UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Insumos Farmacêuticos

Estudo farmacognóstico e farmacológico de
***Syzygium jambos* (L.) Alston**

Raquel dos Santos Donatini

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Profa. Dra. Elfriede Marianne Bacchi

São Paulo
2003

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Donatini, Raquel dos Santos
D677e Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Syzygium jambos* (L.) Alston / Raquel dos Santos Donatini. -- São Paulo, 2003.
95p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.

Orientador: Bacchi, Elfriede Marianne

1. Mirtaceas : Farmacognosia I. T. II. Bacchi, Elfriede Marianne, orientador.

615.3234 CDD

Raquel dos Santos Donatini

Estudo farmacognóstico e farmacológico
de *Syzygium jambos* (L.) Alston

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Elfriede Marianne Bacchi
Orientador/presidente

1º examinador

2º examinador

São Paulo, _____ de _____

À minha irmã Cris

Aos meus pais, Marina e Antonio
Pelo apoio constante e incondicional
E por compreenderem minha ausência.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Elfriede Marianne Bacchi, pela orientação e valiosos ensinamentos.

À Profa. Dra. Edna Tomiko Myiake Kato, pela contribuição na caracterização farmacobotânica da droga e amizade.

Ao Prof. Dr. Keigo Minami, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pela colaboração na aquisição da espécie vegetal.

Ao Prof. Dr. Vinícius Castro Souza e Fiorella Fernanda Mazine, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pela identificação da espécie vegetal.

À Profa. Titular Sílvia Berlanga de Moraes Barros, pela disponibilização do laboratório e colaboração na execução do teste de atividade antioxidante.

À Cristina Dislich Röpke e Tânia Sawada, pelos esclarecimentos na execução do teste de atividade antioxidante e amizade.

À Profa. Dra. Mitsuko Taba Ohara, Profa. Dra. Telma Mary Sakuda-Kaneko e Profa. Dra. Nadia Araci Bou Chacra, pela disponibilização do laboratório e colaboração na execução do teste de atividade antimicrobiana.

A Adalton Guimarães Ribeiro, pela amizade e grande contribuição na execução da parte experimental deste trabalho.

Aos funcionários Roberto de Jesus Honório e José de Sousa Sobrinho, pela colaboração na execução da parte experimental do trabalho.

À secretária Elisabete Claro de Souza Paiva, pela paciência e esclarecimentos durante todo o curso.

Às grandes amigas Biba e Tati, pela cumplicidade, amizade dedicada e apoio constante, principalmente na fase final deste trabalho.

Às amigas Ana Paula, Andréa, Fernanda, Helena e Magali, pelas dicas, incentivo e pelo agradável convívio no laboratório.

Ao Marcelo, pelo carinho, compreensão e paciência durante a execução deste trabalho.

À FAPESP, pelo apoio financeiro.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 Myrtaceae.....	3
2.2 Gêneros <i>Eugenia</i> e <i>Syzygium</i>	4
2.3 <i>Syzygium jambos</i> ou <i>Eugenia jambos</i>	13
3. OBJETIVOS.....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4.1 Estudo farmacobotânico.....	16
4.1.1 Coleta e preparação do material vegetal.....	16
4.1.2 Caracterização macroscópica.....	16
4.1.3 Caracterização microscópica.....	17
4.2 Estudo fitoquímico.....	18
4.2.1 Preparação da droga.....	18
4.2.2 Elaboração de extratos e fracionamento.....	18
4.2.2.1 Extrato hidroetanólico liofilizado.....	18
4.2.2.2 Extrato enriquecido.....	19
4.2.2.3 Fracionamento por solventes.....	19
4.2.3 Triagem fitoquímica.....	20
4.2.3.1 Gomas e mucilagens.....	20

4.2.3.2 Óleos essenciais.....	20
4.2.3.3 Glicósidos cardiotônicos.....	21
4.2.3.4 Glicósidos saponínicos.....	23
4.2.3.5 Glicósidos antraquinônicos.....	23
4.2.3.6 Glicósidos flavonoídicos.....	23
4.2.3.7 Taninos.....	24
4.2.3.8 Alcalóides.....	26
4.2.4 Doseamento de taninos.....	27
4.2.5 Doseamento de flavonóides totais.....	29
4.2.6 Perfil cromatográfico dos extratos das folhas de <i>S. jambos</i>	30
4.3 Ensaios farmacológicos.....	32
4.3.1 Toxicidade aguda.....	32
4.3.2 Determinação da DL ₅₀	33
4.3.3 Atividade antimicrobiana.....	33
4.3.4 Atividade antiúlcera.....	36
4.3.5 Atividade antioxidante.....	37
5. RESULTADOS.....	39
5.1 Estudo farmacobotânico.....	39
5.1.1 Caracterização macroscópica.....	39
5.1.2 Caracterização microscópica.....	40
5.2 Estudo fitoquímico.....	49
5.2.1 Rendimento do EHEL e das frações.....	49
5.2.2 Análise fitoquímica preliminar.....	49

5.2.3 Doseamento de taninos.....	51
5.2.4 Doseamento de flavonóides totais.....	51
5.2.5 Perfil cromatográfico dos extratos das folhas de <i>S. jambos</i>	51
5.3 Ensaio farmacológicos.....	54
5.3.1 Toxicidade aguda.....	54
5.3.2 Determinação da DL50.....	56
5.3.3 Atividade antimicrobiana.....	58
5.3.4 Atividade antiúlcera.....	60
5.3.5 Atividade antioxidante.....	64
6. DISCUSSÃO.....	66
7. CONCLUSÕES.....	81
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

Lista de figuras

Páginas

Figura 1. <i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston.....	43
Figura 2. <i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston – vista frontal da epiderme.....	44
Figura 3. <i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston – mesofilo.....	45
Figura 4. <i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston – secção transversal da nervura mediana.....	46
Figura 5. <i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston – secção transversal do limbo foliar. Utilização de cloreto férrico na visualização de compostos fenólicos.....	47
Figura 6. <i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston – pecíolo.....	48
Figura 7. Perfil cromatográfico do EHEL e das frações acetato de etila, etanólica e hidroalcoólica a 50% de <i>S. jambos</i> , utilizando o Sistema 1.....	52
Figura 8. Perfil cromatográfico do EHEL e das frações acetato de etila, etanólica e hidroalcoólica a 50% de <i>S. jambos</i> , utilizando o Sistema 2.....	53
Figura 9. Variação do consumo de água (mL) dos animais controle e teste, avaliado a cada 2 dias, durante quatorze dias, no teste de toxicidade aguda, pela administração oral do EHEL das folhas de <i>S. jambos</i> , na dose de 5g/kg.....	54

Figura 10. Variação do consumo de ração (g) dos animais controle e teste, avaliado a cada 2 dias, durante quatorze dias, no teste de toxicidade aguda, pela administração oral do EHEL das folhas de <i>S. jambos</i> , na dose de 5g/kg.....	55
Figura 11. Comparação entre as massas relativas de órgãos dos animais tratados e controle no experimento de DL ₅₀ para o EHEL de <i>S. jambos</i>	57
Figura 12. Efeito da administração oral do EHEL das folhas de <i>S. jambos</i> , na dose de 400 mg/kg, no teste de atividade antiúlcera gástrica em modelo de indução aguda por etanol e ácido clorídrico.....	61
Figura 13. Efeito da administração oral das frações etanol e etanol a 50% de <i>S. jambos</i> , na dose de 400 mg/kg, no teste de atividade antiúlcera gástrica em modelo de indução aguda por etanol e ácido clorídrico.....	62
Figura 14. Efeito da administração oral das frações clorofórmio e acetato de etila de <i>S. jambos</i> , na dose de 400 mg/kg, no teste de atividade antiúlcera gástrica em modelo de indução aguda por etanol e ácido clorídrico.....	63
Figura 15. Capacidade antioxidante (CAOx %) do EHEL das folhas de <i>S. jambos</i> na lipoperoxidação de homogenato de cérebro de rato.....	64
Figura 16. Regressão linear da capacidade antioxidante do EHEL das folhas de <i>S. jambos</i>	65

Lista de tabelas

Páginas

Tabela 1. Substâncias identificadas e atividades biológicas de espécies pertencentes aos gêneros <i>Eugenia</i> e <i>Syzygium</i> (Myrtaceae).....	5
Tabela 2. Triagem fitoquímica preliminar de <i>Syzygium jambos</i> (L) Alston. Testes realizados com o pó das folhas secas.....	50
Tabela 3. Atividade antimicrobiana do EHEL das folhas de <i>S. jambos</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	58
Tabela 4. Atividade antimicrobiana do EHEL das folhas de <i>S. jambos</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 10536.....	59
Tabela 5. Atividade antimicrobiana do EHEL das folhas de <i>S. jambos</i> frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	59
Tabela 6. Atividade antimicrobiana do EHEL das folhas de <i>S. jambos</i> frente a <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404.....	60
Tabela 7. Efeito da administração oral do EHEL das folhas de <i>S. jambos</i> (400 mg/kg) na incidência de lesões gástricas agudas induzidas por etanol e ácido clorídrico (1 mL/100 g de massa corpórea).....	61
Tabela 8. Efeito da administração oral das frações etanol e etanol a 50% de <i>S. jambos</i> (400 mg/kg) na incidência de lesões gástricas agudas induzidas por etanol e ácido clorídrico (1 mL/100 g de massa corpórea).....	62
Tabela 9. Efeito da administração oral das frações clorofórmio e acetato de etila de <i>S. jambos</i> (400 mg/kg) na incidência de lesões gástricas agudas induzidas por etanol e ácido clorídrico (1 mL/100 g de massa corpórea).....	63

RESUMO

O jambeiro (*Syzygium jambos* (L.) Alston) constitui uma das diversas espécies frutíferas e medicinais pertencentes à família Myrtaceae. Popularmente, são atribuídas ao jambo propriedades antidiabética, antitussígena e contra dores de cabeça.

