Takahashi et al. (2015) descreveu o tratamento de ratos com esteatose hepática (induzida por ingestão excessiva de frutose), através do extrato de *Eucalyptus globules* (Myrtaceae), apresentando uma redução dos índices de gordura. Essa pesquisa indica que plantas da família Myrtaceae podem ter um efeito benéfico, diminuindo o acúmulo de lipídios nos hepatócitos. Enquanto estudos realizados por Fetter et al., (2010) indicaram atividade antioxidante em frutos de espécies da citada família.

Conhecida popularmente como murta, *Algrizea minor* pertencente às mirtáceas, é encontrada na Caatinga e no Cerrado Brasileiro, tendo utilização popular, através da infusão de folhas para o tratamento de dor e febre (SILVA et al., 2016).

A administração crônica de extratos acetônico e hidroalcoólico de *Eugenia brasiliensis* foi capaz de prevenir hipertrigliceridemia, diminuição do acúmulo de lipídios nos hepatócitos e redução da peroxidação lipídica em ratos com hipertrigliceridemia induzida por óleo de coco. Extratos obtidos de folhas de *E. brasiliensis*, podem ter efeitos hipolipemiantes e uma alta

capacidade antioxidante, provavelmente mediada pela ação de compostos fenólicos presentes nos mesmos (LIMA et al., 2017).

O extrato metanólico das folhas de *Eugenia uniflora* apresentou atividade comparável ou superior ao metronidazol. Como o uso popular da planta como agente antiparasitário seguro é confirmado, a folha de *E. uniflora* pode ser usada na etnomedicina como agente anti-tricomonal (IBIKUNLE et al., 2011).

A atividade do óleo essencial de *Eugenia uniflora* não é mediada pela produção de óxido nítrico, possivelmente a ativação dos macrófagos está envolvida na atividade anti *Leishmania*, como evidenciada pelo aumento tanto na capacidade fagocitária como na atividade lisossômica. O óleo essencial das folhas de *E. uniflora* com abundância de sesquiterpenos, tem atividade anti-*Leishmania* em ambos os estágios de *L. amazonensis* (RODRIGUES et al., 2013).

O extrato hidroalcoólico de *Eugenia brasiliensis* apresenta potencial antidepressivo com efeito mediado por sistemas serotoninérgicos, noradrenérgicos e dopaminérgicos. Além disso, o mesmo pode produzir um efeito sinérgico com os fármacos fluoxetina, imipramina e bupropiona, sugerindo que este extrato pode melhorar a eficácia destes antidepressivos (COLLA et al., 2012).

2.6 ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS PERTENCENTES AO GÊNERO *Eugenia*

As espécies de *Eugenia* possuem um potencial farmacológico, ornamental e comercial de frutas e óleos essenciais, evidenciado a partir das inúmeras pesquisas. A vegetação brasileira apresenta cerca de 400 espécies do citado gênero, amplamente distribuídas no país (ALVES; TRESMONDI; LONGUI, 2008; CELLI; PEREIRA-NETTO; BETA, 2011).

Essas espécies são alvos constantes de pesquisas, uma vez que detém óleos essenciais e diversos metabólitos secundários que apresentam importantes ações biológicas (VICTORIA et al., 2012). Entretanto, a maioria das espécies nativas brasileiras pertencentes a este gênero ainda permanecem sem identificação e desconhecidas com relação a composição química e atividade biológica (LAZARINI et al., 2018).

Eugenia apresenta grande quantidade de compostos fenólicos, como taninos e flavonóides, justificando a atividade antioxidante de muitas espécies, bem como uma grande quantidade de carotenóides (EINBOND et al., 2004; NASCIMENTO et al., 2011), sendo os

componentes mais abundantes os monoterpenóides e sesquiterpenóides (COLE; HABER; SETZER, 2007).

Estudos realizados por Pereira et al. (2017) demonstraram que o óleo essencial obtido de *Eugenia jambolana*, quando exposto às luzes LED interferiram e aumentaram a ação dos antibióticos. Esses resultados são promissores na busca de novas terapias contra antibióticos resistentes a infecções bacterianas, sendo sugerido estudos adicionais para elucidar os efeitos modulatórios do óleo em associação com as luzes LED. Essa planta também tem sido utilizada como antioxidante, anti-inflamatório e antidiabético (DAMETTO et al., 2017).

As folhas de *Eugenia uniflora*, popularmente conhecidas como pitangueira têm utilização etnofarmacológica conhecida contra febre, problemas gástricos, reumatismo e diarreia (LORENZI; MATOS, 2002). O óleo essencial das folhas dessa planta apresentou atividade antimicrobiana contra várias bactérias gram-positivas, principalmente *Streptococcus equi* e *Streptococcus epidermidis*, o mesmo foi ativo contra cepas de leveduras, especialmente para *Cryptococcus gattii* e *Cryptococcus neoformans* (LAGO et al., 2011).

Eugenia candolleana (Myrtaceae), popularmente conhecida como “murta” ou “murtinha”, é uma rara espécie do Nordeste brasileiro, que tem sido usada para o tratamento da dor e febre, através da infusão das folhas. O óleo essencial dessa planta possui propriedades antinociceptiva e anti-inflamatória, as quais são possivelmente mediadas pela via de inibição da síntese de prostaglandinas ou outras vias periféricas (GUIMARÃES et al., 2009). O mesmo é rico em sesquiterpenos e apresenta o β -elemeno ($35,87 \pm 0,13\%$) como componente majoritário, possuindo atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (NEVES et al., 2017).

O óleo essencial de *E. umbelliflora* apresentou atividade contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Os resultados obtidos revelaram o potencial antibacteriano *in vitro* dos óleos essenciais das folhas de *Eugenia brasiliensis*, *Eugenia beaurepaireana* e *Eugenia umbelliflora*, indicando a importância de pesquisas relacionadas à sua aplicação no tratamento das doenças infecciosas (MAGINA et al., 2009).

Antioxidantes naturais presentes em espécies de *Eugenia*, como o ácido ascórbico, tocoferóis, compostos fenólicos, incluindo flavonóides, ácidos fenólicos e compostos voláteis são utilizados para reduzir a incidência de doenças cardíacas, câncer e algumas patologias neurodegenerativas (ARTS; HOLLMAN, 2005).

O óleo essencial extraído de espécies do gênero *Eugenia* apresenta várias propriedades biológicas, tais como: anticâncer, como o eugenol, composto isolado de *Eugenia caryophyllata* (Myrtaceae), que induziu a apoptose de células cancerígenas humanas (YOO et al., 2005); antidiarréica, como o óleo essencial das folhas de *E. dysenterica* que possui um efeito

possivelmente associado à sua capacidade de alterar a secreção intestinal e / ou processos de absorção (GALHEIGO et al., 2016), além de atividade citotóxica, encontrada em *Eugenia uniflora* (OGUNWANDE et al., 2005).

2.7 *Eugenia gracillima*

Eugenia gracillima Kiaersk. é uma espécie de Myrtaceae conhecida como murta na Região Nordeste do Brasil, ou cambuí no estado do Paraná, sendo considerada uma espécie nativa endêmica bastante difundida no território brasileiro. Trata-se de um arbusto que varia em altura de 1,5 a 5,0 metros, cuja fruta é uma baga, com forma oblonga em estágios não maduros e, quando maduros, com um formato redondo. A cor da casca muda de verde para vermelho ou preto durante o amadurecimento. A espécie é encontrada naturalmente na Chapada do Araripe, estado de Pernambuco, Brasil, onde as frutas apresentam importância socioeconômica para a região (ARAÚJO et al., 2016).

A espécie é propagada por sementes e cada fruta contém até duas delas com o embrião do tipo eugenóide (LUCENA et al., 2015). Também existem relatos da existência de *Eugenia gracillima* na Floresta Estacional Decidua de Santa Catarina, região Sul do Brasil (GASPER et al., 2013).

Eugenia dipetala é uma nova espécie encontrada no estado do Espírito Santo, que possui morfologia foliar semelhante à *Eugenia gracillima*, porém as lâminas são mais espessas, com forte intensidade e com o contorno nitidamente mais estreito. Adicionalmente, a presença de apenas duas pétalas nas flores a distingue de *E. gracillima*, bem como de outras espécies de *Eugenia* do Sudeste brasileiro (SOBRAL et al., 2014).

Eugenia klappenbachiana, morfologicamente semelhante à *Eugenia gracillima*, difere de outras espécies de *Eugenia* por apresentarem flores solitárias e folhas densamente pontuadas, cujas árvores apresentam flores nos meses de julho a novembro e frutos de agosto a dezembro (ROMAGNOLO; DE SOUZA, 2006).

A procura por produtos alimentícios nativos e exóticos encontra-se em ascensão, o que favorece a exploração das propriedades biológicas e de processamento, sendo a murta incluída nesse grupo, por se tratar de uma frutífera não tradicional ainda pouco estudada (FEITOSA et al., 2015).

O fruto da murta é subexplorado, entretanto tem despertado o interesse dos consumidores, devido às suas funções nutricional e funcional, além das propriedades sensoriais. Por apresentar rápida deterioração, requer a aplicação de tratamentos tecnológicos, como a

redução da umidade através da secagem, que visa preservar a qualidade nutricional e aumentar a durabilidade, proporcionando a comercialização (FEITOSA et al., 2017).

Os estudos do fruto da murta realizados por Araújo (2015) revelaram um alto teor de vitamina C, antocianinas totais, flavonóides amarelos e carotenóides totais na massa fresca do fruto, indicando potencial antioxidante para os mesmos. Conforme apresentado na Figura 2, os frutos são pequenos, arredondados, corados na cor roxa quando maduros e considerados bons para consumo devido à relação SST/ATT (sólidos solúveis totais/ acidez total titulável).

Figura 2: Fruto da murta (*Eugenia gracillima* Kiaersk.)
no estágio de maturação “maduro” –
Chapada do Araripe, Exu, PE



Fonte: ARAÚJO, 2015

2.7.1 Propriedades biológicas de espécies *Eugenia* com compostos químicos similares aos encontrados em *Eugenia gracillima*

Com relação a óleos essenciais extraídos de espécies *Eugenia*, mais de 300 compostos foram determinados, estabelecendo grande diversidade química, porém os sesquiterpenos cíclicos, seguidos de monoterpenos predominam, além de uma pequena quantidade de espécies com a presença de compostos aromáticos. O sesquiterpeno β -cariofileno e o monoterpeno α -pineno são considerados os compostos mais encontrados (STEFANELLO; PASCOAL; SALVADOR, 2011).

De acordo com o estudo realizado por Sampaio et al. (2019), os constituintes majoritários encontrados no óleo essencial extraído das folhas de *Eugenia gracillima*, nativa do bioma Caatinga são: germacreno D (16,10%), γ -muuroleno (15,60%), biciclogermacreno (8,53%), germacreno B (7,43%) e Δ elemeno (6,06%).

Em relação aos principais constituintes do OE das folhas de *E. uniflora*, o germacreno D é um forte antioxidante devido à sua porção metílica extra-cíclica (DORMAN et al., 2000). Enquanto biciclogermacreno destaca-se por apresentar uma boa atividade bactericida, quando testado contra bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) e gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida* e *Escherichia coli*) (SALLEH et al., 2012).

O óleo essencial extraído de *Eugenia piauhiensis*, cujos compostos majoritários são os sesquiterpenos hidrocarbonetos, assim como encontrado em *Eugenia gracillima*, apresentou atividade contra as larvas de *Aedes aegypti*, com a concentração letal (CL50) variando de 230 a 292 mg / L após 24 horas de exposição (DIAS et al., 2015).

De acordo com o estudo realizado por Silva et al. (2015), os compostos identificados no óleo essencial extraído das folhas de *E. brejoensis* foram constituídos principalmente de sesquiterpenos (62,7%) e sesquiterpenos oxigenados (26,6%). Os principais constituintes foram δ -cadineno (22,6%), β -cariofileno (14,4%), α -muurolol (9,34%), α -cadinol (8,49%) e biciclogermacreno (7,93%), este último também encontrado em quantidade semelhante no OE das folhas de *E. gracillima* coletada na Caatinga. Esse óleo exibiu atividade moderada contra as larvas de quarto estágio de *Aedes aegypti*, cuja mortalidade foi observada com soluções contendo mais de 100 ppm de óleo. As concentrações necessárias para matar 50% das larvas do mosquito variaram entre 160 e 280 ppm, obtendo-se um valor médio de CL50 de $214,7 \pm 12,3$ ppm.

O óleo essencial das flores frescas de *E. klotzschiana*, cujos componentes majoritários são os sesquiterpenos: β -cariofileno (21,1%), espatulenol (20,9%) e biciclogermacreno (10,2%), apresentaram atividade frente às formas tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi*, sendo observado um aumento da inviabilidade destas células com a elevação da concentração do óleo essencial que apresentou satisfatória atividade tripanocida em comparação com o controle positivo, o benzonidazol (CARNEIRO et al., 2017).

2.8 *Eugenia stipitata*

Eugenia stipitata McVaugh é uma planta frutífera pertencente à família Myrtaceae, popularmente conhecida como araçazeiro-boi e originária da Amazônia Ocidental, sendo também cultivada em outros países da América Latina (MCVAUGH, 1956).

Araçá é uma árvore perene que possui de 2 a 5 metros de altura e produz uma fruta esférica (4 a 7 cm de diâmetro), com uma casca delicada de 1 mm de espessura e 6 a 15 sementes

por fruta. Essa tem uma cor amarelo intensa, é succulenta, apresenta acidez elevada, características sensoriais únicas e pectina suficiente, que a torna adequada para produzir suco, néctares, compotas e geléias, cuja produção vem aumentando em virtude da comercialização (GARZÓN et al., 2012). Os frutos nos seus diferentes estágios de maturação estão representados na Figura 3 (KUMAR et al., 2016).

A polpa de araçá-boi é conhecida por conter um alto teor de açúcar solúvel e um sabor típico, qualidades que favorecem a sua utilização na indústria alimentícia (ROGEZ et al., 2004). O seu fruto é rico em terpenos, compostos voláteis, fibras, vitamina C e possui alta atividade antioxidante, além disso, o extrato etanólico apresenta propriedades antimutagênicas e antígenotóxicas, sugerindo o seu uso como agente preventivo contra o câncer (NERI-NUMA et al., 2013).

A composição fitoquímica do óleo das folhas de *E. stipitata* foi realizada por Medeiros et al. (2003) que constataram a presença de monoterpenos (24,9%) e sesquiterpenos (69,5%), essencialmente. Os sesquiterpenos majoritários foram derivados do cariofileno, tais como β cariofileno e óxido cariofileno (MEDEIROS et al., 2003).

Figura 3 - Fruto do araçá-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh) nos estágios não amadurecido (a) e maduro (b).



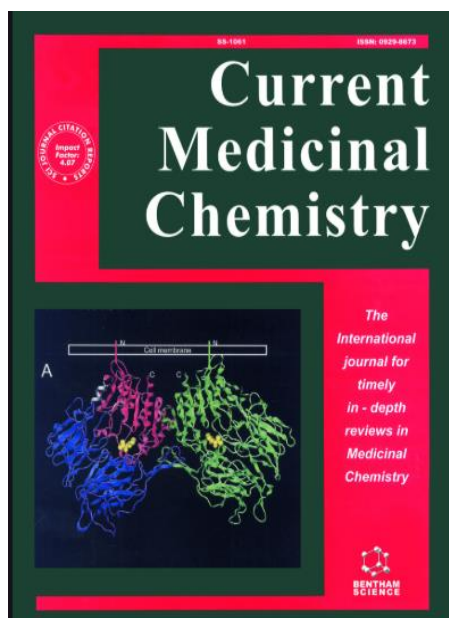
Fonte: Kumar et al., (2016)

3 RESULTADOS

Os resultados dessa pesquisa são apresentados em formato de artigos.

3.1 ARTIGO 1 – *Eugenia* spp. (Myrtaceae) DA MAIOR FLORESTA TROPICAL SAZONALMENTE SECA DA AMÉRICA DO SUL: UMA REVISÃO FITOQUÍMICA E FARMACOLÓGICA

Artigo será submetido para publicação ao periódico: *Current medicinal chemistry*



Fator de Impacto: 3.894

Classificação A2 no Qualis para Ciências Biológicas I

***Eugenia* spp. (Myrtaceae) da maior floresta tropical sazonalmente seca da América do Sul: uma revisão fitoquímica e farmacológica**

Mariana Gomes Vidal Sampaio^{1*}, Vilmar Luiz Lermen², Bruno Souza dos Santos¹, Edson Renan Barros de Santana³, Cláudia Sampaio de Andrade Lima³, Joelma Pessoa Gonçalves¹, Clovis Macêdo Bezerra Filho¹, Daniela Bomfim de Barros^{1,4}, Saulo Almeida de Menezes¹; Graziela Claudia da Silva¹, Milena Patrícia Nóbrega de Paiva⁴, Lúcio Roberto Cançado Castellano⁴, Brenna Louise Cavalcanti Gondim⁴, Maria Tereza dos Santos Correia^{1,5}, Márcia Vanusa da Silva^{1,5}

¹*Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 Cidade Universitária, Recife, Brasil. CEP: 50670-901*

²*Associação dos Agricultores Familiares da Serra dos Paus Dóias (Agrodóia)., Exu, Pernambuco, Brasil.*

³*Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, Recife, Brasil. CEP: 50670-901*

⁴*Grupo de Estudos e Pesquisas em Imunologia Humana- GEPIH, Escola Técnica de Saúde, Universidade Federal da Paraíba. Cidade Universitária, João Pessoa, Brasil. CEP: 58059-900*

⁵*Núcleo de Bioprospecção e Conservação da Caatinga, Instituto Nacional do Semiárido/Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. Av. Francisco Lopes de Almeida, S/N – Serrotão, Campina Grande, Brasil. CEP: 58429-970*

* Autor para correspondência marianavidalsampaio@gmail.com

Resumo

O Brasil se destaca por sua riqueza e pluralidade de recursos ambientais, dentre esses, o bioma Caatinga é o quarto mais diversificado e o único exclusivo do país, porém ainda pouco explorado. A família Myrtaceae compõe a flora brasileira e está entre as dez com maior riqueza de espécies, sendo que apenas na Caatinga são encontradas cerca de uma centena dessas. A mesma engloba os gêneros *Myrtus*, *Psidium*, *Pimenta*, *Eugenia*, *Sygyzium*, *Eucalyptus*, *Leptospermum* e *Melaleuca*. O gênero *Eugenia* se destaca com aproximadamente 40% das mirtáceas pertencentes ao bioma, cujas espécies apresentam diversas atividades biológicas, tais como: antidiabética, moluscicida, antimicrobiana, antiparasitária, fotoprotetora, inseticida, analgésica, antipirética, antiartrítica, cicatrizante, anti-inflamatória, hepatoprotetora, anti-

oxidante, ulceroprotetora, entre outras. Este estudo consiste em uma revisão bibliográfica, a partir dos seguintes descritores: *Eugenia*, Nordeste, Caatinga, atividades biológicas e plantas medicinais. Informações sobre *Eugenia* foram pesquisadas através de estudos encontrados em bases de dados eletrônicas, incluindo Medline / Pubmed, Science Direct e Google Acadêmico. Foram considerados como critérios de inclusão pesquisas relacionadas com a bioatividade das espécies de *Eugenia* encontradas na vegetação Caatinga brasileira, conforme o banco de dados FLORA DO BRASIL. De acordo com os dados encontrados na literatura, as espécies de *Eugenia* compreendem uma fonte abundante de sesquiterpenos, flavonóides e polifenóis, responsáveis pelas atividades biológicas reconhecidas e utilizadas popularmente, algumas das quais ainda necessitam ser comprovadas para evitar o uso excessivo de plantas medicinais com compostos considerados tóxicos.

Palavras-chave: *Eugenia*. Nordeste. Caatinga. Atividades biológicas. Plantas medicinais

Abstract

Brazil stands out for its wealth and plurality of environmental resources, among them, the Caatinga biome is the fourth most diversified and the only exclusive in the country, but still little explored. The Myrtaceae family composes the Brazilian flora and is among the ten with the highest species richness, and only in Caatinga about one hundred of them are found. It encompasses the genera *Myrtus*, *Psidium*, *Pimenta*, *Eugenia*, *Syzygium*, *Eucalyptus*, *Leptospermum* and *Melaleuca*. The genus *Eugenia* stands out with approximately 40% of the Myrtaceae belonging to the biome, whose species have various biological activities, such as antidiabetic, molluscicidal, antiparasitic, photoprotective, insecticide, analgesic, antipyretic, antiarthritic, healing, anti-inflammatory, hepatoprotective, antioxidant, ulceroprotective, among others. This study consists of a bibliographic review, based on the following descriptors: *Eugenia*, Northeast, Caatinga, biological activities and medicinal plants. Information about *Eugenia* was searched through studies found in electronic databases, including Medline / Pubmed, Science Direct, and Google Scholar. Inclusion criteria were research related to the bioactivity of *Eugenia* species found in Brazilian Caatinga vegetation, according to the FLORA DO BRASIL database. According to the data found in the literature, *Eugenia* species comprise an abundant source of sesquiterpenes, flavonoids and polyphenols, responsible for popularly recognized biological activities, some of which still need to be proven to avoid overuse of medicinal plants with compounds considered toxic.

Key words: *Eugenia*. Northeast. Caatinga. Biological activities. Medicinal plants

1 Introdução

O Brasil possui a maior riqueza florestal do mundo, com 238 famílias, 2979 gêneros e 35.931 táxons, dos quais 55,97% (20.109) são endêmicos. Entre os biomas, o quarto mais rico do país é a Caatinga, com 5299 espécies vegetais, agrupadas em 175 famílias e 1229 gêneros, e uma taxa de endemismo de 19,62% (1000 táxons e 28 gêneros) (Flora do Brasil, 2018). O país apresenta a quinta maior extensão territorial do mundo, sendo muito conhecido por sua diversidade biológica e cultural. Entre os biomas brasileiros, um deles é exclusivo: a Caatinga, localizada na região Nordeste, ocupando 11% do território nacional, com clima semi árido e precipitação geralmente inferior a 900 mm / ano, porém mesmo assim abriga uma grande diversidade de espécies de plantas (Albuquerque et al., 2012; Gil, 2002).

Essa diversidade permite que a vegetação nativa seja utilizada para diversos fins, como alimentação, pastagem, produção de madeira e artesanato, produção de óleos fixos, cera, extração de fibras e arborização cívica de ruas, praças e jardins, além de ser amplamente utilizada na medicina popular. A utilização da flora, a exploração extrativa e a expansão de áreas para agricultura e pastagem causam redução na diversidade de plantas e eliminação de muitas espécies (Giulietti et al., 2004).

Segundo dados do Ministério do Meio Ambiente (MMA), até 2009, aproximadamente 46% da área do bioma Caatinga havia sido modificada (MMA, 2011). Recentemente, o Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) iniciou um novo mapeamento da Caatinga e resultados preliminares (correspondendo a 16% da área) revelam que 42% da área é preservada, 40% da vegetação do bioma é modificada, 8 % do solo está exposto e propenso à desertificação e 8% é usado para a agricultura (INPE, 2016). Essas observações indicam a necessidade de preservação da Caatinga e incentivo ao cultivo de espécies nativas úteis.

Myrtaceae é a maior família da ordem Myrtales, amplamente distribuída mundialmente, porém predominantemente encontrada nas Américas e na Austrália, sendo a família dividida nas subfamílias Myrtoideae e Leptospermoideae (Limberger et al., 2004).

A família Myrtaceae encontra-se distribuída em todos os domínios fitogeográficos brasileiros, contabilizando quase 1000 espécies subordinadas a 23 gêneros. As mirtáceas estão entre as 10 famílias com maior riqueza de espécies que compõem a flora brasileira, sendo a Floresta Atlântica um de seus centros de diversidade e corresponde à sexta maior família em níveis de diversidade. Na Caatinga são encontrados 12 gêneros e 98 espécies pertencentes à família. A mesma engloba os gêneros *Myrtus*, *Psidium*, *Pimenta*, *Eugenia*, *Sygyzium*,

Eucalyptus, *Leptospermum* e *Melaleuca*. O gênero *Eugenia* se destaca com 35 espécies, o que representa 35,71% da família Myrtaceae do bioma (Forzza et al., 2010; Fernandes, 2011; Flora do Brasil..., 2018), sendo reconhecido como um dos mais importantes, com espécies de potencial utilização comercial, nutritiva e farmacológica (SAUSEN et al., 2009).

Diversos estudos apontam as atividades biológicas deste gênero, por exemplo, *Eugenia brejoensis* é uma planta promissora no tratamento da tripanossomíase (Souza et al., 2017a); enquanto *Eugenia brasiliensis*, pode ter efeitos hipolipemiantes e uma alta capacidade antioxidante (Lima et al., 2017) e *Eugenia jambolana* tem ação antimicrobiana (Pereira et al., 2017), antioxidante, anti-inflamatória e antidiabética (Dametto et al., 2017).

Contudo, a despeito das propriedades já conhecidas, sabe-se que muitas atividades ainda não foram devidamente investigadas e comprovadas, o que possibilita uma vasta área a ser explorada. Além disso, pode-se observar a facilidade de acesso a essas plantas, bem como o uso contínuo delas por parte das populações menos favorecidas, que ainda sofrem com doenças transmissíveis provocadas por microrganismos, o que reforça a importância de se conhecer mais sobre as espécies (Queiroz et al., 2015). Dessa forma, surgiu o interesse em realizar uma revisão de literatura, objetivando verificar o potencial fitoterápico das espécies de *Eugenia*, pertencentes ao bioma Caatinga.

2 Metodologia

Este estudo consiste em uma revisão bibliográfica realizada a partir dos seguintes descritores: *Eugenia* spp., Nordeste, Caatinga, Atividades biológicas e Plantas medicinais. As informações sobre *Eugenia* spp. foram coletadas através de estudos em bases de dados eletrônicas, incluindo Medline/Pubmed, Science Direct e Google Acadêmico, em língua portuguesa e inglesa. Foram considerados como critérios de inclusão pesquisas relacionadas com a bioatividade das espécies de *Eugenia*, encontradas na vegetação Caatinga Brasileira, conforme o banco de dados FLORA DO BRASIL. Não foram aplicados os critérios de exclusão, pois os artigos são escassos.

3 Etnofarmacologia

A etnofarmacologia resgata o uso histórico de plantas medicinais por nativos, que adquiriram grande conhecimento através da tradição familiar. Entretanto, essa prática ainda é pouco valorizada, embora seja de grande importância para a bioprospecção (Quave et al., 2008).

As espécies com potencial biológico mais descritas na literatura são: *Eugenia dysenterica*, *Eugenia punicifolia*, *Eugenia candolleana* e *Eugenia brejoensis* (Lima et al., 2011; Galeno et al., 2014; Guimarães et al., 2009; Azevedo et al., 2012). A Tabela 1 apresenta as principais espécies de *Eugenia* da Caatinga e sua utilização como planta medicinal.

Tabela 1: Atividades biológicas de espécies de *Eugenia* utilizadas para o tratamento de doenças.

Espécies	Extração e/ou partes da planta	Atividades biológicas	Referências
<i>E. candolleana</i>	Infusão das folhas	Dor e febre	Guimarães et al., (2009)
<i>E. uniflora</i>	Infusão das folhas	Antiparasitário; febre, problemas gástricos, reumatismo, diarreia e inflamações	Ibikunle et al., (2011); Lorenzi; Matos, (2002); Auricchio; Bacchi, (2003).
<i>E. involucrata</i> DC	Infusão das folhas	Ação antidiarreica e digestiva	Sausen et al., (2009)
<i>E. brasiliensis</i>	Folhas, frutos e cascas	diurético, adstringente e reumatismo	Revilla, (2002)
	Infusão das folhas	Diarreia, Diabetes e icterícia	Lima et al., (2011); Costa et al., (2000); Silva et al., (2001)
<i>E. dysenterica</i>	Extratos de polpas das frutas	Laxantes	Lima et al., (2010)
	Óleo essencial das folhas	Diarreia	Galheigo et al., (2015)
	Folha e flor	Doenças cardíacas	Conceição et al., (2012)
	Extrato metanólico de folhas	Antibacteriano	Azevedo et al., (2012)
<i>E. brejoensis</i>	Decocção ou infusão de folhas	Diarréia e disenteria; dor e febre	Trentin et al., (2011); Silva et al., (2015a)
<i>E. florida</i> DC.	Infusão das folhas	Diabetes	Bastos et al., (2019)
<i>E. jambolana</i>	Extrato etanólico	Diabetes	Srivastava; Chandra, (2013)
<i>E. malaccensis</i> L	Decocção da casca em água	Disenteria	Roosita et al., (2008)
<i>E. jambolana</i>	Infusão das folhas	Febre, constipação, protetor gastrointestinal	Pai et al., (2013)
<i>E. luschnathiana</i>	Frutos maduros	Antioxidante	Reynertson et al., (2008)

<i>E. punicifolia</i>	Decocção das folhas	Diabetes mellitus	Brunetti et al., (2006); Galeno et al., (2014); Grangeiro et al., (2006)
<i>E. punicifolia</i> (Kunth) DC.	Extrato hidroalcoólico das folhas	Dor e inflamação	Basting et al., (2014); Brandão et al., (2012)
<i>E. stipitata</i>	Frutos maduros	Doenças intestinais e da bexiga	Fernández-Trujillo et al., (2011).
<i>E. rigida</i>	Extrato hexânico das folhas	Leucemia	Zaki et al., (2013)
<i>E. umbelliflora</i> O.Berg	Extrato metanólico das folhas	Inflamação e úlceras	Meyre-Silva et al., (2009)

4 Constituintes fitoquímicos

Existem cerca de 300 compostos identificados a partir de óleos essenciais extraídos de espécies de *Eugenia*. Desses, os sesquiterpenos cíclicos são predominantes, seguidos pelos monoterpenos e os compostos alifáticos e aromáticos que foram identificados em poucas espécies (Souza et al., 2018). A Tabela 2 apresenta as principais espécies de *Eugenia* da Caatinga e os seus respectivos constituintes fitoquímicos.