A caracterização farmacobotânica da droga constituída de folhas foi realizada através de análise macro e microscópica, buscando características peculiares com objetivo de contribuir na identificação da droga vegetal.

A triagem fitoquímica da droga indicou a presença de flavonóides, taninos e óleo volátil. O extrato hidroetanólico a 70%, obtido através de percolação, foi concentrado e liofilizado. O teor de taninos verificado na droga e no extrato foi de 21,9% e 43,3%, respectivamente. A droga apresentou 0,6% de flavonóides totais e o extrato, 1,2%. O extrato foi fracionado por solventes de polaridades diferentes (clorofórmio, acetato de etila, etanol e etanol a 50%). O perfil cromatográfico foi determinado para o extrato e frações.

A toxicidade aguda foi avaliada através da administração oral do extrato a camundongos, em dose única de 5 g/kg. Como houve mortes, foi determinada a DL_{50} através da administração de 5 doses crescentes de extrato. O valor de DL_{50} encontrado foi de 4,68 g/kg. A atividade antimicrobiana do extrato foi avaliada através da determinação de concentração mínima inibitória (CMI) pelo método de diluição em meio líquido em tubos. Os microrganismos utilizados foram *S. aureus*, *E. coli*, *A. niger* e *C. albicans*. O extrato mostrou-se eficaz apenas contra *S. aureus*, apresentando CMI entre 200 e 300 µg/mL. A avaliação da atividade antiúlcera do extrato e das frações foi realizada através de indução aguda por etanol acidificado. O extrato, administrado na dose de 400 mg/kg, apresentou resultados extremamente significativos nas ulcerações de nível III (hemorrágicas). As frações etanólica e clorofórmica mostraram-se efetivas nas ulcerações de nível II e III. A atividade antioxidante foi testada através da medida da velocidade de produção de malonildialdeído na lipoperoxidação espontânea de homogenato de cérebro de ratos. O extrato de *S. jambos* apresentou $Q_{1/2} = 0,165$ µg/mL.

ABSTRACT

Syzygium jambos (L.) Alston, Myrtaceae, is commonly employed in folk medicine to treat diabetes, cough and headaches. Dried leaves were morphologic and anatomically studied. Phytochemical screening of the powdered dried leaves indicates the presence of flavonoids, tannins and essential oil. Hydroethanolic extracts (70%) were prepared by percolation and freeze-drying. The tannin content of dried leaves and extract was, respectively, 21,9% and 43,3%. The flavonoid content was 0,6% (dried leaves) and 1,2% (extract). Acute toxicity studies were performed after oral administration of the leaf extract to mice, at a dose of 5 g/kg. The LD₅₀ value for the extract (oral administration of five different doses) was 4,68 g/kg. The dilution method was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of *S. jambos* extract against *Staphylococcus aureus* strain ATCC 6538, *Escherichia coli* strain ATCC 10536, *Candida albicans* strain ATCC 10231, *Aspergillus niger* strain ATCC 16404. Hydroethanolic extract of leaves of *S. jambos* inhibited the growth of *S. aureus* (200 < MIC < 300 µg/mL), but had no activity against *E. coli*, *A. niger* and *C. albicans* at 1000 µg/mL. Previous oral administration of *S. jambos* extract (400 mg/kg) reduced significantly gastric injury induced by HCl/ethanol. *In vitro* antioxidant activity of *S. jambos* extract was evaluated by malondialdehyde (MDA) measure in a method based on the inhibition of spontaneous lipid peroxidation of brain homogenates. The Q_{1/2} value for the extract was 0,165 µg/mL.

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas consideradas pela população como medicinais está cada vez mais difundido, não só no Brasil, como em várias partes do mundo. Grande parte das espécies utilizadas no Brasil não é identificada botanicamente de maneira correta, não se conhece a composição química, ação farmacológica e toxicidade. Entre elas, algumas de grande importância encontram-se na família Myrtaceae.

A família Myrtaceae é uma das mais características da flora brasileira, apresentando potencial e significativo interesse econômico para o Brasil (JORGE *et al.*, 2000). As mirtáceas apresentam importância tanto na flora espontânea como na cultivada, incluindo plantas ornamentais (*Callistemon*, *Melaleuca*, *Myrtus communis*), produtoras de madeira e óleos essenciais (*Eucalyptus*), além de frutíferas (*Psidium* - goiaba; *Campomanesia* - gabioba; *Eugenia* - grumixama, pitanga, uvaia; *Myrciaria* - jaboticaba; *Syzygium* - jambo) (JOLY, 1975).

Entre as espécies medicinais, podemos citar a goiabeira (*Psidium guajava* L.), inscrita na primeira edição da PHARMACOPEIA BRASILEIRA (1926), cujos frutos e principalmente as folhas, são ricos em compostos polifenólicos (taninos), tendo o chá de suas folhas e brotos uso muitíssimo difundido no meio popular como antidiarreico (CRUZ, 1982). Faz também parte da família a jaboticabeira (*Myrciaria jaboticaba*) que tem seus frutos comestíveis muito apreciados na confecção de licores e vinhos medicinais, sendo igualmente empregada como antidiarreica e contra inflamações de

garganta (CRUZ, 1982). No gênero *Eugenia*, destacam-se as espécies *E. jambolana* (jambolão) e *E. jambos* (jambo), que têm difundido uso no meio popular no tratamento do diabetes (TEIXEIRA *et al.*, 1990). Interessante observar que grande número das mirtáceas medicinais é empregado como hipoglicemiante e cicatrizante.

A espécie de mirtácea a ser estudada no presente trabalho é o jambo - *Syzygium jambos* (L.) Alston ou *Eugenia jambos* L.

O jambeiro, árvore de origem asiática, encontra-se aclimatado no Brasil. Foi introduzido da Índia ou Malásia. Seu fruto de aroma agradável é muito apreciado pelo povo. A casca do caule é adstringente e as flores, melíferas (PIO CORREA, 1969). Ao jambo também se atribuem propriedades antidiabética, antitussígena e no tratamento de catarro dos pulmões e dores de cabeça (CRUZ, 1982).

Extratos de folhas (aquoso, metanólico e acetato de etila), administrados por via oral a ratos, apresentaram atividade antiinflamatória (SLOWING *et al.*, 1994a; SLOWING *et al.*, 1996). Estudos realizados a partir do chá das folhas, para avaliação da atividade hipoglicemiante, não apresentaram resultados significativos (TEIXEIRA *et al.*, 1990). Extratos aquoso e acetônico das cascas apresentaram atividade antimicrobiana (DJIPA *et al.*, 2000).

Este trabalho pretende contribuir no conhecimento da espécie em estudo em relação à caracterização botânica, aspectos químicos e farmacológicos, incluindo atividade antiúlcera, antioxidante e antimicrobiana, e avaliação da toxicidade.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Myrtaceae

A família Myrtaceae compreende cerca de 100 gêneros e 3.500 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais. Poucas espécies ocorrem nas regiões temperadas (BARROSO, 1984).

As mirtáceas são plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas, com folhas inteiras, de disposição alterna ou oposta e, às vezes, oposta cruzada, com estípulas muito pequenas ou ausentes (JOLY, 1975). São folhas penínérveas, geralmente apresentando nervura marginal. Cavidades oleíferas aparecem nas folhas, flores, frutos e sementes, na forma de pequenos pontos translúcidos (BARROSO, 1984).

As classificações aplicadas a Myrtaceae evidenciam opiniões diversas quanto ao arranjo em níveis hierárquicos inferiores. Alguns autores (CRONQUIST, 1981; DAHLGREEN, 1980; TAKHTAJAN, 1980) consideram 2 subfamílias - Leptospermoideae e Myrtoideae.

A subfamília Leptospermoideae engloba cerca de 30 gêneros cujas espécies apresentam fruto seco e centro de dispersão principal na Austrália e Polinésia. *Eucalyptus*, *Callistemon* e *Melaleuca* são exemplos de gêneros cultivados.