Tabela 2: Constituintes fitoquímicos dos extratos e óleos de espécies de *Eugenia*.

Classe química	Compostos	Espécies	Parte utilizada	Referência
Monoterpenos	Limoneno; α -Thujeno	<i>E. dysenterica</i>	Folhas	Costa et al., (2000)
	Linalol	<i>E. punicifolia</i>	Folhas	Oliveira et al., (2005)
Triterpenos	Ácido betulínico; Lupeol	<i>E. flavescens</i>	Folhas	Cantanhede Filho et al., (2017)
	Ácido betulínico	<i>E. florida</i>	Folhas	Frighetto et al., (2005)
Glicosídeos	Quercitrina	<i>E. flavescens</i>	Folhas	Cantanhede Filho et al., (2017)
Fenóis	Ácido gálico	<i>E. punicifolia</i>	Folhas	Galeno et al., (2014)
Polifenóis	Catequina	<i>E. flavescens</i>	Folhas	Cantanhede et al., (2017)
	Catequina	<i>E. florida</i>	Folhas	Bastos et al., (2019)

Flavonóides	Miricetina	<i>E. flavescens</i>	Folhas	Cantanhede Filho et al., (2017)
	Naringenina; Kaempferol; Quercetina; Rutina	<i>E. florida</i>	Folhas	Bastos et al., (2019)
	Procianidina B-2	<i>E. florida</i>	Folhas	Bastos et al., (2019)
Sesquiterpenos	β -Cariofileno; α -Humuleno	<i>E. dysenterica</i>	Folhas	Costa et al., (2000)
	β -(E)-Cariofileno; δ -Cadineno; Biciclogermacreno	<i>E. brejoensis</i>	Folhas	Mendes et al., (2018)
	Trans-caryophyllene; Muurolol	<i>E. brejoensis</i>	Folhas	Souza et al., (2017a)
	γ -Elemeno; Biciclogermacreno; β -Cariofileno	<i>E. piauhiensis</i>	Folhas	Dias, (2013)
	Biciclogermacreno; Germacreno D; β -Cariofileno; Aromadendranos; α -Cadinol	<i>E. florida</i>	Folhas	Apel et al., (2004)
	β -Cariofileno	<i>E. puniceifolia</i>	Folhas	Oliveira et al., (2005)
	β -Cariofileno; Óxido cariofileno	<i>E. stipitata</i>	Folhas	Medeiros et al., (2003)
	Germacreno D; Biciclogermacreno	<i>E. flavescens</i>	Folhas	Pereira et al., (2010)
	δ -Emeleno; β -Elemeno; β -	<i>E. candolleana</i>	Folhas	Neves et al., (2017)

Cariofileno; Viridifloreno			
Óxido cariofileno; α -Cadinol; Globulol	<i>E. brasiliensis</i>	Frutos	Moreno et al., (2007)
Espatuleno; τ -cadinol	<i>E. brasiliensis</i>	Folhas	Magina et al., (2009)
β -Cariofileno; Biciclogermacreno	<i>E. beaurepaireana</i>	Folhas	Magina et al., (2009)
Viridifloreno; β -Pineno	<i>E. umbelliflora</i>	Folhas	Magina et al., (2009)

5 Efeitos farmacológicos

Frutos de Myrtaceae nativos do Brasil consistem em uma fonte de polifenóis biologicamente ativos que contribuem para a redução da produção de glicose no tratamento de doenças crônicas não transmissíveis ligadas à obesidade. Um exemplo é a planta *Eugenia dysenterica* DC. (Cagaita), que apresenta uma variedade de polifenóis, os quais auxiliam a homeostase corporal, atenuam a dislipidemia, protegem contra a inflamação, o estresse oxidativo e o ganho de peso em excesso (Donado-Pestana, 2018a).

Eugenia dysenterica pode ser utilizada na indústria, através da incorporação em preparações dermatológicas e cosméticas, pois é uma planta rica em catequina, taninos, flavonóides, terpenos e saponinas (Silva et al., 2015b). Ferreira-Nunes et al. (2018) desenvolveram microemulsões contendo o extrato aquoso das folhas de *Eugenia dysenterica* para aplicação tópica, cuja utilização é indicada em tratamentos dermatológicos que requerem ação antioxidante, devendo-se levar em conta a escolha da microemulsão adequada e o aspecto sensorial mais agradável.

Eugenia dysenterica é rica em polifenóis, cujas propriedades antioxidante, antiobesidade e antidiabética estão sendo investigadas pela indústria farmacêutica e alimentícia, visando o desenvolvimento de produtos e medicamentos que atuem na terapêutica do diabetes e da obesidade (Granato et al., 2015).

Eugenia jambolana tem várias atividades farmacológicas conhecidas e atribuídas à presença de diferentes flavonóides e alcalóides em várias partes da planta, porém a mais importante pode ser a antidiabética (Srivastava; Chandra, 2013).

5.1. Atividade citotóxica

A resposta final de um tratamento com extrato vegetal é o resultado de efeitos interativos, antagônicos e sinérgicos entre seus componentes biologicamente ativos. Vieira et al. (2012) testaram a citotoxicidade e a genotoxicidade do extrato etanólico das folhas de *Eugenia dysenterica*, embora a mesma represente um fitoterápico potencial para a produção de um medicamento antidiarréico, os resultados indicam que em doses mais altas, essa planta pode causar toxicidade e mutações, importantes fatores na indução da carcinogênese, sendo o seu uso indicado com cautela.

Costa et al. (2016) testaram o extrato hidroetanólico das folhas de *Eugenia aurata* (HEEA) em várias concentrações (0.1 a 1.000 µg/mL) frente a neutrófilos humanos, o qual não reduziu a viabilidade neutrofílica. A atividade antiproliferativa do HEEA foi avaliada frente às linhagens celulares: VERO (rim de macaco-verde africano), UACC-62 (melanoma), MCF-7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário resistente a múltiplas drogas), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão), PC-3 (câncer de próstata), OVCAR-3 (câncer de ovário), HT-29 (câncer de cólon) e K562 (leucemia). Quando avaliado o extrato hidroetanólico obtido a partir das folhas de *Eugenia punicifolia* (HEEP) nas mesmas condições e linhagens celulares, observou-se que o HEEP também não reduziu a viabilidade neutrofílica, apresentando um efeito citotóxico contra a linhagem celular K562 ($12,9 \pm 7,19$ µg / mL) e para MCF-7 ($39,0 \pm 5,80$ µg / mL).

Souza et al. (2017a) avaliaram a citotoxicidade do óleo essencial obtido a partir das folhas de *Eugenia brejoensis* (EBEO) frente a macrófagos peritoneais de camundongos. EBEO apresentou valor de CC50 de 251.4 µg/mL sendo considerado um citotóxico moderado. Além disso, também foi avaliada a atividade hemolítica utilizando eritrócitos humanos. Em concentrações inferiores a 125 µg/mL EBEO não apresentou atividade hemolítica. Entretanto, EBEO na concentração de 250 µg/mL foi considerado citotóxico apresentando atividade hemolítica de 53,4%.

Lima et al. (2010) avaliaram a atividade hemolítica da fração peptídica obtida a partir da polpa dos frutos de *Eugenia dysenterica* nas concentrações (100, 200, 300 e 400 µg/mL) frente a eritrócitos bovinos. A fração rica em peptídeos de *Eugenia dysenterica* não apresentou atividade hemolítica em nenhuma das concentrações testadas.

Silva et al. (2017) avaliaram o óleo essencial obtido a partir das folhas e dos caules finos de *Eugenia flavescens* frente a eritrócitos de camundongo e às linhagens celulares MRC-5

(fibroblastos humanos), AGP-01 (câncer gástrico), HCT-116 (câncer de cólon) e SKMEL-19 (melanoma). O óleo essencial de *Eugenia flavescens* não apresentou atividade hemolítica e foi citotóxico contra as linhagens celulares MRC-5 (14.0 µg/mL) e HCT-116 (13.9 µg/mL).

Galeno et al. (2014) compararam o efeito citotóxico do extrato aquoso das folhas de *Eugenia punicifolia* (EEP) com o fármaco doxorrubicina (droga utilizada no tratamento para o câncer). Os resultados mostraram que após 24, 48 e 72 horas, a doxorrubicina na concentração de 5 µg/mL promoveu 47,3; 71 e 78,5% de letalidade, respectivamente, enquanto o EEP nas concentrações (50, 25 e 12 µg/mL) não causaram mortalidade significativa quando comparada à doxorrubicina.

Leite et al. (2014) avaliaram o potencial citotóxico do triterpeno pentacíclico isolado do óleo essencial das folhas de *Eugenia punicifolia* frente a linhagem celular C2C12 (mioblastoma de rato). Os resultados indicaram que os triterpenos de *Eugenia punicifolia* reduziram a proliferação de células C2C12 principalmente devido ao seu efeito citostático, sem influenciar a atividade metabólica.

Um estudo realizado por Vitek et al. (2017) relata que o composto quercetina-3-O- (6'-O-galoil) -p-d-glucopiranosídeo (8) isolado de *Eugenia dysenterica* exerce efeito citotóxico nas linhagens celular de Kasumi-1 (leucemia mieloide aguda) e CCRF-CEM (leucemia linfoblástica aguda), promovendo a parada do ciclo celular e efeitos na diferenciação das células.

O efeito antiproliferativo do óleo das folhas de *Eugenia uniflora* foi testado contra linhagens de células humanas cancerígenas (cólon, HCT-116; gástrico, AGP-01; e melanoma, SKMEL-19), além de fibroblastos humanos normais (MRC-5), apresentando potencial atividade anti-câncer de pulmão, cólon, estômago e melanoma, com uma real possibilidade para o desenvolvimento de fitoterápico (Figueiredo et al., 2018).

5.2 Atividade antioxidante

Um composto antioxidante pode diminuir ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas, interrompendo a iniciação ou propagação de reações em cadeia oxidativas, que previnem ou reparam a agressão causada pelo oxigênio às células (Tachakittirungrod et al., 2007). A atividade antioxidante está comumente associada à quantidade de compostos fenólicos encontrados nas plantas (Magina et al., 2010). Espécies da família Myrtaceae tem a capacidade de acumular constituintes fenólicos (Takaoa; Imatomib; Gualtieria, 2015).

A exposição às radiações UV (ultravioleta) é capaz de ocasionar alterações cutâneas que estão relacionadas ao envelhecimento precoce, salientando-se que grande parte destas alterações é resultado da capacidade redutora das espécies reativas de oxigênio (EROs), que são extremamente danosas aos tecidos (Souza et al., 2013). Essas espécies atuam na redução da quantidade dos antioxidantes endógenos e começam a atacar carboidratos, lipídeos de membranas celulares, proteínas, e ácidos nucleicos, ocasionando a oxidação e alterando essas moléculas (Velasco et al., 2008).

O potencial antioxidante do extrato aquoso das folhas de *Eugenia dysenterica* foi determinado por Zorzin (2014) através dos métodos de redução do complexo fosfomolibdênio e DPPH, onde o mesmo mostrou ação antioxidante, através da redução do complexo fosfomolibdênio, com 0.56 mg/mL em equivalentes de BHT e do DPPH e IC₅₀ de 1.115 µg/mL. Estudos realizados por Siqueira et al. (2013) também determinaram que os frutos da citada planta possuem alta atividade antioxidante.

Thomaz et al. (2018) investigaram o potencial antioxidante e neuroprotetor dos extratos hidroalcoólico das folhas de *Eugenia dysenterica*, no córtex e no hipocampo de camundongos pelos ensaios de TBARS, superóxido dismutase e catalase. O extrato se mostrou tão eficaz na redução de espécies reativas de oxigênio, quanto a quercetina.

Daza et al. (2017) utilizaram o pó do extrato de *Eugenia dysenterica* associado a inulina ou goma arábica com a finalidade de melhorar a estabilidade dos compostos bioativos presentes nos extratos, e avaliaram a atividade antioxidante. Houve correlação significativa ($p < 0,05$) entre a capacidade antioxidante e o teor fenólico total.

Estudos *in vitro* realizados por Gonçalves; Lajolo; Genovese (2010) caracterizam os polifenóis presentes nos frutos de *Eugenia dysenterica* e determinaram a presença de quercetina, kaempferol, ácido elágico e elagitaninos, além de alto potencial antioxidante.

O total de compostos fenólicos do extrato etanólico dos frutos de *Eugenia stipitata* foi de $184,08 \pm 8,25$ mg GAE / g. A atividade sequestradora de radicais foi DPPH_{IC₅₀} $0,69 \pm 0,23$ µg/mL. Os testes também foram comparados a compostos de referência padrão como ácido ascórbico, ácido gálico, miricetina, quercetina e kaempferol, sendo o valor TAC-ORAC_{FL} de 371,98 µmol.TE / 100 g, conferindo uma boa atividade antioxidante (Neri-Numa et al., 2013). Genovese et al. (2008) avaliaram a composição fitoquímica e a capacidade antioxidante dos frutos dessa mesma planta, determinando uma grande quantidade de compostos fenólicos e flavonóides.

Franzon et al. (2018) elaboraram uma revisão que demonstrava o potencial antioxidante da espécie *Eugenia uniflora*, considerada um fruto exótico brasileiro e popularmente conhecida

como pitanga. A mesma é rica em compostos antioxidantes como ácido gálico e uma grande fonte de vitamina C, sendo o óleo e o extrato de folhas e frutos uma importante fonte de moléculas com promissoras atividades medicinais com atividade comprovada e que pode ser utilizada na indústria alimentícia, de fármacos e cosméticos (Franzon et al., 2004).

O extrato das folhas de *Eugenia punicifolia* (EP) foi estudado por Galeno (2014), o qual exibiu atividade no sequestrante ABTS, DPPH e O_2 ($IC_{50} = 10,5 \pm 1,2$, $28,84 \pm 0,54$ e $38,12 \pm 2,6 \mu g / mL$), respectivamente.

A atividade antioxidante dos extratos e frações de *Eugenia brasiliensis*, *Eugenia beaurepaireana* e *Eugenia umbeliflora* foi avaliada, juntamente com o seu conteúdo de fenólicos e flavonóides. Nos testes de avaliação da captação do radical livre DPPH e de avaliação do potencial redutor foi observada uma tendência ao aumento da atividade diretamente relacionada ao conteúdo de fenóis nos extratos e frações. Para o teste de inibição da peroxidação lipídica foram ativas as frações mais polares das folhas de *Eugenia beaurepaireana* (Magina et al., 2010).

Nicácio et al. (2017) avaliaram a atividade antioxidante e a presença de compostos fenólicos na casca, polpa e sementes de *Eugenia involucrata* e observaram atividade antioxidante em todas elas, na faixa de $36,68 \pm 1,44$ a $873,87 \pm 18,24 \mu mol TE/g$, sendo os maiores valores encontrados nas sementes e na casca, quando foram utilizados solventes de extração mais polares. Seis, cinco e três compostos fenólicos foram identificados e quantificados na polpa, casca e sementes, respectivamente, com a maior abundância de ácido p-cumárico ($14 \pm 2 mg/kg$) na polpa, quercetina ($47 \pm 5 mg/kg$) na casca e ácido gálico ($74 \pm 4 mg/kg$) nas sementes.

Gárgon et al. (2012) avaliaram o potencial antioxidante de *Eugenia stipitata*, encontrando um alto teor de carotenóides na casca ($2484 \pm 421 \mu g / 100 g FW$) e uma quantidade menor na polpa ($806 \pm 348 \mu g / 100 g FW$) com luteína, β -criptoxantina e zeinoxantina como principais componentes. A composição carotenóide deste fruto é única e pode diferenciá-lo de outros, sugerindo que o araçá seja uma boa fonte comestível de carotenóides importantes para a saúde.

5.3 Atividade fotoprotetora

O uso de fotoprotetores, é a abordagem cosmética mais comum contra os efeitos destrutivos da radiação UV, sendo comprovado que o uso adequado e regular dos mesmos reduz

o número de casos de queratose actínica e carcinoma de células escamosas, além de evitar o envelhecimento precoce da pele (Balogh, 2011).

Extratos e óleos de plantas têm sido utilizados na produção de cosméticos como filtros solares por apresentarem ação fotoprotetora, porém esses compostos precisam apresentar em sua composição moléculas com estruturas semelhantes às dos filtros sintéticos (Violante, 2009). Os flavonóides são polifenóis de ampla ocorrência no reino vegetal. A rutina, pertencente à classe dos flavonóis, é constantemente empregada como potente antioxidante, na prevenção e tratamento da insuficiência venosa ou linfática, da fragilidade ou permeabilidade capilar e na prevenção aos danos causados pela radiação ultravioleta (Velasco et al., 2008).

Em um estudo desenvolvido por Patwardhan e Bhatt (2015) onde foi avaliada a proteção contra raios UV-B promovida por extratos da espécie *Eugenia caryophyllata* sobre fibroblastos humanos, os resultados demonstraram que flavonóides presentes nessa espécie atuaram como fotoprotetores eficazes, inclusive revertendo a citotoxicidade induzida pelos raios UV-B.

Moreira et al. (2017) desenvolveram um novo cosmético à base do extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia dysenterica* (2,5-1000 µg / mL), considerado rico em polifenóis pela presença de taninos (ácido elágico) e flavonóides (quercetina e ácido gálico). Através de fibroblastos HFF-1, foi demonstrado que o extrato promoveu regeneração celular após exposição ultravioleta, bem como também levou à inibição de collagenase, elastase e enzimas tirosinase, que estão envolvidas em distúrbios dermatológicos. O cosmético foi classificado como não fototóxico e não causador de irritação ocular, além de não possuir potencial de sensibilização cutânea.

5.4 Atividade protetora contra úlcera

A maioria dos medicamentos comercializados para o tratamento da úlcera péptica produzem reações adversas, tais como: hipersensibilidade, arritmia, impotência, ginecomastia e alterações hematopoéticas (Chan; Leung, 2002). Dessa forma, torna-se necessário o desenvolvimento de agentes antiulcerosos que sejam menos tóxicos, como os fitoterápicos. Uma alternativa pesquisada são folhas de *Eugenia umbelliflora*, as quais exibem atividade gastroprotetora, através da inibição significativa da formação de úlcera em modelos animais, em decorrência da presença de triterpenos (Meyre-Silva et al., 2009).

O tratamento farmacológico para as úlceras gástricas não se baseia somente no bloqueio da secreção ácida, mas também no aumento dos fatores de proteção da mucosa, como a secreção de muco. Estudos *in vivo* realizados com extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia*

punicifolia (Kunth) indicaram aumento de quase duas vezes na quantidade de muco aderido à mucosa gástrica (Basting et al., 2014).

Prado et al. (2014) induziram lesões na mucosa gástrica de camundongos através de etanol/HCl e avaliaram a capacidade gastroprotetora do extrato aquoso das folhas de *Eugenia dysenterica*, bem como a adesão e o efeito da planta na secreção intestinal. Comprovou-se que os taninos presentes no extrato foram os responsáveis pela atividade protetora e a diminuição na produção de HCl gástrico observados.

A avaliação gastroprotetora através do extrato metanólico das folhas de *Eugenia involucrata* também foi realizada pelo modelo de úlcera induzida por etanol, o qual reduziu significativamente a área total danificada, através de tratamentos com doses de 125 e 250 mg/kg, sendo a dose de 125 mg / kg a mais efetiva (Vechi et al., 2018).

O estudo de Périco et al. (2019) revela a ação cicatrizante de úlcera do extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia punicifolia* contra agentes ofensivos como os anti-inflamatórios não esteroidais e o álcool. Este efeito é modulado por hormônios sexuais femininos e mediado por uma diminuição de infiltração neutrofílica e da peroxidação lipídica, bem como o aumento dos índices de glutathione na mucosa gástrica.

5.5 Atividade hepatoprotetora

As doenças hepáticas consistem em um grave problema de saúde, dessa forma, produtos naturais são popularmente utilizados como agentes protetores. Estudos pré-clínicos com cultura primária de hepatócitos de ratos mostraram que o extrato da polpa de *Eugenia jambolana* rica em antocianinas (230 mg /100 g de peso seco) foi eficaz na prevenção do dano hepático causado pelo tetracloreto de carbono. O tratamento de hepatócitos com o extrato (50–500 ppm) suprimiu o tetracloreto de carbono, bem como diminuiu a peroxidação lipídica (Pai et al., 2013; Veigas et al., 2008).

O extrato etanólico de *Eugenia jambolana* exibiu uma ação protetora contra o dano hepático induzido por paracetamol, eliminando radicais livres e prevenindo danos celulares mediados pelo estresse oxidativo (Das; Sarma, 2009).

Donado-Pestana et al. (2015) avaliaram os efeitos da administração de extratos ricos em compostos fenólicos obtidos a partir da polpa dos frutos de *Eugenia dysenterica* em camundongos com dieta rica em sacarose e gordura. O nível de triglicerídeos no fígado foi um dos parâmetros avaliados e os resultados demonstraram que os extratos reduziram o acúmulo dos mesmos. Considerando que o nível elevado de triglicerídeos no fígado está relacionado a

esteatose hepática, os autores concluíram que os compostos fenólicos presentes nos extratos de *Eugenia dysenterica* podem desempenhar um papel importante na prevenção da obesidade e suas complicações metabólicas associadas, incluindo patologias hepáticas.

Donado-Pestana et al. (2018b) também avaliaram os efeitos da administração de extratos ricos em polifenóis obtidos a partir da polpa dos frutos de *Eugenia dysenterica* em camundongos obesos. Os resultados demonstraram que os extratos reduziram a inflamação e a gliconeogênese hepática, além de proteger contra dislipidemia, hiperglicemia em jejum e intolerância à glicose. Os autores sugeriram que a homeostase da glicose foi aprimorada através de uma redução na inflamação hepática.

Lima et al. (2017) investigaram os efeitos da administração crônica do extrato hidroalcoólico bruto (CHE) e extrato bruto de acetona (CAE) obtidos das folhas de *Eugenia brasiliensis* sobre a hipertrigliceridemia e o estresse oxidativo causado pela administração crônica de óleo de coco. Ratos receberam CHE ou CAE (50,100 ou 150 mg / kg, oralmente) por 30 dias, mais óleo de coco (2 mL, por via oral). A administração crônica dos extratos foi capaz de prevenir a hipertrigliceridemia e reduzir as gotículas lipídicas nos hepatócitos, sugerindo que ambos os extratos podem ter efeitos hipolipemiantes e antioxidantes.

5.6 Atividade anti-inflamatória

A inflamação é a reação fisiológica do organismo contra o dano tecidual causado por estímulos mecânicos, químicos ou agentes infecciosos, sendo caracterizada por dor, rubor, calor e inchaço. Estas são características de muitas doenças agudas e crônicas (Ehlers; Kaufmann, 2010).

O extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia punicifolia* tem significativo efeito anti-nociceptivo que envolve sistemas glutamatérgicos relacionados com a liberação ou inibição da síntese do óxido nítrico e um efeito anti-inflamatório devido à inibição da fosforilação de p^{38α} MAPK (Basting et al., 2014). O tratamento com o extrato da fração diclorometânica de *Eugenia punicifolia* diminuiu a produção de mediadores inflamatórios, reduziu a apoptose e contribuiu para a eficiente regeneração da lesão muscular em camundongos distróficos, sem indução de fibrose (Leite et al., 2010).

Os extratos das folhas de *Eugenia aurata* (EA) e *Eugenia punicifolia* (EP) foram estudados por Costa et al. (2016) que investigaram a atividade anti-inflamatória dos mesmos, determinando que ambos inibem a liberação de NET (proteínas liberadas de grânulos secundários / primários de neutrófilos que podem estar associadas com DNA e enzimas

oxidativas), mas apenas EA reduz a adesão celular, enquanto EP diminui a secreção de elastase. Juntos esses extratos reduzem a resposta inflamatória, podendo ser utilizado no desenvolvimento de fitomedicamentos.

As atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial de *Eugenia candolleana* DC. (Myrtaceae) foram testados por diferentes métodos: analgesia, através do teste de contorção por ácido acético, induzida por formalina, modelo de lambida de pata e teste de placa quente, além da indução de peritonite em roedores. Após os testes, os resultados indicaram que este óleo possui propriedades antinociceptivas e anti-inflamatórias, possivelmente mediadas pela via de inibição da síntese de prostaglandina ou outra via periférica (Guimarães et al., 2009).

Silva et al. (2019) evidenciaram a ação anti-inflamatória do óleo essencial de *Eugenia dysenterica* em ensaios *in vitro*. Observou-se que as células de macrófagos murinos RAW 264.7 estimulados por LPS, quando tratadas com o óleo essencial, reduziam a produção de óxido nítrico, mostrando-se superior quando correlacionado com o controle positivo dexametasona.

As sementes, folhas e polpa de *Eugenia brasiliensis* mostraram atividade anti-inflamatória promissora, reduzindo quase 50% do fluxo de neutrófilos para o sítio inflamatório (Infante et al., 2016). A presença predominante de polifenóis, principalmente antocianina, no extrato da polpa de *Eugenia brasiliensis* pode ser responsável por sua atividade anti-inflamatória, reduzindo a ativação do NF- κ B, a liberação de TNF- α e, conseqüentemente, reduzindo o fluxo de neutrófilos, além de apresentar efeito anti-edematogênico (Lazarini et al., 2018).

De acordo com os estudos de Simões et al. (2018), o tratamento agudo e repetido de animais com extrato hidroalcoólico de *Eugenia brasiliensis* (HEEB) (100 mg / kg, i.g.) reduziu acentuadamente a hipersensibilidade mecânica e térmica (calor), além de diminuir o edema da pata e a temperatura. Além disso, o tratamento repetido com HEEB (100 mg / kg, i.g.) reduziu significativamente os níveis de IL-6 e TNF- α na pata. Logo, o HEEB apresenta efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios na dor inflamatória visceral e somática em ratos, possivelmente envolvendo a inibição dos receptores de histamina e vias ativadas por citocinas inflamatórias.

As plantas *Eugenia malaccensis* e *Eugenia uniflora* são ricas em compostos antioxidantes, característica que pode ajudar a reduzir a resposta inflamatória, através de diferentes vias de sinalização que podem ser ativadas *in vivo*. As espécies não modificaram o perfil de citocinas pró-inflamatórias e a liberação de óxido nítrico (Figueirôa et al., 2013). Em um outro estudo, foi comprovado que o extrato bruto e as frações aquosa e de acetato de etila

das folhas de *Eugenia uniflora* exibiram atividades anti-inflamatória e analgésica (Falcão et al., 2018).

5.7 Atividade anti-artrítica

Processos inflamatórios estão relacionados a diversas patologias, tais como contusões, infecções respiratórias, tendinites, asma e doenças autoimunes. Apresentam-se como mecanismos de defesa do organismo, cujo objetivo é a eliminação da causa inicial da lesão celular, provocada por patógenos ou por ação de agentes físicos (Cotran et al., 2000). A artrite reumatóide (AR) é uma doença auto-imune, caracterizada por poliartrite periférica, simétrica, que deforma e destrói as articulações por meio de erosões nos ossos e nas cartilagens. Afeta mais mulheres (duas a três vezes mais) do que homens, e sua prevalência aumenta com a idade (Bértolo et al., 2007).

Metabólitos como saponinas, flavonóides, esteróides, taninos e alcalóides, presentes no extrato das sementes de *Eugenia jambolana*, contribuem para o seu efeito anti-artrítico, devido a inibição do edema articular e a regulação do conteúdo de IL-1 β e TNF- α , em ratos artríticos (Shukla, 2008; Hirano et al., 2006).

A espécie *Eugenia caryophyllata* possui atividade anti-artrítica comprovada (Joshi et al., 2011; Arya et al., 2011). O seu óleo essencial é composto por β -cariofileno (44.7%), eugenol (44.2%), α -humuleno (3.5%), acetato de eugenila (1.3%) e α -copaeno (1.0%) (Öztürk; Özbek, 2005). Estudos com o eugenol demonstraram o seu potencial no tratamento de artrite induzida em ratos pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis bacilli* (Sharma et al., 1994). Estudos realizados por Slowing; Carretero; Villar, (1994) relatam a atividade anti-artrítica de extratos das folhas da espécie *Eugenia jambolana*, que possui uso tradicional como digestiva e anti-inflamatória. Relatos na literatura também apontam o uso tradicional das espécies *Eugenia brasiliensis* Lamarck e *Eugenia umbeliflora* no tratamento da artrite (Revilla, 2002; Benfatti, 2010).

5.8 Atividades analgésica e antipirética

A ação analgésica do gênero *Eugenia* foi evidenciada por Khalilzadeh; Hazrati; Saiah, (2016) em estudos com *Eugenia caryophyllata* que demonstrou a capacidade do óleo essencial de proporcionar analgesia e ação anestésica em experimentos com ratos na região da córnea e corrobora o uso popular desta espécie para o tratamento da dor. A espécie já é conhecida

popularmente por diversas atividades biológicas, pois o uso de óleo essencial e extratos com ação analgésica é embasado pelo registro das comunidades e estudos que precisam ser reforçados, porém que já indicam segurança no uso (Park et al., 2011; Lionnet et al., 2010).

A atividade antipirética é determinada pela capacidade em reduzir ou controlar a temperatura corporal. O óleo extraído de *Eugenia caryophyllus* (trevo) foi estudado de acordo com suas propriedades anti-inflamatórias e anti-pirética, reduzindo a temperatura corporal em cães submetidos a cirurgias e, portanto, lesões teciduais. O citado óleo reduziu o número de células presentes no processo de inflamação detectadas por técnicas de histologia, causando uma notável diminuição de neutrófilos e leucócitos (Nikoui et al., 2017).

Vechi et al. (2018) pesquisaram extratos brutos obtidos de solventes de polaridades diferentes, provenientes de *Eugenia involucrata* e administrado por via oral em ratos, os quais diminuiram consideravelmente a dor causada por lesões em tecido gástrico e proporcionaram uma analgesia de até 65% em alguns indivíduos. Os resultados obtidos corroboram com os resultados observados em *Eugenia fruticosa* (Shams-Ud-Doha et al. 2012) e *Eugenia punicifolia* (Basting et al. 2014), espécies ricas em terpenos que podem ter mecanismos de ação variados.

Estudos envolvendo extratos brutos de *Eugenia florida* relacionam a atividade antioxidante da espécie à ação citotóxica e inibição da proliferação de células cancerígenas, bem como a caracterização fitoquímica dessa espécie corrobora os dados da literatura, que apontam metabólitos secundários relacionados à melhora do processo da inflamação por consequência analgésica e indiretamente anti-pirética, assim como ação antioxidante relacionada à presença de flavonóides e compostos fenólicos (SANTOS et al., 2018a).

5.9 Atividade cicatrizante

O processo de cicatrização de ferimentos ocorre a partir de uma cascata de eventos celulares e moleculares complexos que envolvem a organização de células, sinais químicos e matriz extracelular com o objetivo de reparar o tecido com o qual interagem, promovendo a sua repavimentação e reconstituição (Mandelbaum, 2003). A utilização de plantas nos processos cicatrizantes é bastante comum, tendo em vista que elas são mais eficientes nesses processos, pois promovem os mecanismos de reparo de maneira natural. O tratamento a partir das plantas não só acelera o processo de cura como também mantém a boa aparência estética da pele (Kumarasamyraja; Jeganathan; Manavalan, 2012).

O óleo essencial de *Eugenia dysenterica* tem se mostrado eficaz em ensaios de cicatrização *in vitro* com células L929 (fibroblastos), contribuindo para a cura total do ferimento após um período de 12 horas, demonstrando um grande potencial cicatrizante quando comparado ao grupo controle, o qual levou um período de 24 horas até a cura total. Além disso, o óleo essencial *Eugenia dysenterica* mostrou-se seguro no ensaio *in vivo* da membrana corioalantóica do ovo de galinha, podendo ser uma alternativa para tratamentos de lesões de pele (Silva et al., 2019).

Estudos realizados por Albuquerque et al. (2016) evidenciaram a atividade cicatrizante da *Eugenia pruniformis* Cambess na cura de ferimentos induzidos em ratos, especificamente da fração obtida a partir do extrato hidroalcoólico de suas folhas, utilizando acetato de etila. A análise histológica demonstrou que os grupos tratados com a fração acetato de etila apresentaram um maior índice de reorganização e regeneração epitelial.

Uma lectina isolada da *Eugenia malaccensis* apresentou atividade cicatrizante sobre uma lesão, melhorando a fase de edema em ratos, iniciando o processo de cura ainda no primeiro dia em 33,3% dos indivíduos tratados (Brustein et al., 2012).

Em relação a feridas na mucosa gástrica, extratos das folhas de *Eugenia punicifolia* e do extrato das sementes de *Eugenia jambolana* apresentaram ação protetiva e regenerativa desse tipo de tecido, com ação comprovada por estudos realizados com ratos (Chatuverdi, 2009; Basting, 2014)

5.10 Atividade antidiabética

Os metabólitos secundários presentes nos fitoterápicos favorecem o uso dessas plantas na terapêutica, incluindo o *Diabetes mellitus*. A utilização das mesmas para o tratamento de diabetes, especialmente em países em desenvolvimento é promissora, em virtude do alto custo dos medicamentos disponíveis no mercado e do baixo poder aquisitivo da população (Singh et al., 2013).

Os frutos das mirtáceas nativas brasileiras são uma fonte de polifenóis que ajudam a diminuir o risco de doenças crônicas ligadas à obesidade. Frutos de *Eugenia dysenterica* (cagaita) apresentam uma grande variedade de polifenóis (taninos), os quais possuem atividade regulatória e mantém os níveis de glicose normais, bem como atenuam as dislipidemias e protegem contra inflamação, estresse oxidativo e obesidade (Donado-Pestana et al., 2018a).

Bastos et al. (2019) prepararam o extrato etanólico das folhas de *Eugenia florida* e testaram o seu efeito antidiabético em ratos. Durante a avaliação dos parâmetros bioquímicos

de ratos diabéticos tratados com o extrato, houve decréscimo significativo nos níveis séricos de glicose, frutossamina e triglicerídeos (38,0%, 31,0% e 19,7%, respectivamente), bem como um aumento no colesterol HDL (10,3%). A administração do extrato não teve atividade significativa na função renal, enzimas AST e ALT e em outros parâmetros do perfil lipídico.

Xu e colaboradores (2018) constataram que o extrato do fruto de *Eugenia jambolana* enriquecido com triterpenóide, apresenta efeitos benéficos na homeostase da glicose em camundongos não diabéticos. Os efeitos antidiabéticos do referido extrato (100 mg/kg por gavagem oral por dez dias) foram avaliados em camundongos diabéticos tipo 1 induzidos por estreptozotocina, o qual atenuou significativamente a hiperglicemia induzida e a intolerância à glicose, suprimiu a elevação anormal da gliconeogênese hepática e melhorou a dislipidemia nos camundongos, além da preservação da arquitetura e a função das ilhotas pancreáticas.

Os resultados de Brunetti et al. (2006) indicam que os extratos metanólicos das folhas de *Eugenia punicifolia* foram satisfatórios para o tratamento do diabetes, melhorando o metabolismo de carboidratos e proteínas, sem provocar efeitos tóxicos a nível hepatobiliar, microvascular, muscular ou pancreático.

Sales et al. (2014) investigaram a eficácia das folhas secas em pó de *Eugenia punicifolia* como adjuvante no tratamento de pacientes com DM tipo 2. Após três meses de tratamento foi observada uma diminuição significativa na hemoglobina glicosilada, insulina basal, hormônio estimulante da tireoide, proteína C-reativa e pressão arterial sistólica e diastólica, indicando que esse produto natural é promissor para o tratamento de diabéticos.

Sobeh et al. (2019) avaliaram uma potencial atividade antidiabética do extrato das folhas de *Eugenia uniflora* em ratos, apresentando redução acentuada dos níveis séricos elevados de glicose e peroxidação lipídica e elevando a concentração de insulina no soro com maior potência que o controle positivo, a droga glibenclamida.

5.11 Atividade antimicrobiana

Algumas espécies de *Eugenia* da Caatinga foram investigadas por suas propriedades antibacterianas e antifúngicas (Tabela 3). Para a análise dos resultados foram considerados os valores da concentração inibitória mínima (CIM), como potencial com boa inibição (menor que 100 µg/mL), potencial inibitório moderado (entre 100 e 500 µg/mL), fraco potencial inibitório (entre 500 e 1000 µg/mL) e ausência de potencial inibitório (acima de 1000 µg/mL) (Souza et al., 2014).

Tabela 3: Atividade antimicrobiana das espécies de *Eugenia* da Caatinga

Espécie	Parte da planta	Extração	MIC/Antibiótico	Microrganismos /MIC/Difusão em disco	Referências
<i>E. brasiliensis</i>	Frutos	Extrato metanólico	Microdiluição em caldo; clorexidina, ciprofloxacina, vancomicina, ceftriaxona	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)= 2,5 µg/mL; <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591 (MRSA)= 250 µg/mL; <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 700610 = 250 µg/mL; <i>Escherichia coli</i> ATCC 43895 >2000 µg/mL; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 = 250 µg/mL; <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356 = 62,5 µg/mL	Lazarini et al., (2018)
	Folhas	Óleo essencial	Microdiluição em caldo	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> = 500 µg/mL (coleta no outono e inverno) <i>Staphylococcus saprophyticus</i> = 1000 µg/mL (coleta no verão e primavera) <i>Staphylococcus aureus</i> = não houve inibição; <i>Escherichia coli</i> = 1000 µg/mL <i>Pseudomonas aeruginosa</i> = 500 µg/mL (coleta no outono) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> = 1000 µg/mL (coleta no inverno)	Siebert et al., (2014)
	Folhas	Extrato metanólico	Microdiluição em caldo clorafenicol	<i>Bacillus subtilis</i> (UFPEDA82) = 25 mg/mL; <i>Staphylococcus aureus</i> (UFPEDA02) = 6,25 mg/mL; <i>Escherichia coli</i> (UFPEDA224) = 25 mg/mL; <i>Klebsiella</i>	Azevedo et al., (2012)

<i>pneumoniae</i> (UFPEDA396) = 25 mg/mL; <i>Salmonella enteritidis</i> (UFPEDA414) > 50 mg/mL; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFPEDA416)= 12,5 mg/mL.					
<i>E. brejoensis</i>	Folhas	Óleo essencial	Difusão em ágar/ clorafenicol	Nanoemulsão 1% obtida a 8 rpm contra <i>Pseudomonas fluorescens</i> (ATCC 13525) = 15 ± 4mm Nanoemulsão 1% obtida a 12 rpm contra <i>Pseudomonas fluorescens</i> (ATCC 13525) = 5 ± 1 mm	Mendes et al., (2018)
<i>E. calycina</i> Cambess.	Folhas	Óleo essencial	Microdiluição em caldo / clorexidina	<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) >400 µg/mL; <i>Streptococcus mitis</i> (ATCC 49456) = 400 µg/mL; <i>Streptococcus sanguinis</i> (ATCC 10556) = 400 µg/mL; <i>Streptococcus sobrinus</i> (ATCC 33478) > 400 µg/mL; <i>Prevotella nigrescens</i> (ATCC 33563) = 100 µg/mL; <i>Porphyromonas gingivalis</i> (ATCC33277) = 100 µg/mL; <i>Actinomyces naeslundii</i> (ATCC 19039) > 400 µg/mL; <i>Bacteroides fragilis</i> (ATCC 25285) > 400 µg/mL	Sousa et al., (2015)

Mycoplasma mycoides subsp. *capri* (NCTC 10137) > 1000 µg/mL;
Mycoplasma genitalium (ATCC 33530) > 1000 µg/mL;
Ureaplasma urealyticum (ATCC 27618) > 1000 µg/mL

E. uniflora	Folhas	Extrato bruto	Microdiluição em caldo cefalotina gentamicina vancomicina	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 = 1.250; <i>Staphylococcus epidermidis</i> INCQS 00016 = 0.313; <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 = 1.250; <i>Salmonella enteritidis</i> INCQS 00258 = 1.250; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 = 1.250;	Falcão et al., (2018)
			Microdiluição em caldo Fluconazol	<i>Candida albicans</i> INCQS 40006 = 125 µg/mL, <i>Candida tropicalis</i> INCQS 40042 = 31,2 µg/mL,	Santos et al., (2018b)
		Óleo essencial	Microdiluição em caldo sulfadiazina	<i>Candida albicans</i> (isolado clínico) = 208,3 µg/mL <i>Candida parapsilosis</i> (isolado clínico) = 208,3 µg/mL <i>Candida guilhermondii</i> (isolado clínico) = 109,4 µg/mL <i>Candida globosa</i> (isolado clínico) = 187,5 µg/mL <i>Candida lipolytica</i> (isolado clínico) = 93,7 µg/mL <i>Candida laurentii</i> (isolado clínico) = 208,3 µg/mL <i>Trichosporon asahii</i> (isolado clínico) = 312,5 µg/mL	Victoria et al., (2012)
E. pyriformis Cambess.	Folhas	Extrato etanólico	Microdiluição em caldo	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 = 125 µg/mL <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 = 125 µg/mL	Souza et al., (2014)

Escherichia coli ATCC 25922 = 1000 µg/mL

Klebsiella pneumoniae ATCC 700603 = 1000 µg/mL

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 = 1000 µg/mL

Candida albicans ATCC 40175 = 31,25 µg/mL

Candida crusei ATCC 40174 = 7,81 µg/mL

Candida parapsilosis ATCC 40038 = 15,62 µg/mL

<i>E. klotzschiana</i> Berg	Folhas	Óleo essencial	Microdiluição em caldo/ Clorexidina	<i>Streptococcus salivarius</i> (ATCC 25975) = 200 µg/mL, <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) = 50µg/mL, <i>Streptococcus mitis</i> (ATCC 49452) = 200 µg/mL, <i>Streptococcus sanguinis</i> (ATCC 10556) = 400 µg/mL, <i>Streptococcus sobrinus</i> (ATCC 33478) = 400 µg/mL, <i>Prevotella nigrescens</i> (ATCC 33563) = 50 µg/mL.	Carneiro et al., (2017a)
<i>E. myrcianthes</i>	Frutos	Extrato etanólico	Microdiluição em caldo	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028 >2000 µg/mL	Sardi et al., (2017)
<i>E. umbelliflora</i>	Folhas	Extrato bruto	Microdiluição em caldo/ vancomicina	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 14579) = 30 µg/mL, <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538P) = 50 µg/mL, <i>Staphylococcus saprophyticus</i> (ATCC 35552) = 50 µg/mL, <i>Streptococcus agalactiae</i> (ATCC 13813) = 20 µg/mL.	Machado et al., (2005)

<i>E. stipitata</i> McVaugh	Folhas	Óleo essencial	Difusão em agar/ Tetraciclina	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7973 = 12 mm <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 = 14 mm <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 = 11 mm	Medeiros et al., (2003)
--------------------------------	--------	-------------------	-------------------------------------	--	-------------------------

Dentre as *Eugenia* spp. encontradas no Bioma Caatinga, as mais citadas na literatura são *Eugenia dysenterica* e *Eugenia brejoensis*. O óleo essencial das folhas de *E. dysenterica* em concentrações até 1000 mg/ml não obteve atividade antifúngica contra cepas de *Candida*. Enquanto o mesmo óleo foi ativo contra espécies de *Cryptococcus neoformans*, em concentrações inferiores a 500 µg/ml (Costa et al., 2000). De acordo com Nader (2010), os extratos de *E. dysenterica* DC. também não possuem atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

Daza et al. (2017) avaliaram a atividade antimicrobiana dos frutos pulverizados de *Eugenia dysenterica* associados a diferentes concentrações de inulina e goma arábica contra *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. Todas as amostras associadas a goma arábica como veículo mostraram inibição de *S. aureus* e *L. monocytogenes*, enquanto apenas as amostras com 10 e 20% de inulina foram potencialmente ativas. O valor mais baixo de MIC foi mostrado no pó obtido com 10% de goma arábica, para os dois microrganismos.

Cecílio et al. (2012) pesquisaram a atividade do extrato das folhas de *Eugenia dysenterica* contra o rotavírus e através de análise RT-PCR não detectou amplificação do material genético do vírus. A concentração máxima não tóxica variou de 50 a 500 µg/mL e observou-se toxicidade na concentração de 5000 µg/mL. Taninos, flavonóides, saponinas e terpenos foram as principais classes de produtos naturais encontradas.

Um estudo realizado por Trentin et al. (2014) avaliou o potencial do extrato de *Eugenia brejoensis* como inibidor de biofilme produzido por *Pseudomonas aeruginosa*., o qual não apresentou atividade expressiva. Enquanto o óleo de *Eugenia caryophyllata* exibiu atividade antimicrobiana frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (Nuñez; Aquino, 2012), bem como apresenta atividade antifúngica contra 53 fungos patogênicos (Chaieb et al., 2007a).

5.12 Atividade antiparasitária

Várias doenças causadas por protozoários, como a doença de chagas (*Trypanosoma cruzi*), amebíase (*Entamoeba histolytica*), leishmaniose (*Leishmania* sp.), giardíase (*Giardia lamblia*), tricomoniase (*Trichomonas vaginalis*) e malária (*Plasmodium* sp.) tornaram-se graves problemas de saúde pública. Além disso, as drogas antiprotozoárias disponíveis apresentam desvantagens como: efeitos colaterais, necessidade de uso prolongado e resistência a certas espécies (Sauter et al., 2012).

Os óleos essenciais extraídos de algumas espécies de *Eugenia* apresentam atividade antiparasitária comprovada (Santos et al., 2012). Os constituintes terpênicos auxiliam na difusão dos óleos essenciais através da membrana celular parasitária, pois conferem caráter hidrofóbico, modificando as rotas metabólicas e as organelas intracelulares (Raut; Karuppayil, 2014). Os OEs ao interagirem com a membrana dos parasitas provocam danos fisiológicos que promovem a perda da permeabilidade dessa organela e culminam com a morte celular (Bakkali et al., 2008; Knobloch et al., 1989).

O óleo essencial das flores frescas de *Eugenia klotzschiana*, cujos componentes majoritários são os sesquiterpenos β -cariofileno (21,1%), espatulenol (20,9%) e biciclogermacreno (10,2%), apresentou atividade frente às formas tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi*, que obteve satisfatória atividade tripanocida em comparação com o controle positivo, o benzonidazol (Carneiro et al., 2017b). As espécies *Eugenia jambolana* e *Eugenia uniflora* demonstraram uma ampla variedade de compostos flavonóides associados à atividade antiparasitária contra promastigotas de *Leishmania sp.* e epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* (Souza et al., 2017b).

Uma outra espécie também tem se destacado, *Eugenia brejoensis* é uma planta típica da Caatinga brasileira e o óleo essencial das suas folhas tem apresentado excelentes resultados no campo de atividades biológicas. Souza et al. (2017a) relatam que um óleo essencial dessa espécie é composto por 94,51% de sesquiterpenos, cujos componentes majoritários são δ -cadineno (15,88%), trans-cariofileno (9,77%) e α -muurolol (9,42%). O óleo de *Eugenia brejoensis* inibiu as formas epimastigotas, tripomastigotas e amastigotas de *Trypanosoma cruzi* e foi o mais efetivo, quando comparado com os óleos essenciais de outras espécies da Caatinga, entre elas *Hyptis pectinata*, *Hypenia salzmännii*, *Lippia macrophylla* e *Syagrus coronata*.

O componente majoritário δ -cadineno apresenta atividade tripanocida comprovada (Costa et al., 2013), enquanto o segundo composto mais abundante, trans-cariofileno também possui propriedades antileishmania e antimalárica contra *Leishmania amazonensis* e *Plasmodium falciparum*, respectivamente (Souza et al., 2016).

Sampaio et al. (2019) estudaram o óleo essencial extraído das folhas de *Eugenia gracillima*, coletada no estado de Pernambuco, cujos componentes majoritários são germacreno D (16,10%), γ -muuroleno (15,60%), biciclogermacreno (8,53%), germacreno B (7,43%) e Δ elemeno (6,06%), o qual inibiu as formas promastigotas de *Leishmania braziliensis* e *Leishmania infantum*.

A espécie *Eugenia pitanga*, popularmente conhecida como pitanga do campo e utilizada contra a diarreia, apresentou atividade frente às formas promastigotas de *Leishmania*

amazonensis, com alta concentração de sesquiterpenos oxigenados, cujos constituintes principais identificados foram o espatulenol, globulol e (2E,6E) farnesoato de metila. A abundância de sesquiterpenos pode justificar a diferença na atividade antileishmanicida observada entre os óleos essenciais de diferentes espécies de *Eugenia*, um exemplo é a atividade reduzida encontrada na *Eugenia jambolana*, espécie com predominância de monoterpenos (Kauffmann et al., 2017).

O extrato etanólico de *Eugenia uniflora* apresentou um relevante potencial leishmanicida, pois inibiu 65% do crescimento de *Leishmania brasiliensis*, testada a uma concentração de 100 µg/mL (Santos et al., 2013).

A atividade acaricida do óleo essencial de *Eugenia caryophyllata* foi avaliada in vitro e in vivo contra o ácaro *Psoroptes cuniculi* apresentando boa atividade, sendo o eugenol o composto majoritário (59,3%), possivelmente responsável pela atividade acaricida (Fichi et al., 2007). O estudo realizado por Chaieb et al., (2007b) encontrou humulenol e eugenol como compostos principais e determinou que o óleo de *Eugenia caryophyllata* possui ação antiparasitária, contra *Pediculus capitis* (piolho) (Yang et al., 2003).

A atividade acaricida dos óleos extraídos das folhas de *Eugenia lutescens* Cambess e *Eugenia langsdorffii* O. Berg, coletadas no período chuvoso e na estação mais seca foram avaliadas contra *Tetranychus urticae*, sendo encontrados α -pineno e β -pineno como componentes majoritários do óleo de *Eugenia lutescens*, enquanto biciclogermacreno, espatulenol e β -cariofileno predominaram em *Eugenia langsdorffii*. Entre os óleos testados, o de *Eugenia langsdorffii* coletado em alta temperatura e baixa umidade relativa do ar apresentou uma melhor propriedade acaricida. Entretanto, ambos os óleos coletados em baixa temperatura e alta umidade relativa reduziram drasticamente o número de ovos de ácaro (Ribeiro et al., 2016).

O extrato de *Eugenia uniflora* reduziu a quantidade de larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos, especialmente *H. contortus* e *Trichostrongylus* sp. presentes em fezes ovinas (Hassum et al., 2013). Além disso, a atividade tricomonocida do extrato metanólico de folhas *Eugenia uniflora* foi superior ou comparável à do metronidazol, sendo o uso popular da planta como agente antiparasitário confirmado como seguro, podendo a mesma ser utilizada na etnomedicina (Ibinkule et al., 2011). As cascas do tronco dessa planta, preparadas através de decocção com fervura foram testadas contra o protozoário intestinal patogênico *Giardia lamblia*, apresentando atividade com CIM de 0,313 mg/ml (Brandelli et al., 2009).

5.13 Atividade inseticida e moluscicida

De acordo com o estudo realizado por Silva et al. (2015a), os compostos identificados no óleo essencial extraído das folhas de *Eugenia brejoensis* foram constituídos principalmente de sesquiterpenos (62,7%) e sesquiterpenos oxigenados (26,6%). Os principais constituintes foram δ -cadineno (22,6%), β -cariofileno (14,4%), α -muurolol (9,34%), α -cadinol (8,49%) e biciclogermacreno (7,93%). Esse óleo exibiu atividade moderada contra as larvas do quarto estágio de *Aedes aegypti*, cuja mortalidade foi observada com soluções contendo mais de 100 ppm de óleo. As concentrações necessárias para matar 50% das larvas do mosquito variaram entre 160 e 280 ppm, obtendo-se um valor médio de CL50 de $214,7 \pm 12,3$ ppm.

Eugenia candolleana D.C. (murtinha, murta, ameixa-da-mata, cereja-roxa), apresenta óleo essencial rico em sesquiterpenos, prevalecendo o β -elemeno ($35,87 \pm 0,13\%$) como componente majoritário. Com a realização de experimentos para testar a atividade larvicida, obteve-se 100% de mortalidade das larvas do *A. aegypti* em 24 horas, após o tratamento com o óleo na concentração de $0,50 \mu\text{g}/\mu\text{L}^{-1}$ sendo a CL50 estimada em $0,30 \mu\text{g}/\mu\text{L}^{-1}$ (Neves et al., 2017).

O óleo essencial de *Eugenia piauiensis*, cujos compostos majoritários são os sesquiterpenos hidrocarbonetos apresentou atividade contra as larvas de *A. aegypti*, com a concentração letal (CL50) variando de 230 a 292 mg/L, após 24 horas de exposição (Dias et al., 2015).

Bezerra et al. (2002) testaram a atividade moluscicida do extrato etanólico das folhas e da casca de *Eugenia dysenterica* contra o caramujo *Biomphalaria glabrata*, através da submersão de caramujos em solução. Em seguida constatou-se que o extrato obtido da casca não apresentou mortalidade depois de 48 horas, enquanto o extrato obtido das folhas mostrou uma mortalidade de 100% à concentração de 100 ppm e de 10% na concentração de 50 ppm. Esta atividade é explicada pela ação dos taninos condensados e flavonóides presentes no extrato.

Oliveira et al. (2006) avaliaram o potencial moluscicida e larvicida do extrato etanólico das folhas e cascas do caule de *Eugenia malaccensis* coletadas no Estado de Alagoas, Brasil, testando-as contra caramujos *Biomphalaria glabrata*, e frente às larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Os extratos etanólicos da casca do caule e das folhas foram inativos frente às larvas de *Aedes aegypti* na concentração de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, porém, ativos contra *Biomphalaria glabrata* (CL50 = 42,53 e 41,90 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente).

6 Conclusão

Os estudos realizados evidenciam a importância das espécies de *Eugenia* obtidas do bioma Caatinga. Dentre as diversas potenciais atividades biológicas, este manuscrito abordou: antidiabética, moluscicida, antimicrobiana, antiparasitária, fotoprotetora, inseticida, analgésica, antipirética, antiartrítica, cicatrizante, anti-inflamatória, hepatoprotetora, farmacológica, antioxidante, gastroprotetora. Assim, tornam-se necessários mais investimentos em pesquisas que investiguem espécies vegetais e permitam a descoberta de novas propriedades, além de intensificar o estudo das plantas já descobertas, visando o seu uso de forma segura.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse a respeito da publicação desse artigo.

Referências

- Albuquerque, R. D. D. G.; Perini, J. A.; Machado, D. E.; Angeli-Gamba, T.; Esteves, R. S.; Santos, M. G.; Oliveira, A. P.; Rocha, L. Wound Healing Activity and Chemical Standardization of *Eugenia pruniformis* Cambess. *Pharmacogn Mag.* 2016 Oct-Dec; 12(48): 288–294.
- Albuquerque, U. P.; Araújo E. L.; El-deir, A. C. A.; Lima, A. L. A.; Souto, A.; Bezerra, B. M.; Ferraz, E. M. N.; Freire, E. M. X.; Sampaio, E. V. S. B. S.; Lascasas, F. M. G.; Moura, G. J. B.; Pereira, G. A.; Melo, J. G.; Ramos, M. A.; Rodal, M. J. N.; Schiel, N.; Lyra-Neves, R. M.; Alves, R. R. N.; Azevedo-Júnior, S. M.; Telino Júnior, W. R.; Severi, W. Caatinga revisited: ecology and conservation of an important seasonal dry forest. *Scientific World Journal*, 2012 :205182, doi: 10.1100/2012/205182.
- Apel, M. A., Sobral, M., Schapoval, E. E., Henriques, A. T., Menut, C., Bessiere, J. M. (2004). Essential oil composition of *Eugenia florida* and *Eugenia mansoi*. *Journal of Essential Oil Research*. 2004; 16(4): 321-322.
- Arya, V.; Gupta, V. K.; Kaur, R. A review on plants having anti-arthritic potential. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Volume 7, Issue 2, March – April 2011.
- Auricchio, M. T., Bacchi, E. M., *Eugenia uniflora* L. “brazilian cherry” leaves: pharmacobotanical, chemical and pharmacological properties. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. 2003; 62, 55–61.
- Azevedo, P. R.; Silva, L. C. N.; Silva, A.G.; Macedo, A. J.; Araújo, J. M.; Silva, M. V. Antimicrobial activity and phytochemical screening of branches, fruits and leaves of *Eugenia brejoensis*. *Scientia Plena*, v. 8, n. 5, 2012.