A subfamília Myrtoideae reúne cerca de 70 gêneros, de dispersão na América tropical e subtropical, cujos frutos são carnosos. *Eugenia*, *Myrcia*, *Psidium* e *Syzygium* são exemplos de gêneros desta subfamília. Nesta categoria incluem-se as espécies nativas do Brasil.

2.2 Gêneros *Eugenia* e *Syzygium*

Existe grande controvérsia quanto à definição dos gêneros *Eugenia* e *Syzygium* entre os botânicos. A maioria dos autores prefere reunir as espécies da Ásia no gênero *Syzygium* Gaertner e as espécies nativas da América no gênero *Eugenia* Linnaeus (SCHMID, 1972).

Os nomes botânicos mais freqüentemente empregados para designar a espécie em estudo são *Syzygium jambos* (L.) Alston e *Eugenia jambos* L. Desta forma, a revisão da literatura das substâncias identificadas e atividades farmacológicas foi restrita aos estudos realizados com as folhas e órgãos aéreos de espécies incluídas nesses dois gêneros (Tabela 1).

Tabela 1. Substâncias identificadas e atividades biológicas de espécies pertencentes aos gêneros *Eugenia* e *Syzygium* (Myrtaceae).

Espécie vegetal	Órgão vegetal	Substâncias identificadas	Atividades biológicas	Referências bibliográficas
<i>Eugenia florida</i>	Folhas	29-hidroxiplatan-28-ato de β -D-glicosila		JUNGES et al., 1999
<i>E. grandis</i>	Folhas	1-O-galoilcastalagina		NONAKA et al., 1987
<i>E. kurzii</i>	Órgãos aéreos	3-C-metilapigenina-5-O-ramnosídeo e 3-C-metil-luteolina-5-O-ramnosídeo		PAINULY & TANDON, 1983
<i>E. maire</i>	Folhas	Ácido oleanólico, ácido gálico e β -sitosterol		BRIGGS & CAMBIE, 1961

Tabela 1. Substâncias identificadas e atividades biológicas de espécies pertencentes aos gêneros *Eugenia* e *Syzygium* (Myrtaceae) (continuação).

Espécie vegetal	Órgão vegetal	Substâncias identificadas	Atividades biológicas	Referências bibliográficas
<i>E. malaccensis</i>	Folhas		Atividade antifúngica e antibacteriana (<i>Streptococcus pyogenes</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>)	LOCHER <i>et al.</i> , 1995
<i>E. moraviana</i>	Folhas	Ácido 6- α -hidroxibetulinico, ácido platânico, ácido betulinico e β -sitosterol		LUNARDI <i>et al.</i> , 2001
<i>E. punicifolia</i>	Folhas	Miricetina-3-O-ramnoglicosídeo, miricitrina, rutina, quercetina		SCHMEDA-HIRSCHMANN, 1995
<i>E. pyriformis</i>	Folhas	Miricitrina, rutina e quercetina		SCHMEDA-HIRSCHMANN, 1995

Tabela 1. Substâncias identificadas e atividades biológicas de espécies pertencentes aos gêneros *Eugenia* e *Syzygium* (Myrtaceae) (continuação).

Espécie vegetal	Órgão vegetal	Substâncias identificadas	Atividades biológicas	Referências bibliográficas
<i>E. uniflora</i>	Folhas (extrato hidroalcoólico)	Quercitrina, quercetina, miricetina e miricitrina	Inibição da xantina-oxidase	SCHMEDA-HIRSCHMANN <i>et al.</i> , 1987
	Folhas		Ação antimalárica	AGBEDAHUNSI & ALADESANMI, 1993
	Folhas (extrato aquoso)		Atividade antiinflamatória	SCHAPOVAL <i>et al.</i> , 1994
	Folhas (extrato aquoso)		Efeito antidiarreico	ALMEIDA <i>et al.</i> , 1995

Tabela 1. Substâncias identificadas e atividades biológicas de espécies pertencentes aos gêneros *Eugenia* e *Syzygium* (Myrtaceae) (continuação).

Espécie vegetal	Órgão vegetal	Substâncias identificadas	Atividades biológicas	Referências bibliográficas
<i>E. uniflora</i>	Folhas (ext. acetato de etila)		Ação contrátil sobre o duodeno isolado de ratos	GBOLADE <i>et al.</i> , 1996
	Folhas	Taninos hidrolisáveis: Eugeniflorinas D-1 e D-2		LEE <i>et al.</i> , 1997
	Folhas		Atividade hipotensiva e diurética	CONSOLINI <i>et al.</i> , 1999
	Folhas		Inibição do aumento dos níveis de glicose e triglicerídeos no plasma, após ingestão de sacarose e óleo de milho, respectivamente	ARAI <i>et al.</i> , 1999

Tabela 1. Substâncias identificadas e atividades biológicas de espécies pertencentes aos gêneros *Eugenia* e *Syzygium* (Myrtaceae) (continuação).

Espécie vegetal	Órgão vegetal	Substâncias identificadas	Atividades biológicas	Referências bibliográficas
<i>E. uniflora</i>	Folhas	Uniflorinas A e B		MATSUMURA <i>et al.</i> , 2000
<i>Syzygium alternifolium</i>	Folhas	4',5-diidroxi-7-metoxi-6,8-dimetilflavona (sideroxilina)		RAO <i>et al.</i> , 1989
	Folhas	4',5,7-triidroxi-6,7-di-C-metilflavona (sizalterina)		RAO, 1991
<i>S. aromaticum</i>	Folhas	Elagitaninos: Sizigininas A e B		TANAKA <i>et al.</i> , 1996

Tabela 1. Substâncias identificadas e atividades biológicas de espécies pertencentes aos gêneros *Eugenia* e *Syzygium* (Myrtaceae) (continuação).

Espécie vegetal	Órgão vegetal	Substâncias identificadas	Atividades biológicas	Referências bibliográficas
<i>S. claviflorum</i>	Folhas (extrato metanólico)	Ácido betulinico e ácido platânico	Atividade anti-HIV	FUJIOKA <i>et al.</i> , 1994
<i>S. cordatum</i>	Folhas	Antocianidinas: delfinidina e cianidina		CANDY <i>et al.</i> , 1968
<i>S. cumini</i> (<i>Eugenia jambolana</i>)	Folhas	Sitosterol, ácido betulinico e ácido cratególico.		GUPTA & SHARMA, 1974

Tabela 1. Substâncias identificadas e atividades biológicas de espécies pertencentes aos gêneros *Eugenia* e *Syzygium* (Myrtaceae) (continuação).

Espécie vegetal	Órgão vegetal	Substâncias identificadas	Atividades biológicas	Referências bibliográficas
<i>S. cumini</i> (<i>Eugenia jambolana</i>)	Folhas	3-O-(4"-O-acetil)- α -L-ramnopiranosídeo de mearnsetina e miricetina 3-O-(4"-O-acetil-2"-O-galoil)- α -L-ramnopiranosídeo.		MAHMOUD et al., 2001
	Folhas	Miricetin-3-O-(4"-acetil)- α -L-ramnopiranosídeo		TIMBOLA et al., 2002
<i>S. formosanum</i>	Folhas	4-epifriedelina, óxido de cariofileno, friedelina, glutinol, α -terpineol, fitol, ac.betulínico, uvaol, lupeol, betulina, ac.ursólico e ac. oleanólico.		CHANG et al., 1999

Tabela 1. Substâncias identificadas e atividades biológicas de espécies pertencentes aos gêneros *Eugenia* e *Syzygium* (Myrtaceae) (continuação).

Espécie vegetal	Órgão vegetal	Substâncias identificadas	Atividades biológicas	Referências bibliográficas
<i>S. samarangense</i>	Folhas	Meamsitrina e 2'-C-metil-5'-O-galoilmiricetina-3-O- α -L-ramnopiranosídeo		NAIR <i>et al.</i> , 1999
	Órgãos aéreos	Metil-3-epi-betulinato e 4',6'-diidroxil-2'-metoxil-3'5'-dimetilchalcona		SRIVASTAVA <i>et al.</i> , 1995
	Folhas	Proantocianidinas: samarangeninas A e B		NONAKA <i>et al.</i> , 1992
<i>S. triplinatum</i>	Folhas	Triterpenóides (friedelina, lupenona, lupeol, lupenil palmitato, obtusalina e estearato de cicloartenila)		TSAI <i>et al.</i> , 1994

2.3 *Syzygium jambos* ou *Eugenia jambos*

O jambeiro (*Syzygium jambos* (L.) Alston) é árvore de folhas opostas, pecioladas, elípticas, glabras; as flores são aromáticas dispostas em corimbos ou em racemos terminais; o fruto é do tipo baga globosa amarelo-rósea ou róseo-branca ou arroxeada, muito aromático e succulento (PIO CORREA, 1969).