Bakkali, F., Averberk, S., Averbeck, D., Idaomar, M. Biological effects of essential oils - a review. *Food Chem. Toxicol.* 2008; 46: 446–475.

Balogh, T. S.; Pedriali, C. A.; Baby, A. R.; Velasco, M. V. R.; Kaneko, T. M. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. *Anais Brasileiros de Dermatologia.* 2011; 86(4):732-42.

Basting, R. T.; Nishijima, C. M.; Lopes, J.A.; Santos, R. C.; Périco, L. L.; Laufer, S., Bauer, S.; Costa, M. F.; Santos, L. C.; Rocha, L. R. M.; Vilegas, W.; Santos, A. R. S., dos Santos, C.; Hiruma-Lima, C.A. Antinociceptive, anti-inflammatory and gastroprotective effects of a hydroalcoholic extract from the leaves of *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. in rodents. *Journal of Ethnopharmacology.* 2014; 157: 257–267.

Bastos, R. G.; Salles, B. C. C.; Bini, I. F.; Castaldini, L. P.; Silva, L. C. D.; Vilela, A. A.; Micheloni, A. L. C.; Silva, G. M.; Silva, P. H. C.; Maure, A. K.; Santos, L. L.; Rosa, C. P.; Amorim, A. F. S.; Rocha, C. Q.; Vilegas, W.; Paula, F. B. A.; Silva, G.A.; Silva, M. A. Phytochemical composition, antioxidant and in vivo antidiabetic activities of the hydroethanolic extract of *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) leaves. *South African Journal of Botany* 123 (2019) 317–332.

Benfatti, C. S.; Cordova, S. M.; Guedes, A.; Magina, M. D. A.; Cordova, C. M. M. Atividade antibacteriana *in vitro* de extratos brutos de espécies de *Eugenia* sp frente a cepas de mollicutes. *Rev Pan-Amaz Saude v.1 n.2 Ananindeua jun. 2010.*

Bértolo, M. B.; Brenol, C. V.; Schainberg, C. G.; Neubarth, F.; Lima, F. A. C.; Laurindo, I. M.; Silveira, I. G.; Pereira, I. A.; Loures, M. A. R.; Azevedo, M. N.; Freitas, M. V. C.; Pedreira Neto, M. S.; Xavier, R. M.; Giorgi, R. D. N.; Kowalski, S. C.; Anti, S. M. A. Atualização do Consenso Brasileiro no Diagnóstico e Tratamento da Artrite Reumatóide. *Rev Bras Reumatol*, v. 47, n.3, p. 151-159, 2007.

Bezerra, J.C.B., Silva, I. A., Ferreira, H. D., Ferri, P. H., Santos, S. C. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. *Fitoterapia.* 2002; 73(5): 428-30.

Brandão, M. G. L., Pignal, M., Ramaniuc, S., Graell, C. F. F., Fagg, C. W. Useful Brazilian plants listed in the field books of the French naturalist Auguste de Saint-Hilaire (1779–1853). *Journal of Ethnopharmacology.* 2012; 143: 488–500.

Brandelli, C. L. C.; Giordani, R. B.; De Carli, G. A.; Tasca, T. Indigenous traditional medicine: in vitro anti-giardial activity of plants used in the treatment of diarrhea. *Parasitol Res.* 2009; 104: 1345–1349.

Brunetti, I. L.; Vendramini, R. C.; Januário, A. H.; França, S. C.; Pepato, M. T. Effects and Toxicity of *Eugenia punicifolia* Extracts in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Pharmaceutical Biology* 2006, Vol. 44, No. 1, pp. 35–43.

Brustein, V. P.; Souza-Araújo, F. V.; Vaz, A. F. M.; Araújo, R. V. S.; Paiva, P. M. G.; Coelho, L. C. B. B.; Carneiro-Leão, A. M. A.; Teixeira, J. A.; Carneiro-da-Cunha, M. G.; Correia, M. T. S. A novel antimicrobial lectin from *Eugenia malaccensis* that stimulates cutaneous healing in mice model. *Inflammopharmacol* (2012) 20:315–322.

Cantanhede Filho, A. J.; Santos, L. S.; Guilhona, G. M. S. P.; Zoghbib, M. G. B.; Portsc, P. S.; Rodrigues, I. C. S. Triterpenoides, fenólicos e efeito fitotóxico das folhas de *Eugenia flavescens* DC (Myrtaceae). *Quim. Nova*. 2017; 40 (3): 252-259.

Carneiro, N. S., Alves, J. M., Alves, C. C. F., Esperandim, V. R., Miranda, M. L. D. Óleo Essencial das Flores de *Eugenia klotzschiana* (Myrtaceae): Composição Química e Atividades Tripanocida e Citotóxica In Vitro. *Rev. Virtual Quim*. 2017b; 9 (3).

Carneiro, N. S.; Alves, C. C. F.; Alves, J. M.; Egea, M. B.; Martins, C. H. G.; Silva, T. S.; Bretanha, L. C.; Balleste, M. P.; Micke, G. A.; Silveira, E. V.; Miranda, M. L. D. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from leaves and flowers of *Eugenia klotzschiana* Berg (Myrtaceae). *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*. (2017a); 89(3), 1907–1915.

Cecílio, A. B.; de Faria, D.B.; Oliveira, P.C.; Caldas, S.; de Oliveira, D.A.; Sobral, M.E.G.; Duarte, M.G.R.; Moreira, C.P.S.; Silva, C.G.; de Almeida, V.L. Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. *Journal of Ethnopharmacology*. 2012; 141: 975–981.

Chaieb, K.; Zmantar, T.; Ksouri, R.; Hajlaoui, H.; Mahdouani, K.; Abdelly, C.; Bakhrouf, A. Antioxidant properties of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* and its antifungal activity against a large number of clinical *Candida* species. *Mycoses*, v. 50, n. 5, p. 403–406, 2007a.

Chaieb, K.; Hajlaoui, H.; Zmantar, T.; Kahla-Nakbi, A.B.; Rouabhia, M.; Mahdouani, K.; Bakhrouf, A. The Chemical Composition and Biological Activity of Clove Essential Oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): A Short Review. *Phytother. Res*. 2007b; 21: 501–506.

Chan, F. K.; Leung, W. K. Peptic ulcer disease. *Lancet*. 2002; 360, 933–941.

Chatuverdi, A.; Bhawani, G.; Agarwal, P. K.; Goel, S.; Singh, A.; Goel, R. K. Antidiabetic and antiulcer effects of extract of *Eugenia jambolana* seed in mild diabetic rats: study on gastric mucosal offensive acid-pepsin secretion. *Indian J Physiol Pharmacol*, 2009.

Conceição, G. M.; Ruggieri, A. C.; Araújo, M. F. V.; Conceição, T. T. M. M.; Conceição, M. A. M. M. Plantas do cerrado: comercialização, uso e indicação terapêutica fornecida pelos raizeiros e vendedores. *Scientia Plena*. 2012; 7(12):1-6.

Costa, T.R.; Fernandes, O.F.L.; Santos, S.C.; Oliveira, C.M.A.; Liao, L.M.; Ferri, P.H.; Paula, J.R.; Ferreira, H.D.; Sales, B.H.N.; Silva, M.R.R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000; 72: 111–117.

Costa, E.V.; Dutra, L.M.; Salvador, M.J.; Ribeiro, L.H.; Gadelha, F.R.; Carvalho, J.E. Chemical composition of the essential oils of *Annona pickelii* and *Annona salzmannii* (Annonaceae), and their antitumour and trypanocidal activities. *Nat. Prod. Res*. 2013; 27: 997–1001.

Costa, M. F.; Jesus, T. I.; Lopes, B. R. P.; Angolini, C. F. F.; Montagnolli, A.; Gomes, L. P.; Pereira, G. S.; Ruiz, A. L. T. G.; Carvalho, J. E.; Eberlin, M. N.; Santos, C.; Toledo, K. A. *Eugenia aurata* and *Eugenia puniceifolia* HBK inhibit inflammatory response by reducing

neutrophil adhesion, degranulation and NET release. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2016; 16(1): 403.

Cotran, R. S.; Kumar, V.; Collins, T. (Trad. Barbosa, J. B.; De Vasconcelos, M. M.; Voeux, P. J.); Robbins – Patologia Estrutural e Funcional, 6ª ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2000.

Dametto, A. C.; Agustoni, D.; Moreira, T. F.; Plaza, C. V.; Prieto, A. M.; Silva, T. A. G.; Souza, F. O.; Boralle, N.; Sorbo, J. M.; Silva, D. H. S.; Soares, C. P. Chemical composition and in vitro chemoprevention assessment of *Eugenia jambolana* Lam. (Myrtaceae) fruits and leaves. Journal of Functional Foods. 2017; v.36, p.490–502.

Das, S.; Sarma, G. Study of the hepatoprotective activity of the ethanolic extract of the pulp of *Eugenia jambolana* (Jamun) in albino rats. J Clin Diagnostic Res 3: 1466-1474 (2009).

Daza, L. D.; Fujita, A.; Granato, D.; Fávaro-Trindade, C. S.; Genovese, M. I. Functional properties of encapsulated Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extract. Food Bioscience. 2017; <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2017.03.003>.

Dias, C. N. Avaliação da atividade larvívica em *Aedes aegypti* L. (DIPTERA: CULICIDAE) de óleos essenciais de espécies vegetais: um estudo de revisão e bioprospecção. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Maranhão., 2013.

Dias, C. N.; Alves, L. P. L.; Rodrigues, K. A. F.; Brito, M. C. A.; Rosa, C. S.; Do Amaral, F. M. M.; Monteiro, O. S.; Andrade, E. H. A.; Maia, J. G. S.; Moraes, D. F. C. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils extracted from Brazilian legal Amazon plants against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2015.

Donado-Pestana, C. M.; Belchior, T.; Genovese, M. I. Phenolic compounds from cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit prevent bodyweight and fat mass gain induced by a high-fat, high-sucrose diet. Food Research International. 2015; 77(2): 177-185.

Donado-Pestana, C. M.; Santos-Donado, P. R.; Daza, L. D.; Belchior, T.; Festuccia W. T.; Genovese, M. I. Cagaita fruit (*Eugenia dysenterica* DC.) and obesity: Role of polyphenols on already established obesity. Food Research International. 2018a; 103:40-47.

Donado-Pestana, C. M.; Moura, M. H. C.; de Araujo, R. L.; Santiago, G. L.; Barros, H. R. M.; Genovese, M. I. Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications. Current Opinion in Food Science. 2018b; 19:42–49.

Ehlers, S.; Kaufmann, S.H. Infection, inflammation, and chronic diseases: consequences of a modern lifestyle. Trends Immunol. 2010; 31, 184– 190.

Falcão, T. R.; Araújo, A. A.; Soares, L. A. L.; Ramos, R. T. M.; Bezerra, I. C. F.; Ferreira, M. R. A.; Neto, M. A. S.; Melo, M. C. N.; Araújo Jr, R. F.; Guerra, A. C. V. A.; Medeiros, J. S.; Guerra, G. C. B. Crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* Linn leaves showed antiinflammatory, antioxidant, and antibacterial activities. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2018; 18:84.

Fernandes, T. G. Efeito sinérgico do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* Swartz em associação com agentes antimicrobianos frente a cepas de *Staphylococcus aureus* multidrogas resistente. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

Fernández-Trujillo, J. P.; Hernández, M. S.; Carrillo, M.; Barrera, J. Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*, 2011; 98–117e.

Ferreira-Nunes, R.; Silva, S. M. M.; de Souza, P. E. N.; Magalhães, P. O.; Cunha-Filho, M.; Gratieri, T.; Gelfuso, G. M. Incorporation of *Eugenia dysenterica* extract in microemulsions preserves stability, antioxidant effect and provides enhanced cutaneous permeation. *Journal of Molecular Liquids*. 2018. doi:10.1016/j.molliq.2018.06.023.

Fichi, G.; Flamini, G.; Giovanelli, F.; Otranto, D.; Perrucci, S. Efficacy of an essential oil of *Eugenia caryophyllata* against *Psoroptes cuniculi*. *Experimental Parasitology*. 2007; 115(2): 168–172.

Figueiredo, P. L. B.; Pinto, L. C.; Costa, J. S.; Silva, J. S.; Mourão, R. H. V.; Montenegro, R. C.; Silva, J. K. R.; Maia, J. G. S. Composition, antioxidant capacity and cytotoxic activity of *Eugenia uniflora* L. chemotype-oils from the Amazon, *Journal of Ethnopharmacology*, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.12.011>.

Figueirôa, E. D. O.; Silva, L. C. N.; Melo, C. M. L.; Neves, J. K. A. L.; Silva, N. H.; Pereira, V. R. A.; Correia, M. T. S. Evaluation of antioxidant, immunomodulatory, and cytotoxic action of fractions from *Eugenia uniflora* L. and *Eugenia malaccensis* L.: correlation with polyphenol and flavanoid content. *Sci World J* 1–7. 2013.

Flora do Brasil 2020 – algas, fungos e plantas. Rio de Janeiro: Jardim Botânico: Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 03 fev. 2018.

Forzza, R. C.; Baumgartz, J. F.; Costa, A.; Hopkins, M. J. G.; Leitman, P. M.; Lohmann, L. G.; Martinelli, G.; Menezes, M.; Morim, M. P.; Nadruz-Coelho, M.; PEIXOTO, A. L.; Pirani, J. R.; Queiroz, L. P.; Stehmann, J. R.; Walter, B. M. T.; Zappi, D. C. As angiospermas do Brasil. In: Forzza et al. (Org.). *Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil*. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro; Andrea Jakobsson Estudio, 2010. p.78-89.

Franzon, R. C.; Caracterização de mirtáceas nativas do Sul do Brasil, 2004. 114f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Franzon, R. C.; Carpenedo, S.; Viñoly, M. D.; Raseira, C. B. M. Pitanga—*Eugenia uniflora* L. In *Exotic Fruits* (pp. 333-338). Academic Press. 2018.

Frighetto, N.; Welendorf, R. M.; da Silva, A. M. P.; Nakamura, M. J.; Siani, A. C. Purification of betulinic acid from *Eugenia florida* (Myrtaceae) by high-speed counter-current chromatography. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 2005; 16(6), 411-414.

Galeno, D. M. L.; Carvalho, R. P.; Boleti, A. P. A.; Lima, A. S.; de Almeida, P. D. O.; Pacheco, C. C.; de Souza, T. P.; Lima, E. S. Extract from *Eugenia punicifolia* is an Antioxidant and Inhibits Enzymes Related to Metabolic Syndrome. *Appl Biochem Biotechnol*. 2014; 172:311-324.

Galheigo, M. R. U.; Prado, L. C. S.; Mundin, A. M. M.; Gomes, D. O.; R. Chang.; Lima, A. M. C.; Canabrava, H. A. N.; Bispo-da-Silva, L. B. Antidiarrhoeic effect of *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) leaf essential oil. *Natural Product Research*, 2015.

Garzón, G. A.; Narváez-Cuenca, C. E.; Kopec, R. E.; Barry, A. M.; Riedl, K. M.; Schwartz, S. J. Determination of Carotenoids, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity of Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh), an Amazonian Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012; 60(18), 4709–4717.

Genovese, M. I.; Pinto, S. G. A. E.; De Souza, F. M. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. *Food Science and Technology International*. 2008; 14: 207-214.

Gil, P. R. Wilderness – Earth's cast wild places. México: CEMEX, 2002.

Giulietti, A. M.; Bocage Neta A. L.; Castro A. A. J. F.; Gamarra-Rojas, C. F. L.; Sampaio, E. V. S. B.; Virgínio, J. F.; Queiroz, L. P.; Figueiredo, M. A.; Rodal, M. J. N.; Barbosa, M. R. V.; Harley, R. M. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga 48-78. 2003.

Gonçalves, A. E. S. S.; Lajolo, F. M.; Genovese, M. I. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps. *J. Agric. Food Chem*. 2010; 58: 4666-4674.

Granato, D., Alezandro, M.R., Nazzaro, F., Food bioactive compounds: Quality control and bioactivity, *Food Research International*. 2015. doi: 10.1016/j.foodres.2015.10.01.

Grangeiro, M. S.; Calheiros-Lima, A. P.; Martins, M. F.; Arruda, J. F.; Garcez-do-Carmo, L.; Santos, W. C. Pharmacological effects of *Eugenia punicifolia* (Myrtaceae) in cholinergic nicotinic neurotransmission. *J Ethnopharmacol*. 2006; 108: 26- 30.

Guimarães, A. G.; Melo, M. S.; Bonfim, R. R.; Passos, L. O.; Machado, S. M. F.; Ribeiro, A. S.; Sobral, M.; Thomazzi, S. M.; Quintans-Júnior, L. J. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Eugenia candolleana* DC., Myrtaceae, on mice. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2009; 19(4): 883-887.

Hassum, I. C.; Venturi, C. R.; Gosmann, G.; Deiro, A. M. G. Ação dos extratos de quatro plantas sobre larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2013; 18 (2): 278-287.

Hirano, T.; Arimitsu, J.; Higa, S.; Naka, T.; Ogata, A.; Shima, Y. Luteolin, a flavonoid, inhibits CD40 ligand expression by activated human basophils. *Int Arch Allergy Immunol* 2006; 140: 150-156.

Ibikunle, G. F.; Adebajo, A. C.; Famuyiwa, F. G.; Aladesanmi, A. J.; Adewunmi, C. O. In-vitro evaluation of anti-trichomonal activities of *Eugenia uniflora* leaf. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 2011; 8(2):170—176.

Infante, J.; Rosalen, P.L.; Lazarini, J.G.; Franchin, M.; Alencar, S. M. Antioxidant and anti-inflammatory activities of unexplored Brazilian native fruits, *PLoS One* 11 (2016) 1–13.

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE, 2016), www.inpe.br.

Jasmine, R.; Selvakumar, B. N.; Daisy, P.; Ignacimuthu, S. Activity of *Eugenia jambolana*, an ethnomedical plant, against drug-resistant bacteria. *Pharmaceutical Biology*, 2010; 48(4): 405–410.

Joshi, B.; Sah, G. P.; Basnet, B. B.; Bhatt, M. R.; Sharma, D.; Subedi, K.; Pandey, J.; Malla, R. Phytochemical extraction and antimicrobial properties of different medicinal plants: *Ocimum sanctum* (Tulsi), *Eugenia caryophyllata* (Clove), *Achyranthes bidentata* (Datiwan) and *Azadirachta indica* (Neem). *Journal of Microbiology and Antimicrobials*. 2011; Vol. 3(1), pp. 1-7.

Kauffmann, C.; Ethur, E. M.; Arossi, K.; Hoehne, L.; Freitas, E. M.; Machado, G. M. C.; Cavaleiro, M. M. C.; Flach, A.; Costa, L. A. M. A.; Gnoatto, S. C. B. Chemical composition and evaluation preliminary of antileishmanial activity in vitro of essential oil from leaves of *Eugenia pitanga*, a native species of southern of Brazil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2017; 20 (2): 559-569.

Khalilzadeh, E.; Hazrati, R.; Saiah, G. V. Effects of topical and systemic administration of *Eugenia caryophyllata* buds essential oil on corneal anesthesia and analgesia. *Research in pharmaceutical sciences*. 2016; 11(4), 293.

Knobloch, K.; Pauli, A.; Iberl, B.; Weigand, H.; Weis, N. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *J. Essent. Oil Res.* 1989; 1: 118–119.

Kumarasamyraja, D.; Jeganathan, N. S.; Manavalan, R. A Review on Medicinal Plants with Potential Wound Healing Activity. *International Journal of Pharma Sciences*. 2012; Vol. 2, No. 4: 101-107.

Lazarini, J. G.; Sardi, J. C. O.; Franchin, M.; Nani, B. D.; Freires, I. A.; Infante, J.; Paschoal, J. A. R.; Alencar, S. M.; Rosalen, P. L. Bioprospection of *Eugenia brasiliensis*, a Brazilian native fruit, as a source of anti-inflammatory and antibiofilm compounds. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018; 102 132–139.

Leite, P. E. C.; Almeida, K. B.; Lagrota-Candido, J.; Trindade, P.; Silva, R. F.; Ribeiro, M. G. L.; Lima-Araújo, K. G.; Santos, W. C.; Quirico-Santos, T. Anti-Inflammatory Activity of *Eugenia punicifolia* Extract on Muscular Lesion of mdx Dystrophic Mice. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2010; 111: 1652–1660.

Leite, P. E. C.; Lima-Araújo, K. G.; França, G. R.; Lagrota-Candido, J.; Santos, W. C.; Quirico-Santos, T. Implant of Polymer Containing Pentacyclic Triterpenes from *Eugenia punicifolia* Inhibits Inflammation and Activates Skeletal Muscle Remodeling. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2014; 62(6): 483-491.

Lima, T. B.; Silva, O. N.; Oliveira, J. T. A.; Vasconcelos, I. M.; Scalabrin, F. B.; Rocha, T. L.; Grossi-de-Sá, M. F.; Silva, L. P.; Guadagnin, R. V.; Quirino, B. F.; Castro, C. F. S.; Leonardecz, E.; Franco, O. L. Identification of *E. dysenterica* laxative peptide: A novel strategy in the treatment of chronic constipation and irritable bowel syndrome. *Peptides*. 2010; 31(8):1426–1433.

Lima, T.B.; Silva, O. N.; Silva, L. P.; Rocha, T. L.; Grossi-de-Sá, M. F.; Franco, O. L.; Leonardecz, E. In vivo effects of cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) leaf extracts on diarrhea treatment. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011; 2011:309390.

Lima, A. B.; Lima, D. D.; Vieira, M. R.; Poletto, M. Z.; Magro, D. D. D.; Barauna, S. C.; Alberton, M. D.; Pereira, E. M.; Pereira, N. R.; Salamaia, E. M.; Siebert, D. A. Hypolipemiant and antioxidant effects of *Eugenia brasiliensis* in an animal model of coconut oil-induced hypertriglyceridemia. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017; v.96, p.642–649.

Limberger, R. P.; Sobral, M.; Henriques, A. T.; Menut, C.; Bessière, J. M. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* Nativas do Rio Grande do Sul. *Química Nova*. 2004; v. 27, n. 6, p. 916–919.

Lionnet L, Beaudry F, Vachon P. Intrathecal eugenol administration alleviates neuropathic pain in male Sprague-Dawley rats. *Phytother Res*. 2010; 24:1645–1653.

Lorenzi, H., Matos, F. J. A. *Plantas Medicinais do Brasil*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544 p.

Machado, K. E.; Cechinel Filho, V.; Tessarolo, M. L.; Mallmann, R.; Meyre Silva, C.; Bella, C. A. Potent antibacterial activity of *Eugenia umbelliflora*. *Pharmaceutical Biology*. 2005; v.43, n. 7, p.636–639.

Magina, M. D. A.; Dalmarco, E. M.; Wisniewski Jr., A.; Simionatto, E. L.; Dalmarco, J. B.; Pizzolatti, M. G.; Brighente, I. M. C. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species. *Journal of Natural Medicines*. July 2009, Volume 63, Issue 3, pp 345–350.

Magina, M. A.; Gilioli, A.; Moresco, H. H.; Colla, G.; Pizzolatti, M.; Brighente, I.M.C. Atividade antioxidante de três espécies de *Eugenia* (Myrtaceae). *Latin American Journal of Pharmacy*. 2010, v.29, p.376-82.

Mandelbaum, S. H.; Di Santis, E. P.; Mandelbaum, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. *An bras Dermatol*. 2003; Rio de Janeiro, 78(4):393-410, jul./ago.

Medeiros, J. R.; Medeiros, N.; Medeiros, H.; Davin, L. B.; Lewis, N. G. Composition of the Bioactive Essential Oils from the Leaves of *Eugenia stipitata* McVaugh ssp. *sororia* from the Azores. *Essent. Oil Res*. 2003; 15: 293-295.

Mendes, J. F.; Martins, H. H. A.; Otoni, C. G.; Santana, N. A.; Silva, R. C. S.; Silva, A. G.; Silva, M. V.; Correia, M. T. S.; Machado, G.; Pinheiro, A. C. M.; Piccoli, R. H.; Oliveira, J. E. Chemical composition and antibacterial activity of *Eugenia brejoensis* essential oil nanoemulsions against *Pseudomonas fluorescens*, *LWT - Food Science and Technology*. 2018. doi: 10.1016/j.lwt.2018.04.015.

Meyre-Silva, C.; Petry, C.M.; Berté, T.E.; Becker, R.G.; Zanatta, F.; Delle-Monache, F.; Cechinel-Filho, V.; Andrade, S.F. Phytochemical analyses and gastroprotective effects of *Eugenia umbelliflora* (Myrtaceae) on experimental gastric ulcers. *Nat Prod Commun* 2009; 4: 911–916.

Ministério do Meio Ambiente (MMA), 2011. www.mma.gov.br.

Moreira, L. C.; Ávila, R. I.; Veloso, D. F. M. C.; Pedrosa, T. N.; Lima, E. S.; Couto, R. O.; Lima, E. M.; Batista, A. C.; Paula, J. R.; Valadares, M. C. In vitro safety and efficacy evaluations of a complex botanical mixture of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae): Prospects for developing a new dermocosmetic product. *Toxicology in vitro*. 2017. doi: 10.1016/j.tiv.2017.04.002.

Moreno, P. R. H.; Lima, M. E. L.; Sobral, M.; Young, M. C. M.; Cordeiro, I.; Apel, M. A.; Limberger, R. P.; Henriques, A. T. Essential oil composition of fruit colour varieties of *Eugenia brasiliensis* Lam. *Sci. agric.* 2007; vol.64 no.4 Piracicaba July/Aug.

Nader, T. T. Potencial de atividade antimicrobiana in vitro de extratos vegetais do cerrado frente estirper de *Staphylococcus aureus*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2010.

Neri-Numa, I. A.; Carvalho-Silva, L. B.; Morales, J. P.; Malta, L. G.; Muramoto, M. T.; Ferreira, J. E. M.; Carvalho, J. E.; Ruiz, A. L. T. G.; Junior, M. R. M.; Pastore, G. M. Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh — Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. *Food Research International*. 2013; 50: 70–76.

Neves, I. A., Rezende, S. R. F., Kirk, J. M., Pontes, E. G., De Carvalho, M. G. Composition and Larvicidal Activity of Essential Oil of *Eugenia candolleana* DC. (MYRTACEAE) against *Aedes aegypti*. *Rev. Virtual Quim.* 2017; 9 (6): 2305-2315.

Nicácio, A. E.; Rotta, E. M.; Boeing, J. S.; Barizão, E. O.; Kimura, E.; Visentainer, J. V.; Maldaner, L. Antioxidant Activity and Determination of Phenolic Compounds from *Eugenia involucrata* DC. Fruits by UHPLC-MS/MS. *Food Anal. Methods*. 2017.

Nikoui, V.; Ostadhadhi, S.; Bakhtiarian, A.; Abbasi-Goujani, E.; Habibian-Dehkordi, S.; Rezaei-Roshan, M.; ... Giorgi, M. The anti-inflammatory and antipyretic effects of clove oil in healthy dogs after surgery. *PharmaNutrition*. 2017; 5(2), 52-57.

Nuñez, L.; Aquino, M. D. Microbicide activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*). *Brazilian Journal of Microbiology*. 2012; v. 43, n. 4, p. 1255-1260.

Oliveira, R. N.; Dias, I. J. M.; Câmara, C. A. G. Estudo comparativo do óleo essencial de *Eugenia punicifolia* (HBK) DC. de diferentes localidades de Pernambuco. *Rev. bras. farmacogn.* 2005; 15(1).

Oliveira, A. M.; Humberto, M. M. S.; Silva, J. M.; Rocha, R. F. A. Sant'Ana, A. E. G. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades moluscicida e larvicida dos extratos da casca do caule e folha de *Eugenia malaccensis* L. (Myrtaceae). *Rev. Bras. Farmacogn.* 2006. 16:618-624.