FERRI (1971) descreveu algumas características de *Jambosa vulgaris* (ou *Syzygium jambos*). As folhas são hipoestomáticas, sendo a maioria dos estômatos paracíticos. As duas superfícies são glabras, apresentando aberturas de glândulas. O parênquima clorofiliano é diferenciado em paliádico e lacunoso. O tecido mecânico é constituído por esclerênquima e colênquima. Há grande ocorrência de drusas em idioblastos incolores (FERRI, 1971).

OKUDA e cols. (1982) isolaram diversos elagitaninos e outros compostos fenólicos dos extratos das folhas de *Syzygium jambos*: pedunculagina, casuarinina, casuariina, casuarictina, telimagrandina I, estrictinina e 2,3-hexaidroxidifenoilglicose.

CHAKRAVARTY e cols. (1998) isolaram, do extrato metanólico das folhas de *Eugenia jambos*, o ácido 4-O- β -D-glicopiranosil-3,3',4'-tri-O-metilelágico.

Flavonóides isolados do extrato metanólico das folhas de *Eugenia jambos* (quercetina e miricetina-3-O- β -D-xilopiranosil-(1-2)- α -L-ramnopiranosídeo), administrados por via oral a ratos, apresentaram atividade antiinflamatória em modelo de inflamação aguda (SLOWING *et al.*, 1996).

YANG e cols. (2000) verificaram, no extrato acetônico das folhas de *Eugenia jambos*, a presença de dois taninos hidrolisáveis (1-O-galoil-castalagina e casuarinina) com propriedades citotóxicas sobre células leucêmicas humanas (HL-60). Os autores sugerem que o mecanismo antitumoral seja devido à indução de apoptose nas células HL-60.

O extrato etanólico das folhas de *Eugenia jambos* possui atividade antiviral *in vitro* contra herpes simplex tipo I e inibe a replicação do vírus da estomatite vesicular, mas não apresenta efeito na replicação de poliovírus (ABAD *et al.*, 1997).

Extratos aquoso e acetônico das cascas de *Syzygium jambos* foram testados quanto à atividade antimicrobiana, apresentando redução e, em alguns casos, inibição do crescimento de todos os microrganismos testados, incluindo bactérias responsáveis por infecções cutâneas e diarreias. Os extratos mostraram-se particularmente efetivos contra *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* e cepas coagulase negativas como *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus cohnii* e *Staphylococcus warneri* (DJIPA *et al.*, 2000).

O chá das folhas de *Syzygium jambos* (2 g de folhas em 250 mL de água) foi administrado a indivíduos não diabéticos, após a ingestão de 75 g de glicose, para avaliação de atividade hipoglicemiante. Em comparação ao grupo que recebeu placebo, o chá não apresentou resultados significativos (TEIXEIRA *et al.*, 1990).

3. OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho é contribuir no conhecimento da espécie *Syzygium jambos* (L.) Alston, pertencente à família Myrtaceae, tanto no aspecto botânico, como químico, farmacológico e toxicológico. São objetivos específicos:

- caracterização farmacobotânica da droga;
- triagem fitoquímica do pó da droga;
- elaboração do perfil cromatográfico dos extratos da droga vegetal;
- fracionamento dos extratos e caracterização das frações, substâncias ativas ou marcadores;
- avaliação das ações antiúlcera, antioxidante e antimicrobiana dos extratos das folhas de *S. jambos*;
- avaliação da toxicidade aguda do extrato hidroetanólico a 70% liofilizado das folhas de *S. jambos* (EHEL).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Estudo farmacobotânico

4.1.1 Coleta e preparação do material vegetal

As folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston foram coletadas durante a floração, em agosto de 2000, na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ – USP, em Piracicaba. Exsicata de ramo florido foi identificada por Fiorella Fernanda Mazine, especialista em Myrtaceae da ESALQ – USP, e depositada no herbário da mesma Escola sob nº ESA 84432.

Parte das folhas frescas foi fixada em FAA₇₀ (formaldeído + ácido acético + álcool a 70%, 1:1:18) e conservada em etanol a 70% para posterior caracterização microscópica (SASS, 1951). Na caracterização macroscópica da droga, foram utilizadas folhas secas em estufa com circulação de ar forçada, a 40 °C durante 48 horas.

4.1.2 Caracterização macroscópica

No estudo da morfologia externa da droga constituída de folhas, foi utilizada amostra de no mínimo sete unidades adultas. As folhas foram analisadas quanto às suas dimensões, forma, aspecto externo de sua superfície, cor e outras peculiaridades importantes para a diagnose da droga, como o ápice, a base, a nervação, a margem e a inserção do

pecíolo (OLIVEIRA *et al.*, 1998; RIZZINI, 1960). Para isto, o material foi observado à vista desarmada ou através de lupa de pequeno aumento. As medidas foram realizadas com auxílio de régua.

4.1.3 Caracterização microscópica

O estudo anatômico foi executado mediante a elaboração de cortes à mão livre, no terço mediano inferior da folha e nas porções proximal, medial e distal do pecíolo. Os cortes histológicos foram diafanizados com solução de hipoclorito de sódio a 60% (OLIVEIRA *et al.*, 1998) e submetidos à coloração com azul de astra e safranina (KRAUS & ARDUIN, 1997).

Na identificação de paredes e inclusões celulares foram utilizados diversos reagentes e corantes. A celulose foi caracterizada com o emprego de hematoxilina de Delafield, a lignina com floroglucinol clorídrico, as substâncias lipofílicas com Sudan III, o amido com lugol a 1% em água, os compostos fenólicos com solução de cloreto férrico a 2% em água (OLIVEIRA *et al.*, 1998). Na observação da epiderme, utilizou-se a técnica de dissociação com peróxido de hidrogênio e ácido acético (FRANKLIN, 1945).

A observação das estruturas e as fotomicrografias foram obtidas em aparelho Olympus®, com aumentos de 40, 100, 200 e 400 vezes.

4.2 Estudo fitoquímico

4.2.1 Preparação da droga

As folhas da espécie em estudo foram secas em estufa com circulação de ar forçada de marca Fabbe, a 40 °C por 48 horas, pulverizadas em moinho de facas e martelos de marca Thomas, passando por tamis de 1 mm. Com o pó da droga foram realizadas a triagem fitoquímica e a elaboração dos extratos.

4.2.2 Elaboração de extratos e fracionamento

4.2.2.1 Extrato hidroetanólico liofilizado

O extrato hidroetanólico (EHEL) foi preparado de acordo com o método A da FARMACOPÉIA BRASILEIRA 2ª ed. (1959). O pó da droga (2.500 g) permaneceu em maceração em etanol a 70% por 24 horas e foi realizada percolação, utilizando o mesmo solvente. O percolato foi concentrado, utilizando evaporador rotativo (à pressão reduzida e temperatura limite de 50 °C) de marca Büchi R-114 e o extrato aquoso remanescente, liofilizado em liofilizador LK4, da marca Edwards do Brasil.

4.2.2.2 Extrato enriquecido

A partir do EHEL foi realizada extração para flavonóides (WAGNER & BLADT, 1996). O EHEL (1 g) foi solubilizado em 5 mL de metanol e extraído por maceração em banho-maria a 60 °C por 5 minutos. O extrato foi concentrado a aproximadamente 2 mL e foram adicionados 1 mL de água e 10 mL de acetato de etila. O conjunto foi agitado diversas vezes e a mistura foi separada em funil de separação. A fração acetato de etila (extrato enriquecido) foi utilizada para a determinação do perfil cromatográfico.

4.2.2.3 Fracionamento por solventes

Para o fracionamento foram pesados 40 g do EHEL e adicionados 400 mL de clorofórmio. A mistura foi mantida em agitador magnético por 30 minutos. Após agitação, a mistura foi filtrada. O filtrado (fração clorofórmica) foi concentrado, utilizando-se o banho-maria. Ao resíduo do papel de filtro foram adicionados 400 mL de acetato de etila e mantidos em agitador magnético por mais 30 minutos, repetindo-se exatamente o procedimento anterior, até a obtenção do extrato concentrado. Foram realizadas ainda extrações com etanol e etanol a 50% em água, sendo este último concentrado e a água residual retirada por liofilização.

4.2.3 Triagem fitoquímica

Foi realizada a triagem fitoquímica do pó da droga para verificação dos grupos de substâncias presentes, segundo método descrito por COSTA (1994).

4.2.3.1 Gomas e mucilagens

Pesou-se 1,0 g da droga pulverizada, colocou-se em uma proveta com tampa com 25 mL de capacidade e verificou-se o volume ocupado pela mesma. Foi adicionada água destilada até o volume de 20 mL. A proveta foi agitada de 10 em 10 minutos na primeira hora. Nas 6 horas seguintes, foi agitada ocasionalmente. Após esse período, o volume ocupado pela droga foi medido. O índice de intumescimento é calculado através da diferença entre o volume final e o volume inicial ocupado pela droga.

4.2.3.2 Óleos essenciais

Sobre uma lâmina de microscopia foi colocado um anel de alumínio, preenchido com 1 g do pó da droga umedecida com água destilada e coberto com outra lâmina. O conjunto foi aquecido e observado quanto ao aparecimento de condensado na lâmina superior. À lâmina contendo o condensado foi acrescentada uma gota de solução de Sudam III, coberta com lamínula e observada ao microscópio. O aparecimento de coloração vermelho-alaranjada, adquirida pelas gotículas de óleo, indica resultado positivo.

4.2.3.3 Glicósidos cardiotônicos

A 2,0 g do pó da droga foram adicionados 20 mL de etanol a 50% e fervidos por 1 minuto. Após decantação, o líquido sobrenadante foi filtrado através de algodão. A extração foi repetida por mais 2 vezes, com porções de 10 mL de etanol a 50%, sendo os extratos reunidos ao final. Foram adicionados 10 mL de solução saturada de acetato básico de chumbo. Agitou-se cuidadosamente e deixou-se em repouso até a sedimentação do precipitado formado. Filtrou-se o sobrenadante através de papel de filtro para um funil de separação. Adicionaram-se 20 mL de água destilada e realizou-se a extração da solução hidroalcoólica com duas porções de 15 mL cada de clorofórmio. O total do extrato clorofórmico foi dividido em porções de 3 mL e evaporados em banho-maria. Os resíduos foram utilizados nas reações de identificação a seguir:

Identificação de núcleo esteroidal

Reação de Liebermann-Burchard

O resíduo do extrato clorofórmico foi retomado com cerca de 0,5 mL de anidrido acético. A solução foi transferida cuidadosamente pelas paredes de um tubo de ensaio contendo aproximadamente 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. O aparecimento de coloração castanho-avermelhada na zona de contato indica resultado positivo.

Identificação de anel lactônico pentagonal

Reação de Kedde

Juntou-se ao resíduo do extrato clorofórmico 4 a 5 gotas de solução alcoólica a 1% de ácido 3,5-dinitrobenzóico e 2 gotas de solução de hidróxido de potássio 1N. O aparecimento de coloração vermelho-violácea intensa indica resultado positivo.

Reação de Baljet

Ao resíduo do extrato clorofórmico foram adicionadas 4 a 5 gotas de solução aquosa a 0,5% de ácido pícrico (2, 4, 6-trinitrofenol) e 2 gotas de solução de hidróxido de potássio 1N. O aparecimento de coloração alaranjada intensa indica resultado positivo.

Identificação de 2-desoxiaçúcares

Reação de Keller-Killiani

O resíduo do extrato clorofórmico foi dissolvido em cerca de 1,0 mL de ácido acético glacial. Juntou-se à solução 2 gotas de solução aquosa de cloreto férrico a 2%. A solução foi transferida cuidadosamente pelas paredes de um tubo de ensaio contendo cerca de 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. O aparecimento de coloração vermelho-acastanhada na zona de contato dos líquidos é indicativo de resultado positivo.

4.2.3.4 Glicósidos saponínicos

Cerca de 2,0 g do pó da droga foram fervidos com 20,0 mL de água destilada durante 2 minutos. O extrato foi filtrado, recolhido em tubo de ensaio com tampa e agitado por aproximadamente um minuto. A presença de espuma persistente é considerada resultado positivo para saponinas.

4.2.3.5 Glicósidos antraquinônicos

Reação de Bornträger

Foram fervidos 0,3 g da droga pulverizada com 20 mL de solução de ácido sulfúrico 2 N, durante 1 a 2 minutos. Após resfriamento, o extrato foi filtrado para um funil de separação e adicionados 10 mL de éter etílico. Após agitação, separou-se a camada etérea para um tubo de ensaio. Adicionou-se cerca de 2 mL de solução aquosa de hidróxido de sódio 2 N e agitou-se. Após a separação das fases, o aparecimento de coloração vermelha intensa na camada aquosa, e camada etérea incolor, são indicativos de resultado positivo.

4.2.3.6 Glicósidos flavonoídicos

Extraiu-se 1,0 g da droga pulverizada com cerca de 15 mL de etanol a 70%, sob aquecimento. O extrato hidroalcoólico foi filtrado e submetido às seguintes reações de identificação:

Reação com hidróxidos alcalinos

A alguns mililitros do extrato hidroalcoólico foram acrescentados 0,5 mL de solução de hidróxido de sódio 1 N. A reação é considerada positiva se houver o aparecimento ou intensificação de coloração amarelada.

Reação de Shinoda

A 2 mL do extrato hidroalcoólico foram adicionados 2 a 3 fragmentos de magnésio metálico e 1 mL de ácido clorídrico concentrado. O desenvolvimento de coloração variando de róseo a vermelho indica resultado positivo.

Reação com cloreto de alumínio

Diferentes áreas de um papel de filtro foram umedecidas com o extrato anteriormente obtido. Sobre uma das regiões umedecidas foi colocada uma gota de solução alcoólica de cloreto de alumínio a 5%. Comparou-se a fluorescência das duas áreas sob luz U.V. de ondas longas (366 nm). O resultado positivo é indicado pela intensificação de fluorescência na região de contato do extrato com o reativo, bem como a mudança para coloração amarelo-esverdeada.

4.2.3.7 Taninos

Foram fervidos durante 5 minutos 1 g da droga pulverizada com 50 mL de água. Após resfriamento e filtração, foi verificada a adstringência da solução. Do extrato aquoso, foram retiradas alíquotas de 1 a 2 mL para a

realização de cada uma das reações abaixo relacionadas. Foram observadas a intensidade e tonalidade da coloração adquirida pela solução ou precipitado após a adição de cada reativo.

Reação com sais de ferro

Ao extrato aquoso foram adicionados cerca de 5 mL de água e algumas gotas de solução de cloreto férrico a 2% em água.

Reação com acetato de chumbo

Adicionou-se ao extrato gotas de solução aquosa a 1% de acetato de chumbo.

Reação com acetato de cobre

Juntou-se ao extrato algumas gotas de solução aquosa de acetato de cobre a 3%.

Reação com alcalóides

Ao extrato aquoso adicionou-se uma gota de solução de ácido clorídrico a 10% e algumas gotas de solução aquosa a 0,1% de um sal de alcalóide solúvel em água (sulfato de quinina).

Reação com gelatina

Acrescentou-se, a um tubo de ensaio contendo o extrato, uma gota de solução de ácido clorídrico a 10% e em seguida, a solução aquosa de gelatina a 2,5%, gota a gota, para evitar a redissolução do precipitado formado.

4.2.3.8 Alcalóides

Agitaram-se 2 g da droga pulverizada com 20 mL de solução aquosa de ácido clorídrico a 1%, aquecendo a mistura por alguns minutos. Após resfriamento, a mistura foi filtrada para um funil de separação e alcalinizou-se o filtrado com solução de hidróxido de amônio a 10%.

Extraiu-se a solução alcalina com 2 porções de 10 mL de clorofórmio. Cada um dos extratos orgânicos foi filtrado para um béquer. O clorofórmio foi evaporado em banho-maria e o resíduo redissolvido em 2 mL de ácido clorídrico diluído a 1%.

Em cada uma de 4 lâminas de microscopia foi colocada uma gota da solução ácida obtida anteriormente. Ao lado colocou-se, em cada lâmina, um diferente reativo de precipitação - Mayer, Bertrand, Dragendorff e Bouchardat – unindo-se as duas gotas com auxílio de um bastão de vidro. A formação de precipitado na zona de contato dos líquidos indica resultado positivo.

4.2.4 Doseamento de taninos

A avaliação do teor de taninos na droga e no EHEL das folhas de *S. jambos* foi realizada segundo metodologia descrita em EUROPEAN PHARMACOPOEIA (1996). O resultado foi expresso em porcentagem de taninos. O método determina o teor de polifenóis pela reação desses com o ácido fosfotúngstico, utilizando como substância de referência o pirogalol (Merck).

Amostra

A 0,750 g da droga foram adicionados 150 mL de água destilada. O conjunto foi aquecido até a fervura em banho-maria por 30 minutos. Após resfriamento, a mistura foi transferida quantitativamente para balão volumétrico e completado o volume para a 250 mL com água destilada. Após decantação dos sólidos, o líquido foi filtrado, desprezando-se os 50 mL iniciais. O restante foi utilizado para o ensaio. O EHEL foi submetido a tratamento similar, partindo-se de 0,300 g do extrato liofilizado.

Polifenóis totais

Foram diluídos 5 mL do filtrado em balão volumétrico para 25 mL com água. A 5 mL dessa solução foi adicionado 1 mL de ácido fosfotúngstico e a mistura diluída para 50 mL com uma solução a 15% (m/v) de carbonato de sódio. Exatamente após 2 minutos da adição do último reagente, foi medida a absorbância a 715 nm.