Öztürk, A.; Özbek, H. The anti-inflammatory activity of eugenia caryophyllata essential oil: an animal model of antiinflammatory activity. *Eur J Gen Med*. 2005; 2(4):159-163.

Pai, R. J.; Valder, B.; Palatty, P. L.; Shivashankara, A. R.; Baliga, M. S. Gastrointestinal Protective Effects of *Eugenia jambolana* Lam. (Black Plum) and Its Phytochemicals. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease*. 2013; 369–382.doi:10.1016/b978-0-12-397154-8.00043-9.

Park, S. H.; Sim, Y.B.; Lee, J.K.; Kim, S.M.; Kang, Y.J.; Jung, J. S. The analgesic effects and mechanisms of orally administered eugenol. *Arch Pharm Res*. 2011; 34:501–507.

Patwardhan, J.; Bhatt, P. Ultraviolet-B Protective Effect of Flavonoids from *Eugenia caryophyllata* on Human Dermal Fibroblast Cells. *Pharmacogn Mag*. 2015.

Pereira, R. A.; Zoghbi, M. G. B.; Bastos, M. N. C. Essential oils of twelve species of Myrtaceae growing wild in the sandbank of the Resex Maracanã, State of Pará, Brazil. *J. Essent. Oil Bear. Plants* 2010, 13, 440–450.

Pereira, N. L. F.; Aquino, P. E. A.; Júnior, J. A. S.; Cristo, J. S.; Vieira filho, M. A.; Moura, F. F.; Ferreira, N. M. N.; Silva, M. K. N.; Nascimento, E. M.; Correia, F. M. A.; Cunha, F. A. B.; Boligon, A. A.; Coutinho, H. D. M.; Ribeiro-Filho, J.; Matias, E. F. F.; Guedes, M. I. F. Antibacterial activity and antibiotic modulating potential of the essential oil obtained from *Eugenia jambolana* in association with led lights. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*. 2017, v. 174, p.144-149.

Périco, L. L.; Rodrigues, V. P.; Ohara, R.; Nunes, V. V. A.; Rocha, L. R. M.; Vilegas, W. Catarina dos Santos and Clélia Akiko Hiruma-Lima, Can the gastric healing effect of *Eugenia punicifolia* be the same in male and female rats? *Journal of Ethnopharmacology*. 2019.02.012.

Prado, L. C. S.; Silva, D. B.; Oliveira-Silva, G. L.; Hiraki, K. R. N.; Canabrava, H. A. N.; Bispo-da-Silva, L. B. The gastroprotective effects of *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) leaf extract: The possible role of condensed tannins. *Biol Pharm Bull*. 2014; 37(5):722-730.

Quave, C. L.; Plano, L. R. W.; Pantuso, T.; Bennett, B. C. Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2008; 118: 418–428.

Queiroz, J. M. G.; Suzuki, M. C. M.; Motta, A. P. R.; Nogueira, J. M. R.; Carvalho, E. M. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. *Revista Fitos*. 2015; 9(2): 73-159.

Raut, J. S.; Karuppayil, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*. 2014; 62: 250-264.

Revilla, J. Plantas úteis da Bacia Amazônica. INPA. Rio de Janeiro, 2002.

Reynertson, K. A.; Yang, H.; Jiang, B.; Basile, M. J.; Kennelly, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*. 2008; 109(4), 883–890.

Ribeiro, P. H. S.; Santos, M. L.; Camara, C. A. G.; Born, F. S.; Fagg, C. W. Seasonal chemical compositions of the essential oils of two *Eugenia* species and their acaricidal properties. *Quim. Nova*. 2016; 39 (1): 38-43.

Roosita, K.; Kusharto, C. M.; Sekiyama, M.; Fachrurrozi, Y.; Ohtsuka, R. "Medicinal plants used by the villagers of a Sundanese community in West Java, Indonesia," *Journal of Ethnopharmacology*. 2008; vol. 115, no. 1, pp. 72–81.

Sales, D. S.; Carmona, F.; Azevedo, B. S.; Taleb-Contini, S. H.; Bartolomeu, A. C. D.; Honorato, F. B.; Martinez, E. Z.; Pereira, A. M. S. *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. as an Adjuvant Treatment for Type-2 Diabetes Mellitus: A non-Controlled, Pilot Study. *Phytotherapy Research*. 2014, 28: 1816–1821.

Sampaio, M. G. V.; Santos, C. R. B.; Vandesmet, L. C. S.; Santos, B. S.; Santos, I. B. S.; Correia, M. T. S.; Martins, A. L. B.; Silva, L.C. N.; Menezes, I. R. A.; Gomez, M. C. V.; Silva, M. V. Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil. *Natural Product Research*. 2019; DOI: 10.1080/14786419.2019.1644506.

Santos, K. K. A.; Matias, E. F. F.; Tintino, S. R.; Souza, C. E. S.; Braga, M. F. B. M.; Guedes, G. M. M.; Rolón, M.; Veja, C.; Aarias, A. R.; Costa, J. G. M.; Menezes, I. R. A.; Coutinho, H. D. M. Anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of *Eugenia uniflora* L. *Exp. Parasitol.* 2012; 131: 130–132, 2012.

Santos, K. K. A.; Rolón, M.; Vega, C.; Arias, A. R.; Costa, J. G. M.; Coutinho, H. D. M. Atividade leishmanicida in vitro de *Eugenia uniflora* e *Momordica charantia*. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2013; 34(1): 47-50.

Santos, P. F.; Gomes, L. N.; Mazzei, J. L.; Fontão, A. P. A.; Sampaio, A. L.; Siani, A. C.; Valente, L. M. Polyphenol and triterpenoid constituents of *Eugenia florida* DC. (MYRTACEAE) leaves and their antioxidant and cytotoxic potential. *Química Nova*. 2018; 41(10), 1140-1149.

Santos, J. F. S.; Rocha, J. E.; Bezerra, C. F.; Silva, M. K. N.; Matos, Y. M. L.; Freitas, T. S.; Santos, A. T. L.; Cruz, R. P.; Machado, A. J. T.; Rodrigues, T. H. S.; Brito, E. S.; Sales, D. L.; Oliveira, W. A.; Costa, J. G. M.; Coutinho, H. D. M.; Moraes-Braga, M. F. B. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp, *Food Chemistry*. 2018.

Sardi, J. C. O.; Freires, I. A.; Lazarini, J. G.; Infante, J.; Alencar, S. M.; Rosalen, P.L. Unexplored endemic fruit species from Brazil: Antibiofilm properties, insights into mode of action, and systemic toxicity of four *Eugenia* spp., *Microbial Pathogenesis*. 2017, doi: 10.1016/j.micpath.2017.02.044.

Sausen, T. L.; Löwe, T. R.; Figueiredo, L. S.; Buzatto, C. R.. Avaliação da atividade alelopática do extrato aquoso de folhas de *E. involucrata* e *A. sellowiana*. *Polibotânica*. 2009; v.27, p.145-158.

Sauter, I. P.; Rossa, G. E.; Lucas, A. M.; Cibulski, S. P.; Roehe, P. M.; Silva, L. A. A.; Rott, M. B.; Vargas, R. M. F.; Cassel, E.; Von Poser, G. L. Chemical composition and amoebicidal

activity of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil. *Industrial Crops and Products*. 2012; 40: 292–295.

Shams-Ud-Doha, K. M.; Akter, M.; Al Mahmud, Z.; Apu, A. S.; Howlader, M. A. Antinociceptive activity of the methanol extracts of leaves of *Eugenia fruticosa* (Roxb.) and *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) in Swiss albino mice. *JAPHAC*. 2012; 2:99-102.

Sharma J. N.; Srivastava, K.C.; Gan, E. K. Suppressive effects of eugenol and ginger oil on arthritic rats. *Pharmacol*. 1994; 49(5):314-8.7.

Shukla M.; Consumption of hydrolysable tannins- rich pomegranate extract suppresses inflammation and joint damage in rheumatoid arthritis. *Nutrition*, 2008; 24(7-8): 733-743.

Siebert, D.A.; Tenfen, A.; Yamanaka, C. N.; Cordova, C. M. M. M.; Scharf, D.R.; Simionatto, E. L.; Alberton, M. D. Evaluation of seasonal chemical composition, antibacterial, antioxidant and anticholinesterase activity of essential oil from *Eugenia brasiliensis* Lam. *Natural Product Research*. 2014 Vol. 29, No. 3, 289–292.

Silva, R. S. M; Chaves, L. J.; Naves, R. V. Caracterização de frutos e árvores de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) no Sudeste do estado de Goiás, Brasil. *Rev. Bras. Frutic*. 2001; 23 (2): 330–334.

Silva, A. G.; Alves, R. C. C.; Filho, C. M. B.; Bezerra, P. C. S.; Santos, L. M. M.; Foglio, M. A.; Navarro, D. M. A. F.; Silva, M. V.; Correia, M. T. S. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil from *Eugenia brejoensis* Mazine (Myrtaceae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2015a; 18 (6): 1441 – 1447.

Silva, S. M. M.; Silva, C. A. G.; Fonseca-Bazzo, Y. M.; Magalhães, P. O.; Silveira, D. *Eugenia dysenterica* Mart. Ex Dc. (Cagaita): planta brasileira com potencial terapêutico. *Infarma - Ciências Farm*. 2015b; 27 (1): 49.

Silva, J. K. R.; Andrade E. H. A.; Barreto, L. H.; Silva, N. C. F.; Ribeiro, A. F.; Montenegro, R. C.; Maia, J. G. S. Chemical Composition of Four Essential Oils of *Eugenia* from the Brazilian Amazon and Their Cytotoxic and Antioxidant Activity. *Medicines*. 2017; 4(3).

Silva, S. M. M.; Costa, C. R. R.; Gelfuso, G. M.; Guerra, E. N. S.; Nóbrega, Y. K. M.; Gomes, S. M.; Pic-Taylor, A.; Fonseca-Bazzo, Y. M.; Silveira, D.; Magalhães, P. O. Wound Healing Effect of Essential Oil Extracted from *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) Leaves. *Molecules* 2019.

Simões, R. R.; Kraus, S. I.; Coelho, I. S.; Dal-Secco, D.; Siebert, D. A.; Micke, G. A.; Alberton, M. D.; Santos, A. R. S. *Eugenia brasiliensis* leaves extract attenuates visceral and somatic inflammatory pain in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018.

Singh, R.; Kaur, N.; Kishore, L.; Gupta, G. K.; Management of diabetic complications: a chemical constituents based approach. *J. Ethnopharmacol*. 2013; 150: 51–70.

Siqueira, E. M. A.; Rosa, F. R.; Fustinoni, A. M.; Sant’Ana, L. P.; Arruda, S. F. Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple. *PLOS ONE*. 2013; 8 (8): 72826.

Slowing, K.; Carretero, E.; Villar, A. Anti-inflammatory activity of leaf extracts of *Eugenia jambos* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 1994; 43: 9-11.

Sobeh, M.; El-Raey, M.; Rezaq, S.; Abdelfattah, M. A. O.; Petruk, G.; Osman, S.; El-Shazly, A. M.; El-Beshbishy, H. A.; Mahmoud, M. F.; Wink, M.; Chemical profiling of secondary metabolites of *Eugenia uniflora* and their antioxidant, anti-inflammatory, pain killing and anti-diabetic activities: A comprehensive approach, *Journal of Ethnopharmacology*, 2019; doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111939>.

Sobral - Souza, C. E.; Silva, A. R. P.; Leite, N. F.; Rocha, J. E.; Sousa, A. K.; Costa, J. G. M.; Menezes, I. R. A.; Cunha, F. A. B.; Rolim, L. A.; Coutinho, H.D.M. Phytotoxicity reduction of the mercury chloride effect by natural products from *Eugenia jambolana* Lam.: A new strategy against the toxic metal pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019; 170: 461–467.

Sousa, R. M. F.; Morais, S. A. L.; Vieira, R. B. K.; Napolitano, D. R.; Guzman, V. B.; Moraes, T. S.; Cunha, L. C. S.; Martins, C. H. G.; Chang, R.; Aquino, F. J. T. Nascimento, E. A.; Oliveira, A. Chemical composition, cytotoxic, and antibacterial activity of the essential oil from *Eugenia calycina* Cambess. leaves against oral bacteria. *Industrial crops and products*. 2015; 65: 71-78.

Souza, F. P.; Campos, G. R.; Packer, J. F. Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. – Acerola. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 2013; 34(1): 69-77.

Souza, G. A. G., Oliveira, E. C., Varotti, F. P., Moraes, W. P. In vitro and in vivo antimalarial potential of oleoresin obtained from *Copaifera reticulata* Ducke (Fabaceae) in the Brazilian amazon rainforest. *Phytomedicine*. 2016; 15: 111–118.

Souza, L. I. O.; Silva, P. C. B.; Navarro, D. M. A. F.; Silva, A. G.; Correia, M. T. S.; Da Silva, M. V.; De Figueiredo, R. C. B. Q. The chemical composition and trypanocidal activity of essential oils from Brazilian Caatinga plants. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017a; 96: 1055–1064.

Souza, C. E. S.; Silva, A. R. P.; Rocha, J. E.; Gomez, M. C. V.; Rolóm, M.; Coronel, C.; Costa, J. G. M.; Netto, M. L. C.; Rolim, L. A.; Coutinho, H. D. M. LC-MS characterization, anti-kinetoplastide and cytotoxic activities of natural products from *Eugenia jambolana* Lam. and *Eugenia uniflora*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2017b; 7(9): 836-841.

Souza, A. M.; Oliveira, C. F.; Oliveira, V. B.; Betim, F. C. M.; Miguel, O. G.; Miguel, M. D. Traditional Uses, Phytochemistry, and Antimicrobial Activities of *Eugenia* Species – A Review. *Planta Med*. 2018; 84: 1232–1248.

Souza, A. M.; Armstrong, L.; Merino, F. J. Z.; Cogo, L. L.; Monteiro, C. L. B.; Duarte, M. R.; Miguel, O.G.; Miguel, M. D. In vitro effects of *Eugenia pyriformis* Cambess., Myrtaceae: Antimicrobial activity and synergistic interactions with Vancomycin and Fluconazole. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2019; 8(35), 862–867.

Srivastava, S.; Chandra, D. Pharmacological potentials of *Syzygium cumini*: a review. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013; 93(9), 2084–2093. doi:10.1002/jsfa.6111.

Tachakittirungrod, S.; Okonogi, S.; Chowwanapoonpohn, S. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. Food Chemistry. 2007; vol. 103, no. 2, pp. 381-388. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.034>.

Takaoa, L. K.; Imatomib, M.; Gualtieria, S. C. J. Antioxidant activity and phenolic content of leaf infusions of Myrtaceae species from Cerrado (Brazilian Savanna). Braz. J. Biol. 2015; vol. 75, no. 4, pp. 948-952948.

Tenfen, A.; Siebert D. A.; Yamanaka, C. N.; Córdova, C. M. M.; Scharf, D. R.; Simionatto, E. L.; Alberton, M. D. Chemical composition and evaluation of the antimicrobial activity of the essential oil from leaves of *Eugenia platysema*. Natural Product research, 2015.

Thomaz, D. V., Peixoto, L. F., de Oliveira, T. S., Fajemiroye, J. O., da Silva Neri, H. F., Xavier, C. H., ... & Ghedini, P. C. (2018). Antioxidant and Neuroprotective Properties of *E. dysenterica* Leaves. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.

Trentin, D. S.; Zimmer, K. R.; Silva, M. V.; Brandt, R. G.; Macedo, A. J. Medicinal plants from brazilian caatinga: antibiofilm and antibacterial activities against *pseudomonas aeruginosa*. Revista Caatinga, Mossoró. 2014; 27 (3): 264 – 271.

Vechi, G.; Campos, A.; Rosa, R. L.; Capistrano, K.; Zermiani, K.; Buzzi, F.C.; Andrade, S. F.; Filho, V. C. Analyses of chemical composition and gastroprotective and antinociceptive properties of *Eugenia involucrate* DC. Leaves. Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 8(04), pp 079-083, April, 2018.

Veigas, J. M.; Shrivasthava, R.; Neelwarne, B. Efficient amelioration of carbon tetrachloride induced toxicity in isolated rat hepatocytes by *Syzygium cumini* Skeels extract. Toxicology in Vitro. 2008; 22(6), 1440–1446.

Velasco, M. R. V.; Balogh, T. S.; Pedriali, C. A.; Sarruf, F. D.; Pinto, C. A. S. O.; Kaneko, T. M.; Baby, A. R. Associação da Rutina com p-Metoxicinamato de Octila e Benzofenona-3: Avaliação In Vitro da Eficácia Fotoprotetora por Espectrofotometria de Refletância. Lat. Am. J. Pharm. (2008); 27 (1): 23-7.

Victoria, F. N.; Lenardão, E. J.; Savegnago, L.; Perin, G.; Jacob, R.G.; Alves, D.; da Silva, W. P.; da Motta, A. S.; Nascente, P. S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: antioxidant and antimicrobial properties. Food Chem Toxicol. 2012; 50: 2668–2674.

Vieira, P. M.; Veronezi, E.; Silva, C. R.; Chen-Chen, L. Detection of Genotoxic, Cytotoxic, and Protective Activities of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae) in Mice. J. Med Food. 2012; 15(6): 563-567.

Violante, I. M. P.; Souza, I. M.; Venturini, C. L.; Ramalho, A. F. S.; Santos, R. A. N.; Ferrari, M. Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. Brazilian Journal of Pharmacognosy 19 (2A): 452-457, Abr./Jun. 2009.

Vitek, R., de Novais, L. M., Torquato, H. F., Paredes-Gamero, E. J., de Carvalho, M. G., de Sousa Jr, P. T., ... & da Silva, V. C. Chemical constituents and antileukemic activity of *E. dysenterica*. *Natural product research*. (2017); 31(16), 1930-1934.

Xu, J.; Liu, T.; Li, Y.; Yuan, C.; Ma, H.; Seeram, N. P.; Liu, F.; Mu, Y.; Huang, X.; Li, L. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of triterpenoid-enriched Jamun (*Eugenia jambolana* Lam.) fruit extract in streptozotocin-induced type 1 diabetic mice. *Food & Function*. 2018. DOI: 10.1039/c8fo00095f.

Yang, Y. C.; Lee, S. H.; Lee, W. J.; Choi, D. H.; Ahn, Y. J. Ovicidal and adulticidal effects of *Eugenia caryophyllata* bud and leaf oil compounds on *Pediculus capitis*. *J Agricult Food Chem*. 2003; 51: 4884–4888.

Zaki, M. A.; Balachandran, P.; Khan, S.; Wang, M.; Mohammed, R.; Hetta, M. H.; Pasco, D. S.; Muhammad, I. Cytotoxicity and modulation of cancer-related signaling by (Z)- and (E)-3,4,3',5'-tetramethoxystilbene isolated from *Eugenia rigida*. *J Nat Prod*. 2013; 76: 679–684.

Zorzin, F.M. Avaliação da atividade de inibição de alfa-amilase e padronização do extrato aquoso da folha de *Eugenia dysenterica*. Brasília - DF, 2014.

3.2 ARTIGO 2 - CHEMICAL COMPOSITION, ANTIPROTOZOAL AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF *Eugenia stipitata* MCVAUGH LEAVES ESSENTIAL OIL

Artigo submetido para publicação ao periódico: *Arabian Journal of Chemistry*



Fator de Impacto: 3.298

Classificação A2 no Qualis para Ciências Biológicas I

Chemical composition, antiprotozoal and cytotoxic activities of *Eugenia stipitata* Mcvaugh leaves essential oil

Cícero Ramon Bezerra dos Santos¹, Mariana Gomes Vidal Sampaio¹, Lilian Cortez Sombra Vandesmet¹, Bruno Souza dos Santos^{1*}, Saulo Almeida de Menezes¹, Benedito Yago Machado Portela², Douglas Willyam Rodrigues Gomes², Maria Tereza dos Santos Correia¹, Maria Celeste Veja Gomez³, Irwin Rose de Alencar Menezes⁴, Márcia Vanusa da Silva¹

¹ Biochemistry Departament, Biocience Center, Federal University of Pernambuco – UFPE, Recife, Pernambuco, Brazil.

² University Center Católica de Quixadá, Quixadá, Ceará, Brazil.

³ Centre for the Development of Scientific Investigation - CEDIC, Fundación Moisés Bertoni /Laboratorios Diaz Gill, Asuncion, Paraguay.

⁴ Pharmacology and Medicinal Chemistry, Regional University of Cariri, Crato, Ceara, Brazil.

*Corresponding Author: Bruno Souza dos Santos. Biochemistry Departament, Biocience Center. Federal University of Pernambuco – UFPE, Recife (PE), Brazil. Address: Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, CEP: 50.670-901. Phone: +55 (81) 2126.8540
E-mail: souza.farmacia@hotmail.com

ABSTRACT

The essential oils (EOs) of plants used in traditional medicine are known as a rich source of chemically different compounds with different biological activities. In this study, the volatile composition, cytotoxic and antiprotozoal activities of the essential oil obtained from leaves of *Eugenia stipitata* Mcvaugh (Myrtaceae) (ESEO) grown in Brazilian Northeast area (Araripe, Brazil). The volatile compounds of ESEO were analyzed by GC–MS and its chemical composition is mainly composed of oxygenated sesquiterpenes (56.77%), sesquiterpene hydrocarbons (34.33%), oxygenated monoterpenes (8.13%) and monoterpenes hydrocarbons (0.41%). The most abundant volatile constituents of the ESEO were β -eudesmol (15.28%), γ -eudesmol (10.85%), elemol (10.21%), caryophyllene oxide (6.65%), clovene (6.94%) and spathulenol (6.14%). ESEO was highly selective to *Leishmania braziliensis* and *Leishmania infantum* promastigotes with selective indexes of 13.58 and 9.35, respectively. ESEO did not inhibit *Trypanosoma cruzi*. These data suggest that the *E. stipitata* essential oil is a relevant source of lead compounds for development of anti-Leishmania drugs.

Keywords: volatile oil; brazilian plant; antiprotozoal; Myrtaceae; *Eugenia stipitata*; *Leishmania* sp.

1. INTRODUCTION

According to the World Health Organization (WHO), Chagas disease (American trypanosomiasis) and leishmaniasis are illnesses that have been included in the list of neglected tropical diseases and they are associated with high morbidity and mortality. These infections to the vector-borne diseases affecting 20 million people and killing more than 50,000 every year and are caused by parasites of the kinetoplastida family (*Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* sp.) (WHO, 2019; Nocentini et al., 2019).

Leishmaniasis is classified in cutaneous, subcutaneous and visceral forms, affecting 12 million people in 98 countries (Hamzavi et al., 2018; WHO, 2018). The treatment occurs through the administration of antimonial mutipurpose drugs, liposomal amphotericin B and pentamidine, paromomycin, miltefosine, among others; all with high cost and a lot of side effects. Therefore, drugs originating from natural products have been studied (Carneiro et al., 2015; Dias and Dasso, 2013). About Chagas disease, the current treatment is based on the use of nifurtimox and benznidazole, very toxic drugs to patients with various side effects (Marin-Neto et al., 2009; Urbina, 2002). Thus, the development of new safer and more effective therapeutic agents is necessary.

In last decade, the search for new antiprotozoal compounds from natural sources has increased, and plants continue to be a major source of biologically active compounds that may provide lead structures to develop new drugs (Montavani et al., 2013). In this scenario, some essential oils can be a promising alternative of new trypanocidal and leishmanicidal compounds (Silva et al., 2018).

Essential oils (EO) are composed mainly of monoterpenes, sesquiterpenes, isothiocyanates and phenylpropanoids. They are a complex mixture of compounds arising from plants secondary metabolism, which serve as a protective mechanism, acting as antimicrobial, antiviral and antifungal agents (Bakkali et al., 2008; Sharifi-Rad et al., 2017). Furthermore, their use has been shown to be safe, with few side effects and low toxicity to mammalian cells (Bakkali et al., 2008; Dubey et al., 2010; Santoro et al., 2007).

The genus *Eugenia* is well represented in the various phytogeographic domains in world wide and is considered the fourth most important genus of the family Myrtaceae for the production of essential oils after the *Eucalyptus*, *Melaleuca*, and *Psidium* genera. Essential oils from *Eugenia* species comprise approximately 300 compounds that have been previously identified, with cyclic sesquiterpenes predominating and monoterpenes found in smaller quantities (Souza et al., 2018). *Eugenia stipitata* McVaugh, popularly known as araçá-boi, is used in folk medicine in the treatment of intestinal and urinary disorders, in addition to relieving

the symptoms of cold, which indicates that the bioactive compounds present in the plant may have potential benefits for human health (Yahia, 2011).

This study aimed to investigate the trypanocidal, leishmanicidal activities and *in vitro* cytotoxicity, as well as to identify the chemical volatile components present in the essential oil obtained from the leaves of *E. stipitata*.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Plant material

The leaves of *E. stipitata* were collected in the area of native vegetation, located in Serra dos Paus Dóias in Chapada do Araripe (Exu, Pernambuco; latitude 7° 21"S, longitude 39° 53" W and altitude 884m), between July and August 2017, under authorization of the responsible authority Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) using the license SISBIO 59070. The plant material was identified by Dr. Maria Arlene Pessoa da Silva from the Laboratory of Microbiology and Molecular Biology of the Regional University of Cariri (URCA). The voucher (registration number: 13.054) was deposited in the URCA Herbarium (Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima; HCDAL).

2.2 Sample preparation and chemical characterization of *E. stipitata* essential oil

The essential oil from the fresh leaves of *E. stipitata* (ESEO) was obtained by hydrodistillation method in a Clevenger-type apparatus. Afterwards, the water/oil mixture obtained was separated, and ESEO was treated with anhydrous sodium sulfate, filtered, and kept under refrigeration until the time of analysis. The ESEO was filtered, weighed and stored in a dark at 4° C until use. The ESEO was analysed by gas chromatography coupled to Shimadzu GCMS-QP2010 mass spectrometry (CG-MS) using Rtx®-5MS capillary column (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm). The electron ionization mode was used at 70 eV. and helium (99.999%) was employed as the carrier gas (1 mL/min). The following temperature program was used: 100 °C (3 min) at 310 °C (3.5 °C/min). The identification of the individual volatile components was carried out by comparison with values of retention indices, obtained by co-injection of oil samples and a set of C₉–C₃₀ linear hydrocarbons, and the MS data acquired for each volatile component were matched with the data available in the mass spectral library - MassFinder 4 (Dr. Hochmuth scientific consulting, Hamburg, Germany); NIST08 Mass Spectral Library (ChemSW Inc. Fairfield, CA, USA); Wiley Registry™ of Mass Spectral Data

9th Edition (Wiley, Hoboken, NJ, USA) and with other published mass spectral data (Adams, 2007).

For the quantitative analysis, a Shimadzu GC2010 Plus gas chromatograph equipped with a FID detector, with the same column and operating conditions above described were used. The percentage volatile composition was performed by the normalization method from the GC peak areas, in relation to the combined area of all peaks. All analyses were carried out in triplicate.

2.3 Antiprotozoal activity

2.3.1 Cell culture

Tests with *T. cruzi* were performed using clone CL-B5 (Buckner et al., 1996) carrying *Escherichia coli* β -galactosidase (lacZ) gene, kindly supplied by Dr. F. Buckner through the Gorgas Memorial Institute (Panama). The epimastigote forms were cultured at 28 °C in tryptose broth for liver infusion (Difco, Detroit, MI) supplemented with 10% Fetal Bovine Serum (FBS) (Gibco, Carlsbad, CA), penicillin (Ern, SA, Barcelona, Spain) and streptomycin. Cells were collected for testing in the exponential growth phase. Cultures of *Leishmania braziliensis* (MHOM/CO/88/UA301) and *L. infantum* (MHOM/ES/92/BCN83) were obtained from the Institute of Health Sciences Research (Paraguay). The strains were grown at 22 °C in Schneider's *Drosophila* medium supplemented with 20% FBS. The cytotoxicity assays were performed using NCTC-929 murine fibroblasts obtained from the National Collection of Culture Types. The cells were cultured in Minimum Essential Medium supplemented with FBS (10%), penicillin G (100 U/ml) and streptomycin (100 mg/ml). The cultures were maintained at 37 °C in a humidified atmosphere with 5% CO₂.