Polifenóis não adsorvidos pelo pó de pele

A 10 mL do filtrado inicial foram adicionados 0,10 g de pó de pele e mantidos sob agitação por 60 minutos. Após filtração, 5 mL do filtrado foram diluídos em balão volumétrico para 25 mL com água. A 5 mL dessa solução foi adicionado 1 mL de ácido fosfotúngstico e diluído para 50 mL com uma solução a 15% (m/v) de carbonato de sódio. Exatamente após 2 minutos da adição do último reagente, foi medida a absorbância a 715 nm.

Padrão

Sob proteção da luz, foram dissolvidos 50,0 mg de pirogalol em água e diluídos a 100 mL com o mesmo solvente. Foram diluídos 5,0 mL desta solução inicial para 100 mL com água. A 5 mL da última solução, foi adicionado 1 mL de ácido fosfotúngstico e diluído para 50 mL com uma solução a 15% (m/v) de carbonato de sódio. Exatamente após 2 minutos da adição do último reagente, foi medida a absorbância a 715 nm.

Cálculo

$$\text{Teor de taninos} = \frac{13,12 (A_1 - A_2)}{A_3 \times m}$$

Sendo: A_1 = absorbância dos polifenóis totais

A_2 = absorbância dos polifenóis não adsorvidos pelo pó de pele

A_3 = absorbância da solução de referência (pirogallol)

m = massa da amostra utilizada (g)

4.2.5 Doseamento de flavonóides totais

A quantificação dos flavonóides totais da droga e do EHEL foi realizada segundo metodologia descrita por WICHTL (1971), após eliminação prévia de clorofila.

Foram pesados exatamente 0,4 g da droga e 0,1 g do EHEL. A eliminação de clorofila foi realizada em Soxhlet, utilizando tetracloreto de carbono, através de extrações consecutivas durante uma hora. Após as extrações, os cartuchos com a droga e EHEL foram secos e este material foi utilizado na quantificação dos flavonóides totais.

A droga e o EHEL foram aquecidos sob refluxo, em banho de água, durante 30 minutos, com uma mistura de 20 mL de acetona e 2 mL de ácido clorídrico a 25%. As misturas foram filtradas e os resíduos foram extraídos mais duas vezes com 20 mL de acetona cada, sob aquecimento a refluxo. Os extratos foram novamente filtrados, reunidos e completados a 100,0 mL com acetona.

Foram misturados 20 mL da solução acetônica com 20 mL de água, e a mistura foi extraída com 15 mL e, a seguir, com 3 porções de 10 mL de acetato de etila. As fases de acetato de etila reunidas foram extraídas 3 vezes com 40 mL de água, cada. Após separação das fases, a fase orgânica foi completada a 50,0 mL com acetato de etila (solução A).

A 10 mL da solução A foram adicionados 0,5 mL de uma solução aquosa de citrato de sódio a 0,5%. À mistura foram adicionados 2,0 mL de uma solução de 2 g de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 100 mL de metanol – ácido acético

concentrado (95 + 5) e completado o volume a 25,0 mL com a mesma mistura de solventes. Após 45 minutos foi lida a extinção da solução contra um branco (mesma solução, sem cloreto de alumínio), a 425 nm.

Cálculo:

$$\% \text{ de flavonóis (calculados como quercetina)} = \frac{E \times 0,735}{g}$$

Sendo: E = extinção a 425 nm

g = massa em gramas

4.2.6 Perfil cromatográfico dos extratos das folhas de *Syzygium jambos*

Foi realizada cromatografia em camada delgada para delineamento do perfil cromatográfico e indicação das substâncias presentes no EHEL e nas frações obtidas, a partir do EHEL, com clorofórmio, acetato de etila, etanol e etanol a 50% em água, através de comparação com padrões.

Foram utilizados diversos sistemas cromatográficos descritos por WAGNER & BLADT (1996), STAHL (1969) e MARKHAM (1982), direcionados principalmente para flavonóides. Entre todos os sistemas empregados, a melhor resolução foi obtida com os sistemas a seguir:

Sistema 1

tamanho das placas de vidro: 20x20 cm

suporte: celulose microcristalina

espessura da camada: 300 μm

saturação da cuba: total

percurso: distância: 12 cm

sentido: ascendente

fase móvel: butanol + ácido acético glacial + água (40:10:50)

revelador: difenilboriloxietilamina a 1% em metanol + polietilenoglicol a 5% em metanol (NP/PEG)

visualização: UV 366 nm

Sistema 2

tamanho das placas de vidro: 20x20 cm

suporte: celulose microcristalina

espessura da camada: 300 μm

saturação da cuba: total

percurso: distância: 12 cm

sentido: ascendente

fase móvel: ácido acético a 30% em água

revelador: difenilboriloxietilamina a 1% em metanol + polietilenoglicol a 5% em metanol (NP/PEG)

visualização: UV 366 nm

4.3 Ensaaios farmacológicos

Os animais utilizados nos ensaios farmacológicos foram provenientes do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Foram mantidos durante 5 dias em adaptação ao ambiente do ensaio, em gaiolas apropriadas, com ciclo de claro-escuro regulado para 12/12 h.

4.3.1 Toxicidade aguda (SOUZA BRITO, 1994)

Animais

Foram utilizados camundongos Swiss, apresentando massa corpórea de aproximadamente 30 g. Dez animais (cinco machos e cinco fêmeas) foram utilizados como teste, e dez animais nas mesmas condições como controle. As fêmeas eram nulíparas e não-prenhes. Os animais foram mantidos em jejum por aproximadamente 6 horas antes de cada experimento, com livre acesso à água.

Ensaio

O EHEL foi administrado aos animais por via oral, na dose de 5 g/kg de massa corpórea, em suspensão aquosa na concentração de 0,5 g/mL (volume de 1 mL por 100 g de massa corpórea do animal). Para o lote de animais controle foi administrado 1 mL de água potável para cada 100 g de massa corpórea. Após a administração, os animais foram privados de ração e água por quatro horas. Durante este período, a cada 30 minutos, foi observado o

padrão de comportamento dos animais (depressão, excitação, convulsão, estereotipia, piloereção, diarreia, constipação), e depois a cada 24 horas, durante todo o experimento.

A massa corpórea dos animais, o consumo de água e de ração foram avaliados em dias alternados durante os quatorze dias seguintes. Ao final desse período os animais foram mortos, tiveram seus órgãos retirados (coração/pulmão, fígado e rins), avaliados macroscopicamente quanto a possíveis alterações e pesados.

4.3.2 Determinação da DL₅₀

Como houve morte de grande número de animais, o ensaio de DL₅₀ foi efetuado posteriormente, utilizando as doses de extrato de 1,2 g/kg, 1,92 g/kg, 3,07 g/kg, 4,90 g/kg e 7,86 g/kg, seguindo o mesmo protocolo do ensaio anterior.

O método para cálculos dos valores de DL₅₀ em bioensaios foi o Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.*, 1978).

4.3.3 Atividade antimicrobiana (WADT *et al.*, 1996)

Foram utilizados os seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Candida albicans* ATCC 10231 e *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Preparação dos meios de cultura

Os meios de caseína-soja (ágar e caldo) e Sabouraud-dextrose (ágar e caldo) foram preparados a partir do meio desidratado, conforme as instruções do fabricante (Difco).

Preparação do inóculo

As bactérias foram semeadas em tubos de ensaio com meio inclinado de ágar caseína-soja e incubadas a 35 ± 1 °C, durante 24 horas. Os fungos foram semeados em meio de ágar Sabouraud-dextrose, com incubação a 20 – 25 °C, durante 48 horas para *C. albicans* e 5 dias para *A. niger*.

A massa celular resultante do crescimento foi recolhida em 9 mL de solução fisiológica estéril e a suspensão obtida foi submetida à contagem de microrganismos viáveis, pela técnica de semeadura em profundidade. Para isto foram efetuadas diluições decimais seriadas da suspensão em solução fisiológica e alíquotas de 1 mL das diferentes diluições foram transferidas para placas de Petri em triplicata. As suspensões foram homogeneizadas com 15 – 20 mL de meio de cultura fundido, ágar caseína-soja para as bactérias e ágar Sabouraud-dextrose para os fungos. Após incubação das placas em estufa a 35 ± 1 °C durante 24 horas para as bactérias e 20 – 25 °C durante 48 horas para *C. albicans* e 5 dias para *A. niger*, foi efetuada a contagem das colônias.

O número de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) da suspensão foi determinado a partir do número obtido das placas com 30 a 300 colônias no caso das bactérias e levedura, e 30 a 100 para o bolor.

Conhecendo-se a concentração de microrganismos para cada suspensão, foram efetuadas diluições necessárias em solução fisiológica para se obter 100 UFC/mL.

Teste para a determinação do valor de concentração mínima inibitória (CMI) pelo método de diluição em meio líquido em tubos.