2.3.2 Reagents

Resazurin sodium was obtained from Sigma-Aldrich (St Louis, MO) and stored at 4°C away from light. Resazurin solution was prepared with 1% phosphate buffer, pH 7 and sterilized by filtration before use. Chlorophenol red- β -D galactopyranoside (CPRG; Roche, Indianapolis, IN) was dissolved in a 0.9% Triton X-100 (pH 7.4) solution. Penicillin G (Ern, S.A., Barcelona, Spain), streptomycin (Reig Jofré S.A., Barcelona, Spain) and dimethyl sulfoxide (DMSO) were also used. The red- β -D-galactopyranoside chlorophenol (CPRG, Roche, Indianapolis, IN) was dissolved in a solution of Triton X-100 0.9% (pH 7.4). Penicillin G (Ern, SA, Barcelona, Spain), streptomycin (Reig Jofré SA, Barcelona, Spain) and Dimethyl sulfoxide (DMSO) were also used.

2.3.3 Trypanocidal activity

The screening assay was performed in 96-well microplates with cultures that had not reached the stationary phase (Vega et al., 2005). Briefly, epimastigotes were seeded at 10–5 mL in 200 mL of liver tryptose broth medium. The plates were then incubated with the drugs (0.1–50 mg/mL) at 28 °C for 72 h, and 50 mL of CPRG solution was added to give a final concentration of 200 mM. The plates were incubated at 37 °C for an additional 6 h and were then read at 595 nm. Each experiment was performed three-times and independently, each concentration was tested in triplicate in each experiment. The efficacy of each compound was estimated by calculating the anti-epimastigotes and the result was expressed in percent inhibition.

2.3.4 Leishmanicidal activity

Promastigote forms (2.5×10^5 parasites/well) were treated with ESEO (15.75 µg/mL to 1000 µg/mL). ESEO was dissolved in Dimethyl sulfoxide (DMSO) used in atoxic concentration. After incubation of 48h at 26 °C, resazurin solution (20 µl) was added and the absorbance was determined at 595nm. Miltefosine that was used as a positive control.

2.4 Cytotoxicity test

NCTC929 fibroblasts were placed in 96-well flat-bottom microdilution plates at a final concentration of 3×10^4 cells/well. The cells were grown at 37 °C in an atmosphere of 5% CO₂. After that, the culture medium was removed and the compounds were added to 200 µL, and performed a new culture for 24 h. After this incubation, 20 µL of a 2 mM solution of resazurin was added to each well. The plates were incubated for 3 h and the reduction of resazurin was measured at 490 and 595 nm against blank control. The toxicity to the fibroblast cell and the activity against the protozoan were compared by using the selectivity index (SI) ratio (LC₅₀ for NCTC-929 cells/LC₅₀ for protozoan).

2.5 Statistical analysis

All assays were carried out in triplicate. The results were expressed as mean values ± standard deviation. The median lethal concentrations (LC₅₀) values of ESEO were calculated by linear regression analysis. The data were analyzed by GraphPad Prism 7.0 program (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

3. RESULTS

The fresh leaves of *E. stipitata* provided oil yield of 0.13%. Table 1 presents the chemical composition of the ESEO analyzed by GC/MS and 39 compounds were identified, corresponding to 100% of the total oil, which is composed oxygenated sesquiterpenes (56.77%), sesquiterpene hydrocarbons (34.33%), oxygenated monoterpenes (8.13%) and monoterpenes hydrocarbons (0.41%). The most abundant volatile constituents of the ESEO were β -eudesmol (15.28%), γ -eudesmol (10.85%), elemol (10.21%), caryophyllene oxide (6.65%), clovene (6.94%) and spathulenol (6.14%).

The *in vitro* antiprotozoal activity of the ESEO is summarized in Table 2. ESEO were able to inhibit *L. braziliensis* and *L. infantum* promastigote forms growth (IC_{50} 37.65 ± 1.25 and 54.71 ± 2.26 , respectively). The LC_{50} on NCTC929 fibroblast was 511.5 ± 24.32 $\mu\text{g/mL}$, showing that *E. stipitata* essential oil was more toxic to the parasites than the fibroblast cells (Table 2). In this sense, ESEO was highly selective to *L. braziliensis* and *L. infantum* promastigotes with SI values of 13.58 and 9.35, respectively. However, ESEO was not active against *T. cruzi* epimastigote.

4. DISCUSSION

The analysis of chemical composition performed by GC/MS of essential oil of *E. stipitata* leaves, collected in São Miguel Island, in Portugal, identified that the main components of the oil were monoterpenes and sesquiterpenes, as α -pinene (14.1%), β -caryophyllene (22.7%), caryophyllene oxide (15.4%) (Medeiros et al., 2003). In another study, the analysis of the essential oil from *E. stipitata* leaves of the city of Macas, in Ecuador, revealed the presence of 30 compounds, of which γ -muurolene, E-caryophyllene and δ -cadinene were the majoritarian (Ronquillo, Cristina and Chicaiza Galarza, 2016). The mentioned EOs chemical analysis showed distinct chemical elements or the same element in different concentrations of those observed in the present study. According to Douglas et al. (2004), variations in the EO chemical composition of the same species from distinct regions can be attributed to differences in the climatic and geographical parameters, such as temperature, altitude, wind direction, rainfall, soil type.

The chemical analysis of volatile compounds from the fruit of *E. stipitata* collected in the city of Manaus, was characterized by the presence of complex sesquiterpenes and the main majoritarian elements were germacrene D (37.65%), β -pinene (12.2%) and α -pinene (10.4%) (Franco and Shibamoto, 2000).

The synergism of the main chemical EO constituents or the presence of other constituents which may also be active at even lower concentrations is an important factor that can lead to good performance of antiparasitic activity (Melo et al., 2011). The EO activity in this study is probably due to the presence of sesquiterpenes, whose biological activities are already well known (Sauter et al., 2011). The β -caryophyllene (sesquiterpenic hydrocarbon) and the nerolidol (oxygenated sesquiterpene) are examples of terpenic substances with well characterized anti-*Leishmania* activity, possibly related to the inhibition of the biosynthesis of isoprenoid cells (Arruda et al., 2005; Santos et al., 2008).

β -eudesmol and γ -eudesmol were the majoritarian EO elements of *Guatteria friesiana*, plant with antiprotozoal activity against *Plasmodium falciparum* (IC₅₀ 0.53 μ g/mL) and different forms of *T. cruzi* (IC₅₀ 10.7 to 11.9 μ g/mL) (Meira et al., 2016). The EO of *Alpinia zerumbet* had antiparasitic activity and presents caryophyllene oxide and β -eudesmol (Mendiola et al., 2015). Caryophyllene oxide was also isolated in different species of *Lippia spp*, known by the relevant antiparasitic activity (Escobar et al., 2010). It has been demonstrated that the EO lipophilic components can affect layers of polysaccharides, fatty acids and phospholipids in plasma membranes of promastigotes forms of *Leishmania sp.*, inducing cell lysis and the release of macromolecules (Di Pasqua et al., 2007). In the cytoplasm, these substances can break down specific metabolic pathways of lipids and proteins or stimulate the mitochondrial membrane depolarization, leading to cell necrosis or apoptosis (Armstrong, 2006; Tariku et al., 2010).

The *E. gracillima* essential oil (EGEO) was highly selective to *Leishmania braziliensis* and *Leishmania infantum* promastigotes with SI of 73.66 and 71.41, respectively. However, EGEO did not inhibit *T. cruzi* similar to the present investigation (Sampaio et al., 2019).

The trypanocidal activity of ethanolic extract of *Eugenia jambolana* L. leaves, harvested in the city of Crato, Ceará, showed activity against the CL-B5 strain of *T. cruzi*, with 100% of inhibition at a concentration of 100 μ g/mL. However, it showed cytotoxicity of 37% in the same concentration (Santos et al., 2012). Of the six species of Caatinga Brazilian plants from different families analyzed by Souza et al. (2017), EO of *E. brejoensis* leaves had the best dose-dependent inhibitory effect on the epimastigotes, trypomastigote and amastigote forms of *T. cruzi*.

5. CONCLUSION

Altogether, the results obtained in this study shows that *E. stipitata* essential oil is a natural source of sesquiterpenes. The study revealed that ESEO showed no relevant

antiparasitic effect against the epimastigotes forms of *T. cruzi*. In addition, the oil strongly inhibited promastigote forms of *L. braziliensis* and *L. infantum*. *E. stipitata* was reported for the first time to have promising antileishmanial potential.

Phytotherapy has become a promising alternative in the parasitic diseases treatment, especially when it is a question of leishmaniasis, since the existing chemotherapy is considered inadequate due to the high drugs toxicity, to the high costs and the growing resistance of pests to these drugs (González and Cerecetto, 2011; Tasdemir et al., 2006). It is likely that the multicomponent nature of EOs may reduce the occurrence of resistance to them because multiple targets need to adapt to hinder their action (Yap et al., 2014). Overall, the data suggest that ESEO could be further investigated for the isolation and purification of the active antileishmanial constituents. Further studies about ESEO-based formulation (long-stability, preclinical and clinical evaluation), in special reference to dermatological gel and nanotechnology approach, should be subjected to further *in vivo* studies in animal models to develop its relevance in phytotherapy application.

DECLARATION OF INTEREST STATEMENT

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships.

REFERENCES

- Armstrong, J.S. 2006. Mitochondrial membrane permeabilization: the sine qua non for cell death. *BioEssays*. 28, 253–260.
- Arruda, D.C., D'Alexandri, F.L., Katzin, A. M., Uliana, S.R.B. 2005. Antileishmanial activity of the terpene nerolidol. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 49, 1679–1687.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils: a review. *Food and Chemical Toxicology*. 46, 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Buckner FS, Verlinde CL, La-Flamme AC and Van Voorhis WC. 1996. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase. *Antimicrob. Agents Chemother*. 40, 2592–7.
- Carneiro, J.N.P., Albuquerque, R.S., Leite, N. F., Machado, A.J.T., Brito, D.I.V., Rólon, M., Veja, C., Coutinho, H.D.M., Morais-Braga, M.F.B. 2015. Avaliação da atividade tripanocida, leishmanicida e citotóxica do geraniol e citronelal. *Caderno de Cultura e Ciência*. 13, 29–36.

Di Pasqua, R., Betts, G., Hoskins, N., Edwards, M., Ercolini, D., Mauriello, G. 2007. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 4863–4870.

Dias, L.C., Dasso, M.A. 2013. Doenças tropicais negligenciadas: uma nova era de desafios e oportunidades. *Química Nova*. 36, 1552–1556, 2013.

Douglas, M.H., Van Klink, J.W., Smallfield, B.M., Perry, N.B., Anderson, R.E., Johnstone, P., Weavers, R.T. 2004. Essential oils from New Zealand manuka: triketone and other chemotypes of *Leptospermum scoparium*. *Phytochemistry*. 65, 1255-1264.

Dubey, N. K., Shukla, R., Kumar, A., Singh, P., Prakash, B. 2010. Prospectives of botanical pesticides in sustainable agriculture. *Current Science*. 98, 479-480.

Escobar, P., Leal, S.M., Herrera, L.V., Martinez, J.R., Stashenko, E. 2010. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp essential oils and their major components. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 105, 184-190.

Franco, M.R.B., Shibamoto, T. 2000. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-caja (*Spondias citrerea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*), and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 1263-1265.

González, M., Cerecetto, H. 2011. Novel compounds to combat trypanosomatid infections: a medicinal chemical perspective. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 21, 699-715.

Hamzavi, S.S., Dashti, A.S., Kadivar, M.R., Pouladfar, G., Pourabbas, B., 2018. Successful treatment of disseminated cutaneous leishmaniasis with liposomal amphotericin B and miltefosine in an eight-year-old girl. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 37(3), 275-277.

Mantovani, A. L., Vieira, G. P., Cunha, W. R., Groppo, M., Santos, R. A., Rodrigues, V., Magalhães, L.G., Crotti, A. E. 2013. Chemical composition, antischistosomal and cytotoxic effects of the essential oil of *Lavandula angustifolia* grown in Southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(6), 877-884.

Marin-Neto, J.A., Rassi Júnior, A., Avezum Júnior, A., Mattos, A.C., Rassi, A., Morillo C.A., Sosa-Estani, S., Yusuf, S. 2009. The benefit trial: testing the hypothesis that trypanocidal therapy is beneficial for patients with chronic Chagas heart disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro. 104, 319–324.

Medeiros, J.R., Medeiros, N., Medeiros, H., Davin, L.B., Lewis, N.G. 2003. Composition of the bioactive essential oils from the leaves of *Eugenia stipitata* McVaugh ssp. *sororia* from de Azores. *Journal of Essential Oil Research*. 15, 293-295.

Meira, C.S., Menezes, L.R.A., Santos, T.B., Macedo, T.S., Fontes, J.E.N., Costa, E.V., Pinheiro, M.L.B., Da Silva, T.B., Teixeira, G.E, Soares, M.B.P. 2016. Chemical composition and antiparasitic activity of essential oils from leaves of *Guatteria friesiana* and *Guatteria pogonopus* (Annonaceae). *Journal of Essential Oil Research*. 29, 156-162.

Melo, N.I., Magalhaes, L.G., Carvalho, C.E., Wakabayashi, K.A., Aguiar, P.G., Ramos, R.C., Mantovani, A.L., Turatti, I.C., Rodrigues, V., Groppo, M., Cunha, W.R., Veneziani, R.C.,

Crotti, A.E. 2011. Schistosomicidal activity of the essential oil of *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) against adult *Schistosoma mansoni* worms. *Molecules*. 16, 762-773.

Mendiola, J., Pino, J.A., Fernández-Calienes, A.; Mendoza, D.; Herrera, P. 2015. Chemical composition and *in vitro* antiplasmodial activity of essential oils of leaves and flowers of alpinia zerumbet grown in Cuba. *PharmacologyOnline*. 2, 1-5.

Nocentini, A., Osman, S.M., Almeida, I.A., Cardoso, V., Alasmay, F.A.S., AlOthman, Z., Vermelho, A. B, Grateri, P., Supuran, C. T. 2019. Appraisal of anti-protozoan activity of nitroaromatic benzenesulfonamides inhibiting carbonic anhydrases from *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania donovani*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 1164-1171.

Ronquillo, C., Cristina, E., Chicaiza Galarza, T. S. 2016. Evaluación de la actividad antioxidante bioautográfica de 5 variedades de aceites esenciales amazónicos (*Ocotea quixos*; *Psidium guajava*; *Eugenia stipitata*; *Piper auritum*; *Piper imperiale*) (Bachelor's thesis).

Sampaio, M. G. V.; Santos, C. R. B.; Vandesmet, L. C. S.; Santos, B. S.; Santos, I. B. S.; Correia, M. T. S.; Martins, A. L. B.; Silva, L.C. N.; Menezes, I. R. A.; Gomez, M. C. V.; Silva, M. V. 2019. Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil. *Natural Product Research*. 33, (24).

Santoro, G.F.; Cardoso, M.G.; Guimarães, L.G.; Freire, J.M.; Soares, M.J. 2007. Anti-proliferative effect of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (lemongrass) on intracellular amastigotes, bloodstream trypomastigotes and culture epimastigotes of *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida). *Parasitology*. 134, 1649–1656.

Santos, A.O., Ueda-Nakamura, T., Dias Filho, B.P., Veiga Júnior, V.F., Pinto, A.C., Nakamura, C.V. 2008. Effect of Brazilian copaiba oils on *Leishmania amazonensis*. *Journal of Ethnopharmacology*. 120, 204–208.

Santos, K.K.A., Matias, E.F.F., Tintino, S.R., Souza, C.E.S., Braga, M.F.B.M., Guedes, G.M.M., Rolón, M., Vega, C., Arias, A.R., Costa, J.G.M., Menezes, I.R.A., Coutinho, H.D.M. 2012. Cytotoxic, trypanocidal, and antifungal activities of *Eugenia jambolana* L. *Journal of Medicinal Food*. 15, 66-70.

Sauter, I.P., Santos, J.C., Apel, M.A., Cibulski, S.P., Roehe, P.M., Von Poser, G.L., Rott, M.B. 2011. Amoebicidal activity and chemical composition of *Pterocaulon polystachyum* (Asteraceae) essential oil. *Parasitology Research*. 109, 575-580.

Sharifi-Rad, J., Sureda, A, Tenore, G.C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., Tundis, R., Sharifi-Rad, M., Loizzo, M.R., Ademiluyi, A.O., Sharifi-Rad, R., Ayatollahi, S.A., Iriti, M. 2017. Biological activities of essential oils: from plant chemoecology to traditional healing systems. *Molecules*. 22, 70.

Silva, V. D., Almeida-Souza, F., Teles, A. M., Neto, P. A., Mondego-Oliveira, R., Mendes Filho, N. E., Taniwaki, N.N., Abreu-Silva, A.L., Calabrese, K.D.S., Mouchrek Filho, V. E. 2018. Chemical composition of *Ocimum canum* Sims. essential oil and the antimicrobial, antiprotozoal and ultrastructural alterations it induces in *Leishmania amazonensis* promastigotes. *Industrial Crops and Products*, 119, 201-208.

Souza, L.I.O., Bezzera-Silva, P.C., Navarro, D.M.D.A.F., Da Silva, A.G., Correia, M. T.D.S., Da Silva, M.V., De Figueiredo, R.C.B.Q. 2017. The chemical composition and trypanocidal activity of volatile oils from Brazilian Caatinga plants. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 96, 1055-1064.

Souza, A. M., de Oliveira, C. F., de Oliveira, V. B., Betim, F. C. M., Miguel, O. G., & Miguel, M. D. 2018. Traditional uses, Phytochemistry, and antimicrobial activities of *Eugenia* species—a review. *Planta Medica*, 84(17), 1232-1248.

Tariku, Y., Hymete, A., Hailu, A., Rohloff, J. 2010. Essential-oil composition, antileishmanial, and toxicity study of *Artemisia abyssinica* and *Satureja punctata* ssp. *punctata* from Ethiopia. *Chemistry and Biodiversity*. 7, 1009–1018.

Tasdemir, D., Kaiser, M., Brun, R., Yardley, V., Schmidt, T.J., Tosun, F., Rüedi, P., 2006. Antitrypanosomal and leishmanicidal activities of flavonoids and their analogues: *in vitro*, *in vivo*, structure-activity relationship, and quantitative structure-activity relationship studies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 50, 1352–1364.

Urbina, J. A. 2002. Chemotherapy of Chagas disease. *Current Pharmaceutical Design*, 8, 287–295.

Vega, C., Rolón, M., Martínez-Fernández, A. R., Escario, J. Á., Gómez-Barrio, A. 2005. A new pharmacological screening assay with *Trypanosoma cruzi* epimastigotas expressing beta-galactosidase. *Parasitology Research*. 95, 296-298.

WHO, 2018. Leishmaniasis. Available from: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>>. Access : 04 march. 2018.

WHO. 2019. Available from: <http://www.who.int/chagas/en/>; <http://www.who.int/leishmaniasis/en/>.

Yahia, E. 2011. *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*, vol. 2. Woodhead Publishing, Cambridge.

Yap, P.S.X., Yiap, B.C., Ping, H.C., Lim, S.H.E. 2014. Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. *The Open Microbiology Jou*

Table 1. Chemical composition of the essential oil from *Eugenia stipitata* McVaugh

Compound	Retention Index		Percentage composition (%)
	Determined	Literature	
β -Pinene	982	980	0.41±0.00
o-Cymene	1022	1022	0.12±0.00
Eucalyptol	1033	1033	2.61±0.03
Linalool	1097	1098	0.24±0.01
δ -Elemene	1138	1139	0.53±0.00
Pinocarveol	1139	1139	0.49±0.00
Terpinen-4-ol	1175	1177	1.51±0.04
α -Terpineol	1189	1189	2.62±0.1
Myrtenol	1194	1194	0.40±0.00
Myrtenal	1192	1193	0.26±0.01
(E)-Pinocarvyl acetate	1298	1298	0.24±0.00
α -Cubebene	1350	1351	0.95±0.00
Ylangene	1370	1373	0.19±0.00
β -Bourbonene	1384	1384	1.99±0.10
β -Cubebene	1390	1390	4.19±0.20
β -Elemene	1392	1391	1.09±0.00
β -Caryophyllene	1415	1417	4.38±0.10
β -Cedrene	1418	1418	4.33±0.15
Aromadendrene	1437	1439	1.12±0.10
Clovene	1454	1454	6.94±0.60
α -Chamigrene	1481	1476	0.49±0.00
α -Amorphene	1485	1485	0.86±0.00
Ledene	1488	1493	0.79±0.01
α -Muurolene	1497	1499	0.92±0.01
β -Bisabolene	1500	1500	0.70±0.00
γ -Cadinene	1513	1513	4.03±0.20
α -Cadinene	1542	1537	0.52±0.00
α -Calacorene	1544	1544	0.31±0.00
Elemol	1550	1548	10.21±1.50
Spathulenol	1578	1576	6.14±0.5
Caryophyllene oxide	1571	1573	6.65±0.35
Viridiflorol	1586	1587	1.56±0.01
Epiglobulol	1588	1588	0.81±0.00
Cubenol	1621	1625	0.48±0.00
Alloaromadendrene oxide	1633	1625	1.06±0.01
γ-Eudesmol	1635	1630	10.85±0.80
8-Cedren-13-ol	1688	1688	1.20±0.01
tau-Cadinol	1640	1640	2.53±0.15
β-Eudesmol	1649	1652	15.28±0.90
Total			100.00

Notes: Percentage composition (%): percentage of compound on the samples

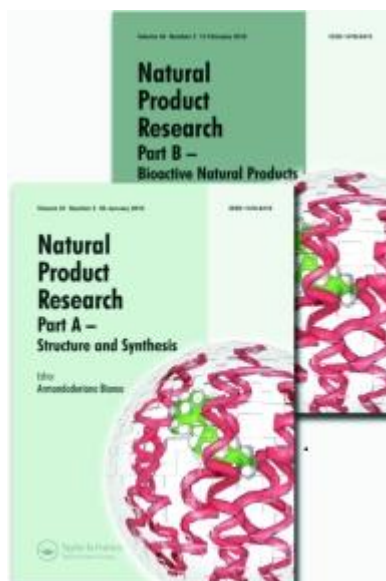
Table 2. Antiprotozoal activity and cytotoxicity of *Eugenia stipitata* essential oil.

Compound	Fibroblast	<i>L. braziliensis</i>		<i>L. infantum</i>		<i>T. cruzi</i>	
	LC ₅₀ (µg/mL)	LC ₅₀ (µg/mL)	SI	LC ₅₀ (µg/mL)	SI	LC ₅₀ (µg/mL)	SI
ESEO	511.5±24.32	37.65±1.25	13.58	54.71±2.26	9.35	>1000	ND
Benznidazole	>100	ND	ND	ND	ND	10±0.58	ND
Miltefosine	>256	16±0.70	ND	8±0.14	ND	ND	ND

Notes: ESEO - *Eugenia stipitata* essential oil; LC₅₀ - median lethal concentration; SI - selectivity index; ND – Not determined

3.3 ARTIGO 3 - CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT AND ANTIPROTOZOAL ACTIVITY OF *Eugenia gracillima* KIAERSK. LEAVES ESSENTIAL OIL

Artigo publicado no periódico *Natural Product Research*, 2019. DOI: 10.1080/14786419.2019.1644506



Fator de impacto: 1.999

Classificação A4 no Qualis para Ciências Biológicas I



Natural Product Research
Formerly Natural Product Letters



ISSN: 1478-6419 (Print) 1478-6427 (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>

Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil

Mariana Gomes Vidal Sampaio, Cícero Ramon Bezerra Dos Santos, Lilian Cortez Sombra Vandesmet, Bruno Souza Dos Santos, Izabelly Bianca Da Silva Santos, Maria Tereza dos Santos Correia, Arthur Lima de Berrêdo Martins, Luis Claudio Nascimento da Silva, Irwin Rose De Alencar Menezes, Maria Celeste Veja Gomez & Márcia Vanusa Da Silva

To cite this article: Mariana Gomes Vidal Sampaio, Cícero Ramon Bezerra Dos Santos, Lilian Cortez Sombra Vandesmet, Bruno Souza Dos Santos, Izabelly Bianca Da Silva Santos, Maria Tereza dos Santos Correia, Arthur Lima de Berrêdo Martins, Luis Claudio Nascimento da Silva, Irwin Rose De Alencar Menezes, Maria Celeste Veja Gomez & Márcia Vanusa Da Silva (2019): Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil, Natural Product Research, DOI: [10.1080/14786419.2019.1644506](https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1644506)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1644506>



View supplementary material



Published online: 22 Jul 2019.



Submit your article to this journal



View Crossmark data

SHORT COMMUNICATION



Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil

Mariana Gomes Vidal Sampaio^a, Cícero Ramon Bezerra Dos Santos^a, Lilian Cortez Sombra Vandesmet^a, Bruno Souza Dos Santos^a , Izabelly Bianca Da Silva Santos^a, Maria Tereza dos Santos Correia^a , Arthur Lima de Berrêdo Martins^b, Luis Claudio Nascimento da Silva^b , Irwin Rose De Alencar Menezes^c, Maria Celeste Veja Gomez^d and Márcia Vanusa da Silva^a

^aBiochemistry Department, Bioscience Center, Federal University of Pernambuco – UFPE, Recife, Pernambuco, Brazil; ^bPró-reitoria de Pós-graduação, Pesquisa e Extensão, Universidade Ceuma, São Luís, Brazil; ^cPharmacology and Medicinal Chemistry, Regional University of Cariri, Crato, Ceara, Brazil; ^dCenter for the Development of Scientific Investigation - CEDIC, Fundación Moisés Bertoni/Laboratorios Díaz Gill, Asuncion, Paraguay

ABSTRACT

This work evaluated the volatile composition, antioxidant and antiprotozoal activities of the essential oil obtained from leaves of *Eugenia gracillima* Kiaersk. (EGEO) grown in Brazilian Northeast area (Araçá, Brazil). The volatile compounds of EGEO were analyzed by GC and GC–MS and its chemical composition is mainly composed of sesquiterpene hydrocarbons (91.22%), oxygenated sesquiterpenes (7.45%) and monoterpene (1.01%). The most abundant volatile constituents of the EGEO were germacrene D (16.10%), γ -muurolene (15.60%), bicyclogermacrene (8.53%), germacrene B (7.43%), and Δ -elemene (6.06%). The oil showed weak to moderate antioxidant activity. EGEO was highly selective to *Leishmania braziliensis* and *Leishmania infantum* promastigotes with selective indexes of 73.66 and 71.41, respectively. EGEO did not inhibit *Trypanosoma cruzi*. These data suggest that the *E. gracillima* essential oil is a relevant source of lead compounds for development of anti-*Leishmania* drugs.

ARTICLE HISTORY

Received 10 April 2019
Accepted 7 July 2019

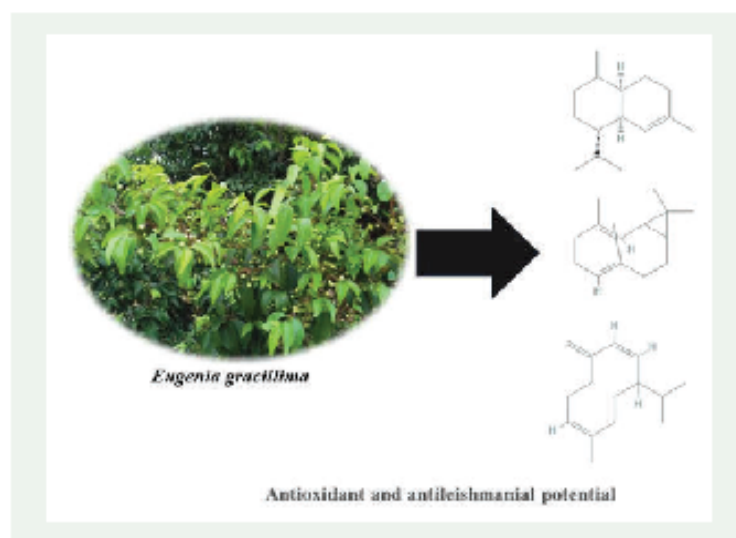
KEYWORDS

Eugenia gracillima; essential oil; antioxidant activity; antiprotozoal activity

CONTACT Mariana Gomes Vidal Sampaio  marianavidalsampaio@gmail.com

 Supplemental data for this article can be accessed at <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1644506>.

© 2019 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group



1. Introduction

Despite the expressive number of affected individuals, Leishmaniasis and Chagas' disease remain with the status of neglected pathologies. Delayed diagnosis allied with the absence of efficient therapeutic strategies lead to important host complications (Momcilovic et al. 2019). In addition, the drugs used in treatment of these diseases are associated with serious side effects and emergence of drug-resistant strains (Bemudez et al. 2016; Tiwari et al. 2018). This panorama denotes the urgent need to develop new therapeutic resources against these clinical conditions.