Séries de 3 tubos contendo 9,0 mL de caldo caseína-soja para bactérias e caldo Sabouraud-dextrose para fungos foram inoculadas com 0,5 mL de suspensão de microrganismo. Para cada série foram adicionadas alíquotas de 0,5 mL de solução do EHEL de concentração conhecida. Paralelamente foram efetuados os seguintes tubos controle: contendo o meio de cultura inoculado (controle negativo para inibição) e meio de cultura com o extrato sem o microrganismo (para verificação de contaminação da amostra).

Os tubos com bactérias foram incubados a 35 ± 1 °C e aqueles com os fungos a 20 – 25 °C, durante o tempo necessário para que houvesse formação de turvação nos meios de controle negativo.

Nas mesmas condições do teste foram determinados os valores de concentração mínima inibitória do cloranfenicol para bactérias e anfotericina B para os fungos (controles positivos de inibição microbiana).

4.3.4 Atividade antiúlcera (MIZUI & DOTEUCHI, 1983; BACCHI, 1988)

Animais

Ratos Wistar fêmeas, de 150 a 180 g, foram mantidos em jejum por 24 horas antes de cada experimento, com livre acesso à água. Os testes foram realizados com lotes de 10 animais controle e 10 animais teste.

Ensaio

O EHDL foi administrado aos animais por via oral, na dose de 400 mg/kg de massa corpórea, em suspensão aquosa na concentração de 40 mg/mL (volume de 1 mL por 100 g de massa corpórea do animal). Para o lote de animais controle foi administrado 1 mL de água para cada 100 g do animal. Após 30 minutos, foi administrado por via oral, ácido clorídrico a 0,3 M em etanol a 60%. Misoprostol utilizado como controle positivo, na dose de 100 µg/kg de massa corpórea. Uma hora depois da administração do indutor, os animais foram mortos, os estômagos retirados, abertos pela pequena curvatura, e as ulcerações foram contadas e classificadas em 3 níveis: I (pontuais), II (média extensão) e III (extensas – hemorrágicas). O mesmo protocolo foi seguido utilizando as frações obtidas com clorofórmio, acetato de etila, etanol e etanol a 50%.

Os resultados foram submetidos a tratamento estatístico, através de análise de variância e Tukey.

4.3.5 Atividade antioxidante (STOCKS *et al.*, 1974)

Animais

Foram utilizados no experimento ratos Wistar machos, de massa corpórea de aproximadamente 300 g.

Determinação da velocidade de produção de malonildialdeído (MDA) em homogeneizado de cérebro *in vitro*.

Foi realizada a perfusão do cérebro do animal através do coração com tampão fosfato pH 7,4. O cérebro foi retirado e homogeneizado em 4 vezes o seu peso de volume do tampão acima mencionado. A mistura foi centrifugada a 3000 rpm a 4 °C durante 15 minutos. O sobrenadante foi diluído com tampão fosfato em proporção 1:4 e conservado no gelo até o final dos testes.

Foram transferidos 3 mL do homogeneizado de cérebro para erlenmeyers de 25 mL e acrescentados 50 µL da amostra (EHEL). Foram utilizadas soluções hidroetanólicas (etanol a 35%) do EHEL em diferentes concentrações. O mesmo solvente foi utilizado como controle.

Foi reservado para tempo zero (T_0) 1 mL da diluição acima e acrescentado 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 5%. O restante foi incubado por uma hora, a 37 °C, sob agitação. Após 1 hora, foi retirado 1 mL da diluição incubada e acrescentado 1 mL de TCA a 5%.

A seguir, as amostras, tanto tempo zero como as incubadas (T_1), foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos. De todas as amostras foi retirado 1 mL do sobrenadante e a este acrescentado 1 mL de solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,67% em água. O conjunto foi levado a aquecimento em banho de água fervente por 20 minutos.

Imediatamente após o aquecimento, foi feito um resfriamento em banho de gelo por 20 minutos. Após 20 minutos em temperatura ambiente, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 535 nm.

Os cálculos da capacidade antioxidante (CAOx) do extrato foram efetuados segundo a fórmula:

$$\% \text{CAOx} = 1 - \frac{T_1(\text{amostra}) - T_0(\text{amostra})}{T_1(\text{controle}) - T_0(\text{controle})} \times 100$$

Onde: T_1 = leitura espectrofotométrica do tempo 1 hora (incubadas)

T_0 = leitura espectrofotométrica do tempo zero

5. RESULTADOS

5.1 Estudo farmacobotânico

Syzygium jambos (L.) Alston constitui espécie vegetal de porte arbóreo, ramificado (Fig.1A). A figura 1B mostra o aspecto geral do ramo florido e as figuras 1C e 1D, ramos frutificados do vegetal.

5.1.1 Caracterização macroscópica

As folhas de *S. jambos*, transformadas em droga (Fig.1F), apresentaram-se inteiras, de consistência coriácea, superfície lisa, glabra, de coloração verde pardacenta, sendo mais clara na face abaxial. Possuem odor aromático característico e sabor adstringente.

A lâmina foliar apresenta contorno lanceolado, com aproximadamente 17 a 20 cm de comprimento e 3,5 a 4 cm de largura, ápice agudo, base cuneada e margem inteira (Fig.1E). Quanto à nervação, a folha é penínérvea, apresentando nervura marginal.

As folhas secas apresentaram-se retorcidas, com os bordos recurvados no sentido da face adaxial. Foram observados pontos translúcidos por toda a superfície da lâmina foliar.

O pecíolo, de inserção lateral, apresenta-se levemente curvo e de secção transversal arredondada com uma concavidade na face adaxial. Possui aproximadamente 8 a 10 mm de comprimento e apresenta superfície rugosa.

5.1.2 Caracterização microscópica

As características histológicas das folhas de *S. jambos* encontram-se descritas a seguir:

❖ Lâmina foliar

A folha é hipostomática (Fig. 2A e 2B). Em vista frontal, a face adaxial apresenta células epidérmicas quadrangulares a hexagonais, de dimensões variáveis, providas de paredes celulósicas e cutícula lisa (Fig. 2B e 2C). A face abaxial revela células de paredes sinuosas e estômatos com 2 a 5 células subsidiárias, predominando os estômatos paracíticos (Fig.2A).

Em ambas as faces observam-se duas células recobrimdo as cavidades secretoras. Essas células mostram-se diferenciadas, com parede comissural ligeiramente sinuosa (Fig.2C), e circundadas radialmente por células epidérmicas.

A folha é dorsiventral. A epiderme, uniestratificada em ambas as faces, apresenta células de contorno aproximadamente quadrangular. As células da face adaxial são proporcionalmente maiores que as da face abaxial (Fig.3A). O mesofilo é constituído de 1 a 2 camadas de parênquima paliçádico. Células coletoras são observadas nessa região (Fig.3B). O parênquima paliçádico é constituído de diversas camadas de células braciiformes (Fig.3B).

Idioblastos arredondados contendo drusas de oxalato de cálcio ocorrem principalmente próximo às superfícies foliares. A figura 3A mostra um destes idioblastos, porém sem a drusa.

Células alongadas, ramificadas e de paredes com espessamento celulósico percorrem toda a região do limbo (Fig. 3A e 3D). A fig. 3C evidencia essas células em material dissociado.

A nervura mediana apresenta contorno plano-convexo. O colênquima mostra, em secção transversal, de 3 a 5 camadas de células. O feixe vascular, bicolateral, disposto em arco aberto (Fig.4A), encontra-se envolvido por células com espessamento celulósico e lignificado (Fig. 4B, 4C e 4D). O espessamento lignificado é uniforme ou em U (Fig.4C). Os vasos estão dispostos em fileiras radiais e encontram-se separados por raios parenquimáticos (Fig.4D).

Drusas são freqüentes no parênquima fundamental e na região floemática (Fig. 4B, 4C e 4D).

Cavidades secretoras são observadas junto à epiderme, sob ambas faces (Fig. 4A e 4D).

Com a utilização de cloreto férrico, verificou-se a presença de compostos fenólicos, principalmente na região do floema, ao redor das cavidades secretoras, e próximo à epiderme, especialmente junto à face adaxial, na região do parênquima paliçádico (Fig.5).

❖ Pecíolo

O pecíolo, em secção transversal, apresenta contorno arredondado com a concavidade voltada para a face adaxial. As células epidérmicas são aproximadamente quadrangulares, recobertas por cutícula lisa e cuneiforme. Cavidades secretoras ocorrem mais distantes da epiderme (Fig. 6A).

O sistema vascular apresenta-se em arco, com as extremidades dirigidas para o centro (Fig. 6B). No xilema, os vasos estão dispostos em fileiras radiais e encontram-se separados por raios parenquimáticos (Fig. 6C). Drusas são observadas no parênquima fundamental e no floema (fig. 6A e 6C). Esclereídes ocorrem na região externa ao floema (Fig. 6B). Essas células apresentam-se maiores em dimensão e número na porção distal do pecíolo (Fig. 6C).