Essential oils (EO) are complex mixtures of volatile compounds that represent a source of lead molecules for drug discovery. EO from *Eugenia* plants (Myrtaceae) have showed several pharmacological actions, including antiprotozoal (against *Leishmania braziliensis*, *Leishmania infantum* and *Trypanosoma cruzi*) and antioxidant activities (Rodrigues et al. 2013; Siebert et al. 2015; Carneiro et al. 2017). Herein, we evaluated the chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activities of the essential oil obtained from leaves of *Eugenia gracillima* Kiaersk. (EGEO), also known under the synonym *Eugenia klappenbachiana* Mattos & D. Legrand, grown in Brazilian Northeast area (Araípe, Pernambuco, Brazil).

2. Results and discussion

2.1. Chemical composition of EGEO

In this work, the chemical composition of EGEO and some pharmacological activity was evaluated. EGEO was obtained from fresh leaves of *E. gracillima* with a yield of about 0.136% (w/w). The employed technique of GC and GC-MS analyses allowed them to observe majority volatile compounds. A total of 42 compounds were identified corresponding to more than 99% of the total volatile components (Table S1).

EGEO is mainly composed of sesquiterpene hydrocarbons (91.22%), oxygenated sesquiterpenes (7.45%) and monoterpene (1.01%). The most abundant constituents of the EGEO were germacrene D (16.10%), γ -muurolene (15.60%), bicyclogermacrene (8.53%), germacrene B (7.43%), and Δ -elemene (6.06%).

Although this chemical composition is similar to other *Eugenia* plants, these results differ from a previous characterization of an essential oil extracted from *E. gracillima* (= *E. klappenbachiana*) grown in Paraná state (South area of Brazil), whose major components were derived from the aromadendrane skeleton, such as globulol (8.7%), viridiflorene (6.9%), epi-globulol (6.8%) and spathulenol (5.9%) (Apel et al. 2002). These differences may result from the interaction of several factors, including soil composition, solar radiation, collection season, biotic factor (microorganisms, insects or other plants) (Moghaddam and Farhadi 2015; De Alencar Filho et al. 2017, Morelli et al. 2017).

2.2. Antioxidant activity of *Eugenia gracillima* essential oil

Given the relevance of oxidative stress in the pathogenesis of diseases as cancer and inflammatory disorders, we evaluated the antioxidant properties of the EGEO using different methods: DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS [2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt] radicals scavenger assays and total antioxidant fosfomolibdenum assays (Table S2). The oil weakly inhibited the DPPH and ABTS radicals (IC_{50} of 15.67 mg/mL and 15.16 mg/mL). However, it showed a high total antioxidant potential when compared to ascorbic acid (62.29%). Some other oils from *Eugenia* plants have been demonstrated antioxidant activity (Cameiro et al. 2017; Siebert et al. 2015).

2.3. Antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* essential oil

Following, we analyzed whether EGEO could inhibit *Leishmania* ssp. and *T. cruzi*. As shown in Table S3, the oil exhibited higher activity towards the promastigote forms of *L. braziliensis* (IC_{50} = 74.64 μ g/mL) and *L. infantum* (IC_{50} = 80.4 μ g/mL), while it was not active against *T. cruzi* (IC_{50} = 1487 μ g/mL). In order to determine the selective indexes (SI) of EGEO, its cytotoxicity was evaluated against NCTC-929 murine fibroblasts. EGEO showed low cytotoxicity with IC_{50} value of 5498 μ g/mL.

In this sense, EGEO was highly selective to *L. braziliensis* and *L. infantum* promastigotes with SI values of 73.66 and 71.41, respectively. Similar results were observed to the essential oil obtained from *Eugenia uniflora* (also mostly composed by sesquiterpenes) which exhibited SI values around 20 against *L. amazonensis* (Rodrigues et al. 2013). Furthermore, oils rich in sesquiterpenes have been pointed out as efficient leishmanicidal agents (Rodrigues et al. 2013; Moreira et al. 2017).

After infection by *Leishmania*, both superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) and nitric oxide (NO) molecules produced after monocyte phagocytosis and they could participate in several events, such as *Leishmania* killing, act as pro and/or anti-inflammatory (inducing neutrophil apoptosis) molecules, and also be involved in human immunopathology. The use of topical formulations with antioxidant activity could be beneficial in the control

of leishmanial cutaneous lesions, due it could attenuate inflammatory signs by reducing tissue damage (Neira, Mantilla, and Escobar 2019). The development of formulation contain EGEO could be an appropriate candidate for use in leishmaniosis.

3. Conclusion

Altogether, the results obtained in this study shows that *E. gracillima* essential oil is a source of sesquiterpenes (such germacrene D and B, γ -muurolene, bicyclogermacrene) with relevance for pharmaceutical, cosmetic and food industries. In addition, the oil strongly inhibited promastigote forms of *L. braziliensis* and *L. infantum*. *E. gracillima* was reported for the first time to have promising antileishmanial potential. Overall, the data suggest that EGEO could be further investigated for the isolation and purification of the active antileishmanial constituents. Further studies about EGEO-based formulation (long-stability, preclinical and clinical evaluation), in special reference to dermatological gel and nanotechnology approach, should be subjected to further *in vivo* studies in animal models to develop its relevance in biomedical applications.

Disclosure statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships.

Funding

The authors would like to express their gratitude to the following Brazilian agencies: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), *Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco* (FACEPE) and *Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão* (FAPEMA). Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco; Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão; Fundación Moisés Bertoni/Laboratorios Díaz Gill.

ORCID

Bruno Souza Dos Santos  <http://orcid.org/0000-0003-4644-0047>
 Maria Tereza dos Santos Correia  <http://orcid.org/0000-0003-4920-9975>
 Luis Claudio Nascimento da Silva  <http://orcid.org/0000-0002-4206-0904>

References

- Apel MA, Sobral M, Henriques AT, Menut C, Bessière JM. 2002. Chemical composition of the essential oils from southern Brazilian *Eugenia* species. Part IV: section *Racemosae*. *J Essential Oil Res.* 14(4):290–292.
- Bermudez J, Davies C, Simonazzi A, Real JP, Palma S. 2016. Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas disease. *Acta Trop.* 156:1–16. Apr

- Cameiro NS, Alves CCF, Alves JM, Egea MB, Martins CHG, Silva TS, Bretanha LC, Balleste MP, Midke GA, Silveira EV, et al. 2017. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from leaves and flowers of *Eugenia klotzschiana* Berg (Myrtaceae). *An Acad Bras Cienc.* 89(3):1907–1915.
- De Alencar Filho JMT, Araújo LDC, Oliveira AP, Guimarães AL, Pacheco AGM, Silva FS, Cavalcanti LS, Lucchese AM, Almeida J, Araújo ECC. 2017. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves of *Croton heliotropifolius* in different seasons of the year. *Braz J Pharm.* 27(4):440–444.
- Moghaddam M, Farhadi N. 2015. Influence of environmental and genetic factors on resin yield, essential oil content and chemical composition of *Ferula assa-foetida* L. populations. *J Appl Res Med Aromat Plants.* 2:69–76.
- Momcilovic S, Cantacessi C, Arsic-Arsenijevic V, Otranto D, Tasic OS. 2019. Rapid diagnosis of parasitic diseases: current scenario and future needs. *Clin Microbiol Infect.* 25:290–309. Mar
- Moreira RRD, Martins GZ, Varandas R, Cogo J, Perego CH, Roncoli G, Sousa MDC, Nakamura CV, Salgueiro L, Cavaleiro C. 2017. Composition and leishmanicidal activity of the essential oil of *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae). *Nat Prod Res.* 31(24):2905–2908.
- Morelli F, Ferarrese L, Munhoz CL, Alberton O. 2017. Antimicrobial activity of essential oil and growth of *Ocimum basilicum* L. inoculated with mycorrhiza and humic substances applied to soil. *J Genet Mol Res.* 16(3):1–11.
- Neira LF, Mantilla JC, Escobar P. 2019. Anti-leishmanial activity of a topical miltefosine gel in experimental models of New World cutaneous leishmaniasis. *J Antimicrob Chemother.* 74(6): 1634–1641.
- Rodrigues KA, Amorim LV, de Oliveira JM, Dias CN, Moraes DF, Andrade EH, Maia JG, Carneiro SM, Carvalho FA. 2013. *Eugenia uniflora* L. essential oil as a potential anti-Leishmania agent: Effects on *Leishmania amazonensis* and possible mechanisms of action. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013:279726.
- Siebert DA, Tenfen A, Yamanaka CN, de Cordova CM, Scharf DR, Simionatto EL, Alberton MD. 2015. Evaluation of seasonal chemical composition, antibacterial, antioxidant and anticholinesterase activity of essential oil from *Eugenia brasiliensis* Lam. *Nat Prod Res.* 29:289–292.
- Tiwari N, Gedda MR, Tiwari VK, Singh SP, Singh RK. 2018. Limitations of current therapeutic options, possible drug targets and scope of natural products in control of leishmaniasis. *Mini Rev Med Chem.* 18:26–41.

Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil

Mariana Gomes Vidal Sampaio^a, Cicero Ramon Bezerra Dos Santos^a, Lilian Cortez Sombra Vandesmeta^a, Bruno Souza Dos Santos^a, Izabelly Bianca Da Silva Santos^a, Maria Tereza dos Santos Correia^a, Arthur Lima de Berrêdo Martins^b, Luis Claudio Nascimento da Silva^b, Irwin Rose De Alencar Menezes^c, Maria Celeste Veja Gomez^d, Márcia Vanusa da Silva^a.

^aBiochemistry Departament, Bioscience Center, Federal University of Pernambuco – UFPE, Recife, Pernambuco, Brazil.

^bPró-reitoria de Pós-graduação, Pesquisa e Extensão, Universidade Ceuma, São Luís, Brazil.

^cPharmacology and Medicinal Chemistry, Regional University of Cariri, Crato, Ceara, Brazil.

^dCenter for the Development of Scientific Investigation - CEDIC, Fundación Moisés Bertoni /Laboratorios Diaz Gill, Asuncion, Paraguay.

*Corresponding Author: Mariana Gomes Vidal Sampaio. Biochemistry Departament, Biociencia Center. Federal University of Pernambuco – UFPE, Recife (PE), Brazil.
Address: Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, CEP: 50.670-901. Phone: +55 (81) 2126.8540

E-mail: marianavidalsampaio@gmail.com

Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil

This work evaluated the volatile composition, antioxidant and antiprotozoal activities of the essential oil obtained from leaves of *Eugenia gracillima* Kiaersk. (EGEO) grown in Brazilian Northeast area (Araripe, Brazil). The volatile compounds of EGEO were analyzed by GC and GC-MS and its chemical composition is mainly composed of sesquiterpene hydrocarbons (91.22%), oxygenated sesquiterpenes (7.45%) and monoterpene (1.01%). The most abundant volatile constituents of the EGEO were germacrene D (16.10%), γ -muurolene (15.60%), bicyclogermacrene (8.53%), germacrene B (7.43%), and Δ -elemene (6.06%). The oil showed weak to moderate antioxidant activity. EGEO was highly selective to *Leishmania braziliensis* and *Leishmania infantum* promastigotes with selective indexes of 73.66 and 71.41, respectively. EGEO did not inhibit *Trypanosoma cruzi*. These data suggest that the *E. gracillima* essential oil is a relevant source of lead compounds for development of anti-*Leishmania* drugs.

Keywords: *Eugenia gracillima*, essential oil, antioxidant activity, antiprotozoal activity

1. Experimental section

1.1. Plant material

The leaves of *E. gracillima* were collected in the area of native vegetation, located in *Serra dos Paus Dóias* in *Chapada do Araripe* (Exu, Pernambuco; latitude 7° 21"S, longitude 39° 53" W and altitude 884m), between July and August 2017, under authorization of the responsible authority Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) using the license SISBIO 59070. The plant material was identified by Dr. Maria Arlene Pessoa da Silva from the Laboratory of Microbiology and Molecular Biology of the Regional University of Cariri (URCA). The voucher (registration number: 13.055) was deposited in the URCA Herbarium (*Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima*; HCDAL).

1.2. Sample preparation and chemical characterization of *E. gracillima* essential oil

The essential oil from the leaves of *E. gracillima* (EGEO) was obtained by hydrodistillation method. The EO was filtered, weighed and stored in a dark at 4° C until use. The EO was analysed by gas chromatography coupled to Shimadzu GCMS-QP2010 mass spectrometry (CG-MS) using Rtx®-5MS capillary column (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm). The electron ionization mode was used at 70 eV. and helium (99.999%) was employed as the carrier gas (1 mL/min). The following temperature program was used: 100 °C (3 min) at 310 °C (3.5 °C/min). The identification of the individual volatile components was carried out by comparison with values of retention indices, obtained by co-injection of oil samples and a set of C₉–C₃₀ linear hydrocarbons, and the MS data acquired for each volatile component were matched with the data available in the mass spectral library - MassFinder 4 (Dr. Hochmuth scientific consulting, Hamburg, Germany); NIST08 Mass Spectral Library (ChemSW Inc. Fairfield, CA, USA); Wiley Registry™ of Mass Spectral Data 9th Edition (Wiley, Hoboken, NJ, USA) and with other published mass spectral data (Adams, 2007). For the quantitative analysis, a Shimadzu GC2010 Plus gas chromatograph equipped with a FID detector, with the same column and operating conditions above described were used. The percentage volatile composition was performed by the

normalization method from the GC peak areas, in relation to the combined area of all peaks. All analyses were carried out in triplicate.

1.3. Cell cultures

Tests with *T. cruzi* were performed using clone CL-B5 (Buckner et al., 1996) carrying *Escherichia coli* β -galactosidase (*lacZ*) gene, kindly supplied by Dr. F. Buckner through the Gorgas Memorial Institute (Panama). The epimastigote forms were cultured at 28 °C in tryptose broth for liver infusion (Difco, Detroit, MI) supplemented with 10% Fetal Bovine Serum (FBS) (Gibco, Carlsbad, CA), penicillin (Ern, SA, Barcelona, Spain) and streptomycin. Cells were collected for testing in the exponential growth phase.

Cultures of *Leishmania braziliensis* (MHOM/CO/88/UA301) and *L. infantum* (MHOM/ES/92/BCN83) were obtained from the Institute of Health Sciences Research (Paraguay). The strains were grown at 22 °C in Schneider's *Drosophila* medium supplemented with 20% FBS.

The cytotoxicity assays were performed using NCTC-929 murine fibroblasts obtained from the National Collection of Culture Types. The cells were cultured in Minimum Essential Medium supplemented with SBF (10%), penicillin G (100 U/ml) and streptomycin (100 mg/ml). The cultures were maintained at 37 °C in a humidified atmosphere with 5% CO₂.

1.4. Anti-*T. cruzi* assay

Aliquot of epimastigote forms of *T. cruzi* suspension (200 μ L at 1×10^5 per milliliter) were treated with different concentrations of EGEO (15.75 μ g/mL to 1000 μ g/mL) at 28 °C. After 72h, 200 μ M of red- β -D-galactopyranoside chlorophenol (CPRG; dissolved in a solution of 0.9% Triton X-100) were used in order to evaluate parasite viability. The plates were incubated at 37 °C for 6 h and then the absorbance was determined at 595 nm. Benznidazole was the reference drug.

1.5. Leishmanicidal activity

Promastigote forms (2.5×10^5 parasites/well) were treated with EOEG (15.75 μ g/mL to 1000 μ g/mL). After incubation of 48h at 26 °C, resazurin solution (20 μ l) was added and the absorbance was determined at 595nm. Miltefosine that was used as a positive control.

1.6. Cytotoxicity evaluation

NCTC-929 were seeded (100 μ L; 3×10^4 cells/well) in 96-well plates with of RPMI 1640 culture medium per well. Cells were grown overnight at 37 °C and 5% CO₂. The medium was removed, and the new medium were added containing EGEO 15.75 μ g/mL to 1000 μ g/mL. Cell viability was evaluated using resazurin as described above. The toxicity to the fibroblast cell and the activity against the protozoan were compared by using the selectivity index (SI) ratio (IC₅₀ for NCTC-929 cells/IC₅₀ for protozoan).

1.7. Antioxidant potential

The antioxidant potential of EGEO were evaluated by the traditional methods of DPPH and ABTS radicals inhibition and phosphomolybdenum assay (referred as total antioxidant activity) (Blois 1958, Prieto et al. 1999, Re et al. 1999). Total antioxidant activity (%) was expressed as ascorbic acid equivalent, relative to 1mg/mL ascorbic acid to 1mg/mL EGEO.

1.8. Statistical analysis

The experiments were performed in triplicate with at least two independent repetition, data were presented as means $\pm$ standard variation (SD) or percentages. Statistical analyses were performed using the software GraphPad Prism version 5.0. Data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey test. A p-value of <0.05 was considered as statistically significant. IC₅₀ values were determined by linear regression.

References

- Apel MA, Sobral M, Henriques AT, Menut C, Bessière JM. 2002. Chemical composition of the essential oils from southern Brazilian *Eugenia* species. Part IV: section *Racemosae*. *Journal of Essential Oil Research*. 14(4): 290-292.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*.181:1199.
- Prieto P, Pineda M, Aguilar M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*.269:337-341.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. May;26:1231-1237.

Table S1. Chemical composition of the essential oil of *Eugenia gracillima* Kiaersk.

Compound	Retention Index		Percentage composition(%) reported by this work	Percentage composition(%) reported by Apel et al., 2002
	Determined ^a	Literature ^b		
δ-elemene	1336	1335	6.06±0.08	-
α-cubebene	1345	1345	0.12±0.00	-
α-ylangene	1376	1373	0.50±0.01	-
isolekene	1375	1374	1.30±0.03	-
copaene	1377	1374	0.60±0.00	1.8
guaia-6,9-diene	1380	1379	0.68±0.04	-
β-bourbonene	1387	1387	0.71±0.00	0.2
β-cubebene	1388	1387	0.11±0.00	-
β-elemene	1390	1389	1.41±0.08	0.7
sativene	1392	1390	0.21±0.00	-
α-gurjunene	1410	1409	4.03±0.02	-
β-copaene	1432	1430	0.31±0.05	-
bergamotene	1433	1432	4.89±0.06	-
γ-elemene	1434	1434	0.73±0.00	-
α-guaiene	1437	1437	1.80±0.08	-
cadina-3,5-diene	1449	1448	0.26±0.09	-
α-humulene	1454	1452	1.64±0.11	0.5
alloaromadendrene	1458	1458	0.90±0.00	2.2
caryophyllene-9-epi-(o)	1461	1464	0.40±0.00	-
cumacrene	1470	1470	0.27±0.00	-
γ-muurolene	1478	1478	15.60±0.22	3.1
γ-ambophene	1482	1483	3.14±0.00	-
germacrene D	1483	1484	16.10±0.38	-
β-selinene	1490	1489	0.16±0.00	-
bicyclogermacrene	1501	1500	8.53±0.09	-
α-muurolene	1503	1500	0.73±0.00	0.6
β-guaiene	1504	1502	0.84±0.01	-
δ-cadinene	1524	1522	6.23±0.16	1.8
zonarene	1528	1528	0.93±0.00	-
α-cadinene	1537	1537	2.33±0.17	-
selina-3,7(11)-diene	1548	1545	0.15±0.00	-
elemol	1549	1548	0.61±0.00	-
germacrene B	1561	1559	7.43±0.62	-
spathulenol	1578	1577	0.67±0.00	5.9
thujopsan-2β-ol	1589	1588	0.29±0.00	-
globulol	1591	1590	1.03±0.05	8.7
1h-cycloprope-azulen-4-ol	1592	1592	1.01±0.10	-
viridiflorol	1593	1592	0.42±0.00	-
isopspathulenol	1626	1625	1.25±0.09	3.3
torreyol	1644	1644	1.27±0.12	-
cubenol	1645	1645	3.58±0.19	-
α-cadinol	1656	1654	0.45±0.00	2.9
decanal	-	-	-	0.7
2-undecanone	-	-	-	0.2
β-caryophyllene	-	-	-	0.7
aromadendrene	-	-	-	2.2
γ-curcumenone	-	-	-	2.9
viridiflorene	-	-	-	6.9
β-bisabolene	-	-	-	3.0
γ-cadinene	-	-	-	1.2
caryophyllene oxide	-	-	-	3.3
epi-globulol	-	-	-	6.8
10-epi-γ-eudesmol	-	-	-	4.8
γ-eudesmol	-	-	-	2.5
α-cadinol	-	-	-	3.1
14-hidroxi-α-muurolene	-	-	-	1.8
bicyclovetivemol	-	-	-	3.6
Total			99.68	75.4

Notes: ^aRetention indices calculated on Kfx-5MS from retention times in relation to those of a series of C₇-C₁₀ n-alkanes; ^bRetention index reported in the literature - mass spectral libraries MassFinder 4, NIST08, Wiley RegistryTM of Mass Spectral Data 9th Edition and with other published mass spectral data (Adams, 2007).

Table S2: Antioxidant activity of *Eugenia gracillima* essential oil

Sample	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)	ABTS IC ₅₀ (mg/mL)	Total antioxidant activity (%)
EGEO	15.67 ± 1.31 ^b	15.16 ± 0.73 ^b	62.29 ± 5.56
BHT	0.0024 ± 0.0001 ^c	0.102 ± 0.028 ^c	ND*
Ascorbic acid	0.0087 ± 0.0044 ^c	0.0036 ± 0.0002 ^d	100

Notes: EGEO - *Eugenia gracillima* essential oil; ND* - Not Determined; BHT - Butylated hydroxy toluene. Values in the column followed by a different letter superscript (a-d) are significantly different ($p < 0.05$) and values having same superscript are not statistically significant.

Table S3. Antiprotozoal activity and cytotoxicity of *Eugenia gracillima* essential oil.

Compound	Fibroblast	<i>L. braziliensis</i>		<i>L. infantum</i>		<i>T. cruzi</i>	
	IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)	SI	IC ₅₀ (µg/mL)	SI	IC ₅₀ (µg/mL)	SI
EGEO	5498±141.20	74.64±0.99	73.66	76.99±0.41	71.41	>1000	ND
Benznidazole	>100	ND	ND	ND	ND	10±0.58	ND
Miltefosine	>256	16±0.70	ND	8±0.14	ND	ND	ND

Notes: EGEO - *Eugenia gracillima* Kiaersk. essential oil; IC₅₀ - Concentration that inhibited 50% cellular growth; SI - selectivity index; ND – Not determined

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesse estudo permitem concluir que:

- A literatura possui escassas pesquisas sobre o potencial biológico das plantas pertencentes ao gênero *Eugenia* nativas do bioma Caatinga, sendo as principais espécies descritas: *Eugenia dysenterica*, *Eugenia punicifolia*, *Eugenia candolleana* e *Eugenia brejoensis*;
- A literatura comprova que as espécies de *Eugenia*, provenientes da vegetação Caatinga, são utilizadas na medicina popular como: antidiabético, moluscicida, antimicrobiano, antiparasitário, fotoprotetor, inseticida, analgésico, antipirético, antiartrítico, cicatrizante, anti-inflamatório, hepatoprotetor, farmacológico, antioxidante, ulceroprotetor, entre outras;
- Esse estudo foi o primeiro relato da atividade antiparasitária e caracterização fitoquímica dos OEs extraídos das folhas de *Eugenia gracillima* e *Eugenia stipitata*;
- Os constituintes químicos majoritários do óleo essencial de *Eugenia gracillima* (OEEG) extraídos do bioma Caatinga foram: germacreno D (16,10%), γ -muuroleno (15,60%), biciclogermacreno (8,53%), germacreno B (7,43%), Δ -cadieno (6,23%) e Δ -elemeno (6,06%);
- O OEEG apresentou atividade leishmanicida contra as formas promastigotas de *Leishmania braziliensis* e *Leishmania infantum*;
- O OEEG não possui potencial antiparasitário relevante frente às formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*;
- O OEEG não apresentou citotoxicidade em concentrações abaixo de 62,5 μ g/mL frente a fibroblastos;
- A atividade antioxidante do OEEG, através do método fosfomolibdênio foi considerada moderada (62,29%);
- Os constituintes químicos mais abundantes do óleo essencial de *Eugenia stipitata* (OEES) extraídas do bioma Caatinga foram: β -eudesmol (15,28%), γ -eudesmol (10,85%), elemol (10,21%), óxido de cariofileno (6,5%), cloveno (6,18%) e espatulenol (6,14%);
- O OEES apresentou atividade leishmanicida contra as formas promastigotas de *Leishmania braziliensis* e *Leishmania infantum*;
- O OEES não possui efeito tripanocida frente às formas epimastigotas de *T. cruzi*;
- O OEES apresentou moderada citotoxicidade frente a fibroblastos.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.
- AI, N. X. M.; BUN, S. S.; OLLIVIER, E.; THAO, D. T. P. Ethnobotanical study of medicinal plants used by K'Ho-Cil people for treatment of diarrhea IN Lam Dong province, Vietnam. **Journal of Herbal Medicine**, 2019, doi: 10.1016/j.hermed.2019.100320.
- ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L.; EL-DEIR, A. C. A.; LIMA, A. L. A.; SOUTO, A.; BEZERRA, B. M.; FERRAZ, E. M. N.; FREIRE, E. M. X.; SAMPAIO, E. V. S. B. S.; LASCASAS, F. M. G.; MOURA, G. J. B.; PEREIRA, G. A.; MELO, J. G.; RAMOS, M. A.; RODAL, M. J. N.; SCHIEL, N.; LYRA-NEVES, R. M.; ALVES, R. R. N.; AZEVEDO JÚNIOR, S. M.; TELINO JÚNIOR, W. R.; SEVERI, W. Caatinga revisited: ecology and conservation of an important seasonal dry forest. **Scientific World Journal**, p. 205182, 2012, doi: 10.1100/2012/205182.
- ALEXANDER, J.; SATOSKAR, A. R.; RUSSEL, D. G. Leishmania species: models of intracellular parasitism. **Journal Cell Science**, v. 112, p. 2993–3002, set. 1999.
- ALMEIDA, C. F. C. B.; ALBUQUERQUE, U. P. Uso e conservação de plantas medicinais no estado de Pernambuco: um estudo de caso no agreste. **Interciencia**, Caracas (VE), v. 27, n. 6, p. 276-285, jun. 2002.
- ALVAREZ, I. A.; KIILL, L. H. P. Arborização, floricultura e paisagismo com plantas da Caatinga. **Informativo Abrates**, Brasília (DF), v. 24, n. 3, p. 63-67, dez. 2014.
- ALVES, E. S.; TRESMONDI, F.; LONGUI, E. L. Structural analysis of leaves of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) collected in rural and urban areas, SP, Bras. **Acta Botânica Brasileira**, Belo Horizonte (MG), v. 22, p. 241-248, 2008.
- ARAUJO, D. R.; LUCENA, E. M. P.; GOMES, J. P.; FIGUEIRÊDO, R. M. F; SILVA, E. E. Características físicas, químicas e físico-químicas dos frutos da murta. **Revista Verde**, Pombal (PB), v. 10, n. 3, p. 11-17, jul./set. 2015.
- ARAUJO, D. R.; LUCENA, E. M. P.; GOMES, J. P.; FIGUEIRÊDO, R. M. F; SILVA, C. P. Characterization of ripening stages of myrtle fruit. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal (SP), v. 38, n. 2, p. 10, Mar./Apr. 2016.
- ARGENTA, S. C.; ARGENTA, L. C.; GIACOMELLI, S. R.; CEZAROTTO, V. C. Plantas medicinais: cultura popular versus ciência, **Vivências: Rev. eletrônica extensão da URI**, v. 7, p. 51-60, maio, 2011.
- ARTS, I. C. W.; HOLLMAN, P. C. H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 317S–325S, Jan. 2005.
- AUGUSTO, L. G. S.; GOÊS, L. Compreensões integradas para a vigilância da saúde em ambiente de floresta: o caso da Chapada do Araripe, Ceará, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, sup. 4, p. S549-S558, 2007.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, Feb. 2008.

BASANO, S.A.; CAMARGO, L.M.A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira Epidemiologia**, São Paulo, v. 7, n. 3, p. 328-337, set. 2004.

BASSO, L. A.; SILVA, L. H.; FETT-NETO, A. G.; AZEVEDO, W. F. Jr; MOREIRA, I. S.; PALMA, M. S.; CALIXTO, J. B; ASTOLFI, F. S.; DOS SANTOS, R. R.; SOARES, M. B. P.; SANTOS, D. S. The use of biodiversity as source of new chemical entities against defined molecular targets for treatment of malaria, tuberculosis, and T-cell mediated diseases – A review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 6, p. 475–506, Oct. 2005.

BORGES, A. R.; AIRES, J. R. A.; HIGINO, T. M. M.; MEDEIROS, M.G.F.; CITÓ, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D.; FIGUEIREDO, R.C.B.Q. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. **Experimental Parasitology**, v., p. 123-128, Oct. 2012.

BOZDOGAN, B.; APPELBAUM, P. C. Oxazolidinones: activity, mode of action, and mechanism of resistance. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 23, p. 113-119, Fev. 2004.

BRASILEIRO, B. G.; BHERING, M. C.; VIDIGAL, D. S.; CASALI, V. W. D. Caracterização morfológica e germinação de sementes de jalapa (*Operculina macrocarpa* (L.) Urb.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina (PR), v. 31, n. 3, p. 78-86, 2009.

CARNEIRO, N. S.; ALVES, J. M.; ALVES, C. C. F.; ESPERANDIM, V. R.; MIRANDA, M. L. D. Óleo essencial das flores de *Eugenia klotzschiana* (MYRTACEAE): sua composição química e atividades tripanocida e citotóxica in vitro. **Revista Virtual de Química**, Niterói (RJ), v. 9, n. 3, 2017.

CARVALHO, D. A.; RODRIGUES, V. E. G. **Plantas medicinais do domínio dos serrados**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001.

CELLI, G. B.; PEREIRA-NETTO, A. B.; BETA, T. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. **Food Res. Int.**, v. 44, p. 2442-2451, Oct. 2011.

COLE, R. A.; HABER, W. A.; SETZER, W. N. Chemical composition of essential oils of seven species of *Eugenia* from Monteverde, Costa Rica. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 877-886, 2007.

COLLA, A. R. S.; MACHADO, D. G.; BETTIO, L. E. B.; COLLA, G.; MAGINA, M. D. A.; BRIGHENTE, I. M. C.; RODRIGUES, A. L. S. Involvement of monoaminergic systems in the antidepressant-like effect of *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) in the tail suspension test in mice, **J. Ethnopharmacol.**, v. 143, p. 720-731, 2012.

COS, P.; VLIETINCK, A. J.; BERGHE, D. V.; MAES, L. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, n. 3, p. 290-302, 2006.

COWAN, M.M. Plant products and antimicrobial agents. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds.), **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000.

CUNNINGHAM, A.C. Parasitic adaptive mechanisms in infection by Leishmania. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 72, p. 132-141, 2002.

DAI, M.; PENG, C.; PENG, F.; XIE, C.; WANG, P.; SUN, F. Anti-Trichomonas vaginalis properties of the oil of Amomum tsao-ko and its major component, geraniol. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 3, p. 445-450, 2015.

DAMETTO, A. C.; AGUSTONI, D.; MOREIRA, T. F.; PLAZA, C. V.; PRIETO, A.M.; SILVA, T. A. G.; SOUZA, F. O.; BORALLE, N.; SORBO, J. M.; SILVA, D. H. S.; SOARES, C. P. Chemical composition and in vitro chemoprevention assessment of Eugenia jambolana Lam. (Myrtaceae) fruits and leaves. **Journal of Functional Foods**, v. 36, p. 490-502, 2017.

DIAS, C. N.; ALVES, L. P. L.; RODRIGUES, K. A. F.; BRITO, M. C. A.; ROSA, C. S.; AMARAL, F. M. M.; MONTEIRO, O. S.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; MORAES, D. F. C. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils extracted from Brazilian legal Amazon plants against Aedes aegypti L. (Diptera: Culicidae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 8, p. 15-21, Apr. 2015.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. São Paulo: Editora Unesp, 2002.

DONADO-PESTANA, C. M.; MOURA, M. H. C.; ARAUJO, R. L.; SANTIAGO, G. L.; BARROS, H. R. M.; GENOVESE, M. I., Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications. **Current opinion in food science**, v. 19, p. 42-49, 2018.

DORMAN, H. J. D.; FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. A. G.; DEANS, S. G. *In vitro* evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. **Flavour and fragrance journal**, v. 15, p. 12-16, 2000.

EINBOND, L. S.; REYNERTSON, K. A.; LUO, X. D.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food chemistry**, v. 84, p. 23-28, 2004.

FEITOSA, R. M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M.; LIMA, F. C. S.; OLIVEIRA, E. N. A. Drying and characterization of myrtle pulp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande (PB), v. 21, n. 12, p. 858-864, 2017.

FEITOSA, R. M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M.; SOUZA, E. P.; SILVA, V. M. Viscosidade aparente da polpa de murta integral em diferentes temperaturas. **Revista Caatinga**, Mossoró (RN), v. 28, n. 4, p. 235-243, 2015.

FENNEL, C. W.; LINDSEY, K. L.; MCGAW, L. J.; SPARG, S. G.; STAFFORD, G. I.; ELGORASHI, E. E.; GRACE, O. M.; vAN STADEN, J. Review: Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: Pharmacological screening and toxicology. **Journal Ethnopharmacology**, v. 94, n. 2-3, p. 205-217, Oct. 2004.

FERNANDES, T. G. **Efeito sinérgico do extrato aquoso das folhas de Psidium guineense Swartz em associação com agentes antimicrobianos frente a cepas de Staphylococcus aureus multidrogas resistente**. 2011. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE, 2011.

FERNÁNDEZ-TRUJILLO, J. P.; HERNÁNDEZ, M. S.; CARRILLO, M.; BARRERA, J. Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh). In: YAHIA, E. M. (Org.). **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits**. England: Woodhead Publishing, 2011. p. 98-117.

FETTER, M. R.; VIZZOTTO, M.; CORBELINI, D. D.; GONZALEZ, T. N. Propriedades funcionais de araçá- amarelo, araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) e araçá-pera (*P. acutangulum* D.C.) cultivados em Pelotas/RS. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 3, Nov. 2010.

FLORA do Brasil 2020: algas, fungos e plantas. Rio de Janeiro: Jardim Botânico, 2018. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 03 fev. 2018.

FLORA do Brasil 2020: algas, fungos e plantas. Rio de Janeiro: Jardim Botânico, 2019. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 30 nov. 2019.

FONTENELLE, R. O.; MORAIS, S. M.; BRITO, E. H.; BRILHANTE, R. S.; CORDEIRO, R. A.; NASCIMENTO, N. R.; KERNTOPF, M. R.; SIDRIM, J. J.; ROCHA, M. F. Antifungal activity of essential oils of Croton species from the Brazilian Caatinga biome. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, n. 5, p. 1383-1390, 2008.

FORZZA, R. C.; BAUMGARTZ, J. F.; COSTA, A.; HOPKINS, M. J. G.; LEITMAN, P. M.; LOHMANN, L. G.; MARTINELLI, G.; MENEZES, M.; MORIM, M. P.; NADRUZ-COELHO, M.; PEIXOTO, A. L.; PIRANI, J. R.; QUEIROZ, L. P.; STEHMANN, J. R.; WALTER, B. M. T.; ZAPPI, D. C. As angiospermas do Brasil. In: FORZZA et al. (Org.). **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro; Andrea Jakobsson Estudio, 2010. p. 78-89.

GALHEIGO, M. R.; PRADO, L. C.; MUNDIN, A. M.; GOMES, D. O.; CHANG, R.; LIMA, A. M.; CANABRAVA, H. A.; BISPO-DA-SILVA, L. B. Antidiarrheal effect of *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) leaf essential oil. **Nat Prod Res.**, v. 30, n. 10, p. 1182-1185, 2016.

GARZÓN, G. A.; NARVÁEZ-CUENCA, C. E.; KOPEC, R. E.; BARRY, A. M.; RIEDL, K. M.; SCHWARTZ, S. J. Determination of Carotenoids, Total Phenolic Content, and

Antioxidant Activity of Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh), an Amazonian Fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 18, p. 4709-4717, 2012.

GASPER, A. L.; UHLMANN, A.; SEVEGNANI, L.; LINGNER, D. V.; RIGON-JÚNIOR, M. J.; VERDI, M.; STIVAL-SANTOS, A.; DREVECK, S.; SOBRAL, M.; VIBRANS, A. C. Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina: espécies da Floresta Estacional Decidual. **Rodriguésia**, v. 64, n. 3, p. 427-443, 2013.

GIL, P. R. **Wilderness**: Earth's cast wild places. México: CEMEX, 2002.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. **Química Nova**, v. 30, n. 2, mar./abr. 2007.

GONTIJO, C. M.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

GORLACH-LIRA, K.; COUTINHO, H. D. M. Population dynamics and extracellular enzymes activity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from semi arid soil of northeastern Brazil. **Brazilian Journal of microbiology**, v. 38, p. 135-141, 2007.

GOVAERTS, R.; SOBRAL, M.; ASHTON, L. R.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F. F.; LUGHADHA, E. N.; PROENÇA, C.; SOARES-SILVA, L. H.; WILSON, P. G.; LUCAS, E. **World Checklist of Myrtaceae**. Kew: Royal Botanic Garden, 2008. 455 p.

GUIMARÃES, A. G.; MELO, M. S.; BONFIM, R. R.; PASSOS, L. O.; MACHADO, S. M. F.; RIBEIRO, A. S.; SOBRAL, M.; THOMMAZI, S. M.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Eugenia candolleana* DC., Myrtaceae, on mice. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 4, p. 883-887, Oct./Dec. 2009

IANNI, B. M.; ARTEAGA, E.; FRIMM, C. C.; BARRETTO, A. C. P.; MADY, C. Chagas' heart disease: evolutive evaluation of electrocardiographic and echocardiographic parameters in patients with the indeterminate form. **Arq Bras Cardiol**, v. 77, n. 1, p. 59-62, 2001.

IBIKUNLE, G. F.; ADEBAJO, A. C.; FAMUYIWA, F. G.; ALADESANMI, A. J.; ADEWUNMI, C. O. "In-vitro evaluation of anti-trichomonal activities of *Eugenia uniflora* leaf. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 8, n. 2, p. 170-176, 2011.

KAVITHA, K. S.; SATISH, S. Antibacterial activity of *Callistemon lanceolatus* DC. against human and phytopathogenic bacteria. **J. Pharm. Res.**, v. 7, p. 235-240, 2013.

KRISHNAIAH, D.; DEVI T; BONO, A; SARBATLY, R. Studies on phytochemical constituents of six Malaysian medicinal plants. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n. 2, p. 67-72, 2009.

KRISHNAIAH, D.; SARBATLY, R; BONO, A. Phytochemical antioxidants for health and medicine – A move towards nature. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, v. 1, n. 4, p. 97-104, 2007.

KUMAR, B.; SMITA, K.; DEBUT, A.; CUMBAL, L. Extracellular green synthesis of silver nanoparticles using Amazonian fruit Araza (*Eugenia stipitata* McVaugh). **Trans. Nonferrous Met. Soc.**, China, v. 26, p. 2363–2371, 2016.

LAGO, J. H. G.; SOUZA, E. D.; MARIANE, B.; PASCON, R.; VALLIM, M. A.; MARTINS, R. C. C.; BAROLI, A. A.; CARVALHO, B. A.; SOARES, M. G.; SANTOS, R. T.; SARTORELLI, P. Chemical and biological evaluation of essential oils from two species of Myrtaceae – *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. **Molecules**, v. 16, n. 12, p. 9827-9837, 2011.

LANDRUM, L.R.; KAWASAKI, M.L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v. 49, n.4, p. 508-536, 1997.

LAZARINI, J. G.; SARDI, J. C. O.; FRANCHIN, M.; NANI, B. D.; FREIRES, I. A.; INFANTE, J.; PASCHOAL, J. A. R.; ALENCAR, S. M.; ROSALENA, P. L. Bioprospection of *Eugenia brasiliensis*, a Brazilian native fruit, as a source of anti-inflammatory and antibiofilm compounds. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 102, p. 132-139, 2018.

LIMA, A. B.; LIMA, D. D.; VIEIRA, M. R.; POLETO, M. Z.; MAGRO, D. D. D.; BARAUNA, S. C.; ALBERTON, M. D.; PEREIRA, E. M.; PEREIRA, N. R.; SALAMAIA, E. M.; SIEBERT, D. A. Hypolipemiant and antioxidant effects of *Eugenia brasiliensis* in an animal model of coconut oil-induced hypertriglyceridemia. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 642–649, 2017.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T.; MENUT, C.; BESSIÈRE, J.M. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* Nativas do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 916-919, 2004.

LÔBO, K. M. S.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, A. M. A.; RODRIGUES, F. F. G.; LÔBO, I. S.; BEZERRA, D. A. C.; COSTA, J. G. M. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do semi-árido paraibano. **Rev. Bras. Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 2, p. 227-233, 2010.

LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544 p.

LUCENA, E. M. P.; MAJOR, I.; BONILIA, O. H. **Frutas da caatinga cearense**. Fortaleza: EdUECE, 2015. 156 p.

MAGINA, M. D. A.; DALMARCO, E. M.; WISNIEWSKI, A.; SIMIONATTO, E. L.; DALMARCO, J. B.; PIZZOLATTI, M. G.; BRIGHENTE, I. M. C. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species, **Journal of Natural Medicines**, v. 63, p. 345-350, 2009.

MAHIDA Y, MOHAN J. S. S. Screening of Indian plant extracts for antibacterial activity. **Pharmaceutical Biology**, v.44, n.8, p.627-631, 2006.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D & Z Computação Gráfica e Editora, 2004.

MARCHIORI, J. N. C.; SOBRAL, M. **Dendrologia das angiospermas: Myrtales**. Santa Maria: UFSM, 1997. 304 p.

MCVAUGH, R. Tropical American Myrtaceae. **Fieldiana Botany**, v. 29, n. 3, p. 145-228, 1956.

MEDEIROS, J. R.; MEDEIROS, N.; MEDEIROS, H.; DAVIN, L. B.; LEWIS, N. G. Composition of the Bioactive Essential Oils from the Leaves of *Eugenia stipitata* McVaugh ssp. *sororia* from the Azores. **Essent. Oil Research**, v. 15, p. 293-295, 2003.

MICHELIN, D. C. **Estudo químico-farmacológico de Operculina macrocarpa (L.) urb. (Convolvulaceae)**. 2008. 144 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2008.

MICHELIN, D. C.; FINATI, S. C. G.; SACRAMENTO, L. V. S.; VILEGAS, W.; SALGADO, H. R. N. Controle de qualidade da raiz de *Operculina macrocarpa* (Linn) Urb., Convolvulaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 18-22, Jan./Mar. 2010.

MONCAYO, A., SILVEIRA, A.C. Current epidemiological trends for Chagas' disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, p. 59-88, jul. 2017.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 105-111, 2001.

NAKAMURA, C. V.; SANTOS, A. O.; VENDRAMETTO, M. C.; LUIZE, P. S.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; UEDA-NAKAMURA, T. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. **Farmacognosia**, v. 16, 2006.

NASCIMENTO, V. T.; MOURA, N. P.; VASCONCELOS, M. A. S.; MACIEL, M. I. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Chemical characterization of native wild plants of dry seasonal forests of the semi-arid region of northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2112-2119, 2011.

NERI-NUMA, I. A.; CARVALHO-SILVA, L. B.; MORALES, J. P.; MALTA, L. G.; MURAMOTO, M. T.; FERREIRA, J. E. M., CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; JUNIOR, M. R. M.; PASTORE, G. M. Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh — Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. **Food Research International**, v. 50, p. 70-76, 2013.

NEVES, I. A.; REZENDE, S. R. F.; KIRK, J. M.; PONTES, E. G.; DE CARVALHO, M. G. Composition and Larvicidal Activity of Essential Oil of *Eugenia candolleana* DC. (MYRTACEAE) against *Aedes aegypti*. **Rev. Virtual Química**, v. 9, n. 6, p. 2305-2315, 2017.

OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T. M.; SCHMIDT, J. M.; SETZER, W. N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and

cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **International Journal Aromather**, v. 15, p. 147-152, 2005.

OLIVA, G.; ROURA, X.; CROTTI, A.; MAROLI, M.; CASTAGNARO, M.; GRADONI, L.; LUBAS, G.; PALTRINIERI, S.; ZATELLI, A.; ZINI, E. Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 236, n. 11, p. 1192-1198, 2010.

OLIVEIRA, R. B.; GODOY, S. A. P.; COSTA, F. B. **Plantas tóxicas: conhecimento e prevenção de acidentes**. Ribeirão Preto (SP): Editora Holos, 2003.

OLIVEIRA, V. C. S.; MOURA, D. M.; LOPES, J. A.; ANDRADE, P. P.; SILVA, N. H.; FIGUEIREDO, R. C. Effects of essential oils from *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., *Lippia sidoides* Cham., and *Ocimum gratissimum* L. on growth and ultrastructure of *Leishmania chagasi* promastigotes. **Parasitology Resherce**, v. 104, n. 5, p. 1053-1059, 2009.

PEREIRA, N. L. F.; AQUINO, P. E. A.; SILVA JÚNIOR, J. A.; CRISTO, J. S.; VIEIRA FILHO, M. A.; MOURA, F. F.; FERREIRA, N. M. N.; SILVA, M. K. N.; NASCIMENTO, E. M.; CORREIA, F. M. A.; CUNHA, F. A. B.; BOLIGON, A. A.; COUTINHO, H. D. M.; RIBEIRO-FILHO, J.; MATIAS, E. F. F.; GUEDES, M. I. F. Antibacterial activity and antibiotic modulating potential of the essential oil obtained from *Eugenia jambolana* in association with led lights. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 174, p. 144-149, 2017.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PESSOA, L. M.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; LUCIANO, J. H. S. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 109, p. 59-63, Oct. 2002.

PROENÇA, C. E. B.; LUGHADHA, E. M. N.; LUCAS, E. J.; WOODGYER, E. M. *Algrizea* (Myrteae, Myrtaceae): a new genus from the Highlands of Brazil. **Systematic Botany**, v. 31, n. 2, p. 320-326, 2006.

RAMALHO, C. I.; ANDRADE, A. P.; FÉLIX, L. P.; LACERDA, A. V.; MARACAJÁ, P. B. Flora arbóreo-arbustiva em áreas de caatinga no semiárido baiano, Brasil. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, p. 182-190, 2009.

REYNERTSON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, p. 883-890, 2008.

RODRIGUES, K. A. F.; AMORIM, L. A.; OLIVEIRA, J. M. G.; DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; CARNEIRO, S. M. P.; CARVALHO, F. A. A. *Eugenia uniflora* L. Essential Oil as a Potential Anti-*Leishmania* Agent: Effects on *Leishmania amazonensis* and Possible Mechanisms of Action. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-10, 2012.

ROGEZ, H.; BUXANT, R.; MIGNOLET, E.; SOUZA, J.N.S.; SILVA, E. M.; LARONDELLE, Y. Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **European Food Research and Technology**, v. 218, p. 380-384, 2004.

ROMAGNOLO, M. B.; SOUZA, M. C. de. O gênero *Eugenia* L. (Myrtaceae) na planície de alagável do Alto Rio Paraná, Estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, Brasil. **Acta botânica brasileira**, v. 20, n. 3, p. 529-548, 2006.

RONDON, F. C. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; ACCIOLY, M. P.; MORAIS, S. M.; ANDRADE-JÚNIOR, H. F.; CARVALHO, C. A.; LIMA, J. C.; MAGALHÃES, H. C. R. In vitro efficacy of *Coriandrum sativum*, *Lippia sidoides* and *Copaifera reticulata* against *Leishmania chagasi*. **Rev. Bras. Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 185-191, Jul./Set. 2012.

ROSA, M. S. S.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; BIZZO, H. R.; RODRIGUES, I. A.; SOARES, R. M. A.; SOUTO-PADRÓN, T.; ALVIANO, C. L.; LOPES, A. H. C. S. Antileishmanial activity of a linalool-rich essential oil from *Croton cajucara*, **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 47, n. 6, p. 1895-1901, 2003.

ROSA, R. L.; BARCELOS, A. L. V.; BAMPI, G. Investigação do uso de plantas medicinais no tratamento de indivíduos com diabetes melito na cidade de Herval D' Oeste - SC. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 14, n. 2, p. 306-310, 2012.

SALLEH, W. M.; AHMAD, F.; SIRAT, H. M.; YEN, K. H. Chemical compositions and antibacterial activity of the leaf and stem oils of *Piper Porphyrophyllum* (Lindl.) N.E. Br. **Excli Journal**, v. 11, p. 399-406, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4942807/pdf/EXCLI-11-399.pdf> . (Acessado em: 13 mai. 2018).

SAMPAIO, M. G. V.; SANTOS, C. R. B.; VANDESMET, L. C. S.; SANTOS, B. S.; SANTOS, I. B. S.; CORREIA, M. T. S.; MARTINS, A. L. B.; SILVA, L.C. N.; MENEZES, I. R. A.; GOMEZ, M. C. V.; SILVA, M. V. Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil. **Natural Product Research**, v. 33, n. 24, 2019.

SANDASI, M.; LEONARD, C. M.; VILJOEN, A. M. The in vitro antibiofilm activity of selected culinary herbs and medicinal plants against *Listeria monocytogenes*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 50, n. 1, 2010.

SANTORO, G. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G.; MENDONÇA, L. Z.; SOARES, M. J. *Trypanosoma cruzi*: activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. **Experimental Parasitology**, v. 116, n. 3, p. 283-290, Jul. 2007.

SANTOS, K. K.; TINTINO, S. R.; SOUZA, C. E.; SOUZA, C. E. S.; BRAGA, M. F. B. M.; GUEDES, G. M. M.; ROLÓN, M.; VEJA, C.; ARIAS, A. R.; COSTA, J. G. M.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M. Anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of *Eugenia uniflora* L. **Experimental Parasitology**, v. 131, n. 1, p. 130-132, 2012.

SHARIFI-RAD, J.; SUREDE, A.; TENORE, G. C.; DAGLIA, M.; SHARIFI-RAD, M.; VALUSSI, M.; TUNDIS, R.; SHARIFI-RAD, M.; LOIZZO, M. R.; ADEMILUYI, A. O.; SHARIFI-RAD, R.; AYATOLLAHI, S. A.; IRITI, M. Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. **Molecules**, v. 70, 2017.

SILVA, A. G.; ALVES, R. C. C.; BEZERRA FILHO, C. M.; BEZERRA-SILVA, P. C.; SANTOS, L. M. M.; FOGLIO, M. A.; NAVARRO, D. M. A. F.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. S. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil from *Eugenia brejoensis* Mazine (Myrtaceae). **Journal of Essencial Oil Bearing Plants**, v. 18, n. 6, p. 1441-1447, 2015.

SILVA, C. M. A.; COSTA, B. M. S.; SILVA, A. G.; SOUZA, E. B.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. S.; SILVA, A. P. S.; LIMA, V. L. M. Antimicrobial activity of several Brazilian medicinal plants against phytopathogenic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n. 17, p. 578-583, 2016. DOI: 10.5897/AJMR2014.6999.

SILVA, M. B.; MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VENZON, M.; FONSECA, M. C. M. Uso de princípios bioativos de plantas no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, v. 31, n. 255, p. 70-77, 2010.

SILVA JÚNIOR, E. N. S.; JARDIM, G. A. M.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; CASTRO, S. L. AntiTrypanosoma cruzi compounds: our contribution for the evaluation and insights on the mode of action of naphthoquinones and derivatives, **J. Braz. Chem. Soci.**, v. 25, p. 1780–1798, 2014.

SILVA, L. C.; SANDES, J. M.; PAIVA, M. M.; ARAÚJO, J. M.; FIGUEIREDO, R. C.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. Anti-Staphylococcus aureus action of three Caatinga fruits evaluated by electron microscopy. **Natural Product Research**, v. 27, p. 1492-1496, 2013.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: ED. UFRGS, 2007. 1102 p.

SINGH, S.; SIVAKUMAR, R. Challenges and new discoveries in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Infection Chemotherapy**, v. 10, p. 307-315, 2004.

SOBRAL, M.; KOLLMANN, L. J. C.; ROCHELLE, A. L. C.; SOUZA, M. C.; AGUIAR, O. T.; ANTUNES, K. Five new Myrtaceae from Southeastern Brazil **Journal Botanic Research Institute**, Texas, v. 8, n. 2, p. 497-510, 2014.

SOUZA, G. S.; BONILLA, O. H.; LUCENA, E. M. P.; BARBOSA, Y. P. Chemical composition and yield of essential oil from three Croton species. **Ciência Rural**, v. 47, n. 8, 2017a.

SOUZA, L. I. O.; SILVA, P. C. B.; NAVARRO, D. M. A. F.; SILVA, A. G.; CORREIA, M. T. S.; SILVA, M. V.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. The chemical composition and trypanocidal activity of essential oils from Brazilian Caatinga plants. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 96, p. 1055–1064, 2017b. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.11.121>.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. E.; SALVADOR, M. J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 73-94, 2011. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201000098>.

SUNDAR, S.; RAI, M. Advances in the treatment of leishmaniasis. **Current Opinion in Infectious Disease**, v. 15, p. 593-598, 2002.

SWAMY, M.K.; SINNIHA, U.R. A Comprehensive Review on the Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of *Pogostemon cablin* Benth.: An Aromatic Medicinal Plant of Industrial Importance. **Molecules**, v. 20(5), 8521-8547, 2015.

TAJKARIMI, M.; IBRAHIM, S.; CLIVER, D. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food Control**, v. 21, n. 9, p. 1199-1218, 2010.

TAKAHASHI, Y.; SUGIMOTO, K.; SOEJIMA, Y.; KUMAGAI, A.; KOEDA, T.; SHOJO, A.; NAKAGAWA, K.; HARADA, N.; YAMAJI, R.; INUI, H.; YAMANOUCHI, T.; FUKUSATO, T. Inhibitory effects of Eucalyptus and Banaba leaf extracts on nonalcoholic steatohepatitis induced by a high-fructose/high-glucose diet in rats. **Biomed Research International**, v. 2015, p. 296–305, 2015.

TARIQ, S.; WANI, S.; RASOOL, W.; SHAFI, K.; BHAT, M.A.; PRABHAKAR, A.; SHALLA, A.H.; RATHER, M.A. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oil and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial pathogenesis**, v. 134, 2019.

TEPE, B.; DONMEZ, E.; UNLU, M.; CANDAN, F.; DAFERERA, D.; VARDAR-UNLU, G.; POLISSIOU, M.; SOKMEN, A. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). **Food Chemistry**, v. 84, p. 519–525, Mar. 2004.

TRENTIN, D. S.; GIORDANI, R. B.; ZIMMER, K. R.; SILVA, A. G.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. S.; BAUMVOL, I. J. R.; MACEDO, A. J. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 327-335, Sept. 2011.

TRENTIN, D. S.; SILVA, D. B.; AMARAL, M. W.; ZIMMER, K. R.; SILVA, M. V.; LOPES, N. P.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J. Tannins possessing bacteriostatic effect impair *Pseudomonas aeruginosa* adhesion and biofilm formation. **PLoS One**, v. 8, n. 6, p. 66257, 2013.

USHIMARU, P. I.; SILVA, M. T. N.; DI STASI, L. C. ; BARBOSA, L. ; FERNANDES JUNIOR, A. Antibacterial activity of medicinal plant extracts. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 717-719, 2007.

VERAS, H. N. H.; RODRIGUES, F. F. G.; COLARES, A. V.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; BOTELHO, M. A.; COSTA, J. G. M. Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol, **Fitoterapia**, v. 83, p. 508–512, 2012.

VICENTINI, V. E. P.; CAMPAROTO, M. L.; TEIXEIRA, R. O.; MANTOVANI, M. S. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and animal test systems. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 593-598, 2001.

VICTORIA, F. N.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; SILVA, W. P.; MOTTA, A. S.; NASCENTE, P. S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: antioxidant and antimicrobial properties. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2668-2674, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Intensified control of neglected diseases: Report of an international workshop Berlin 10–12**. Genebra: WHO, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diarrhoeal disease. 2013. Disponível em:** <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/> (Acessado em: 29 nov.2019)

YOO, C.; HAN, K.; CHO, K.; HA, J.; PARK, H.; NAM, J.; KIL, U.; LEE, K. Eugenol isolated from the essential oil from *Eugenia caryophyllata* induces a reactive oxygen species-mediated apoptosis in HL-60 human promyelocytic leukemia cells. **Cancer Lett.**, v. 225, p. 41–52, 2005.

ZAMORA, C. M. P.; TORRES, C. A.; NUÑEZ, M. B. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Verbenaceae Species Growing in South America. **Molecules**, v. 23, p. 544, 2018. DOI:10.3390/ molecules 23030544

ZHELJAZKOV, V. D.; CANTRELL, C. L.; TEKWANI, B.; KHAN, S. I. Content, composition, and bioactivity of the essential oils of three basil genotypes as a function of harvesting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 380–385, 2008.