No material dissociado, foi possível observar esclereídes de forma alongada e irregular, com até 3 ramificações na extremidades (Fig. 6D e 6E).

Figura 1. *Syzygium jambos* (L.) Alston.

- A** – Aspecto geral da planta.
- B** – Ramo florido.
- C e D** – Ramos frutificados.
- E** – Folhas frescas.
- F** – Droga constituída de folhas.

Figura 2. *Syzygium jambos* (L.) Alston – vista frontal da epiderme.

A – Face abaxial: células de paredes sinuosas; maioria dos estômatos paracíticos. Escala = 20 μm .

B – Face adaxial: células com contorno poligonal. Escala = 10 μm .

C – Face adaxial: região das células que recobrem as glândulas. Escala = 10 μm .

Figura 3. *Syzygium jambos* (L.) Alston – mesofilo.

A – Secção transversal: aspecto geral do mesofilo. Escala = 40 μm .

B – Secção transversal: parênquima paliçádico, células coletoras, parênquima lacunoso. Escala = 20 μm .

C – Tecido dissociado: células alongadas e ramificadas de paredes celulósicas. Escala = 40 μm .

D – Secção transversal: detalhe do mesofilo evidenciando cavidade secretora subepidérmica. Escala = 20 μm .

Figura 4. *Syzygium jambos* (L.) Alston – secção transversal da nervura mediana.

A – Feixe vascular bicolateral envolvido por bainha de fibras. Escala = 100 μm .

B – Superfície adaxial: região de colênquima; idioblastos contendo drusas. Escala = 40 μm .

C – Detalhe do sistema vascular: fibras com espessamento celulósico e lignificado; drusas na região parenquimática. Escala = 20 μm .

D – Superfície abaxial: cavidade secretora subepidérmica; drusas na região parenquimática. Escala = 40 μm .

Figura 5. *Syzygium jambos* (L.) Alston – secção transversal do limbo foliar.

Utilização de cloreto férrico na visualização de compostos fenólicos.

A – Nervura mediana. Escala = 100 μm .

B e C – Compostos fenólicos na região subepidérmica. Escala = 20 μm .

D – Cavidade secretora. Escala = 40 μm .

E – Região do floema. Escala = 20 μm .

Figura 6. *Syzygium jambos* (L.) Alston – pecíolo.

A – Secção transversal: cavidade secretora; idioblastos contendo drusas. Escala = 40 μm .

B – Secção transversal: feixe vascular bicolateral; grande quantidade de esclereídes. Escala = 100 μm .

C – Secção transversal: detalhe do sistema vascular. Drusas na região do floema; esclereídes. Escala = 40 μm .

D – Tecido dissociado: esclereíde apresentando ramificações nas extremidades. Escala = 20 μm .

E – Tecido dissociado: esclereíde. Escala = 40 μm .

5.2 Estudo fitoquímico

5.2.1 Rendimento do EHEL e das frações

O EHEL representou um rendimento de 30% (a partir de 2500 g da droga pulverizada, foram obtidos 752 g de extrato liofilizado).

No fracionamento, os extratos obtidos a partir de 40 g do EHEL, após concentração e secagem, forneceram um rendimento de:

- 3,492 g (clorofórmio)	8,73%
- 1,790 g (acetato de etila)	4,48%
- 21,842 g (etanol)	54,60%
- 11,870 g (etanol a 50%).	29,68%

5.2.2 Análise fitoquímica preliminar

A análise fitoquímica do pó das folhas secas de *S. jambos* apresentou os resultados relacionados na Tabela 2.

Tabela 2. Triagem fitoquímica preliminar de *Syzygium jambos* (L) Alston. Testes realizados com o pó das folhas secas (COSTA, 1994).

Grupos de princípios ativos	Reações	Resultado
mucilagens	Índice de intumescimento	II = 3,1
glicósidos cardiotônicos	Liebermann-Burchard	negativo
	Kedde	negativo
	Baljet	negativo
	Keller-Killiani	negativo
glicósidos saponínicos	Espuma	negativo
antraquinonas	Bornträger	negativo
glicósidos flavonoídicos	hidróxidos alcalinos	positivo
	Shinoda	positivo
	cloreto de alumínio	positivo
taninos	acetato de chumbo	positivo
	cloreto férrico	positivo
	acetato de cobre	positivo
	Alcalóides	positivo
	Gelatina	positivo
alcalóides	Mayer	negativo
	Bertrand	negativo
	Bouchardat	negativo
	Dragendorff	negativo
óleo volátil	microdestilação	positivo

II (índice de intumescimento) = volume ocupado final – volume ocupado inicial

5.2.3 Doseamento de taninos

O teor de taninos obtido no pó da droga foi de 21,9%. O EHEL das folhas de *S. jambos* apresentou 43,3% de taninos.

5.2.4 Doseamento de flavonóides totais

O pó das folhas secas de *S. jambos* apresentou 0,6% de flavonóides totais, calculados como quercetina. O teor de flavonóides no EHEL foi de 1,2%.

5.2.5 Perfil cromatográfico dos extratos das folhas de *Syzygium jambos*

O perfil cromatográfico foi definido para o EHEL e para as frações obtidas com acetato de etila, etanol e etanol a 50% a partir do EHEL das folhas de *S. jambos*, utilizando-se os Sistemas 1 (Fig.7) e 2 (Fig.8). A rotina foi utilizada como padrão.

Figura 7. Perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) e das frações clorofórmica, acetato de etila, etanólica e hidroalcoólica a 50% de *S. jambos*, utilizando o Sistema 1 (suporte: celulose; fase móvel: butanol+ácido acético+água, 4:1:5; revelador: NP/PEG).

1 – EHEL; 2 – extrato enriquecido (segundo WAGNER & BLADT); 3 – fr. acetato de etila; 4 – fr. etanólica; 5 – fr. hidroalcoólica a 50%; 6 – fr. clorofórmica; R – rutina.

Figura 8. Perfil cromatográfico do EHEL e das frações acetato de etila, etanólica e hidroalcoólica a 50% de *S. jambos*, utilizando o Sistema 2 (suporte: celulose; fase móvel: ácido acético a 30%; revelador: NP/PEG).

1 – EHEL; 2 – extrato enriquecido (segundo WAGNER & BLADT); 3 – fr. acetato de etila; 4 – fr. etanólica; 5 – fr. hidroalcoólica a 50%; R – rutina.

5.3 Ensaio farmacológicos

5.3.1 Toxicidade aguda

As Figuras 9 e 10 representam a variação do consumo de água e de ração dos animais (machos e fêmeas) controle e tratados, após administração de 5 g/kg do EHEL de *S. jambos*.

Figura 9. Variação do consumo de água (mL) dos animais controle e teste, avaliado a cada 2 dias, durante quatorze dias, no teste de toxicidade aguda, pela administração oral do EHEL das folhas de *S. jambos*, na dose de 5 g/kg. Cada ponto corresponde à média de consumo de 5 animais.

Figura 10. Variação do consumo de ração (g) dos animais controle e teste, avaliado a cada 2 dias, durante quatorze dias, no teste de toxicidade aguda, pela administração oral do EHEL das folhas de *S. jambos*, na dose de 5 g/kg. Cada ponto corresponde à média de consumo de 5 animais.

Na dose utilizada de 5 g/kg, houve morte de 7 animais (4 machos e 3 fêmeas), não sendo possível realizar o cálculo estatístico da relação massa dos órgãos/massa corpórea dos animais.

Os efeitos agudos observados mais acentuadamente nos animais foram apatia, respiração ofegante, piloereção e dificuldade de locomoção. As mortes ocorreram em até 72 horas depois da administração do extrato; após este período, os sintomas regrediram e não houve mais mortes. A análise macroscópica dos órgãos (fígado, rins, coração e pulmão) não apresentou diferenças em relação ao grupo controle.

5.3.2 Determinação da DL₅₀

O ensaio de determinação da DL₅₀ foi realizado utilizando as doses de extrato de 1,2 g/kg; 1,92 g/kg; 3,07 g/kg; 4,90 g/kg e 7,86 g/kg.

O valor de DL₅₀ encontrado foi de 4,68 g/kg.

Os mesmos efeitos da toxicidade aguda foram observados na determinação da DL₅₀ a partir da dose de extrato de 3,07 g/kg. Da mesma forma, a análise macroscópica dos órgãos (fígado, rins, coração e pulmão) não apresentou diferenças em relação ao grupo controle em nenhuma das doses utilizadas.

A Figura 11 apresenta a comparação entre as massas relativas dos órgãos dos animais após os 14 dias do experimento.

Figura 11. Comparação entre as massas relativas de órgãos dos animais tratados e controle no experimento de DL_{50} para o EHEL de *S. jambos*. Cada valor representa a média da relação de 5 animais.

* $p < 0,05$ = resultado significativo

** $p < 0,01$ = resultado muito significativo

5.3.3 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do EHEL das folhas de *S. jambos* foi avaliada através da determinação da concentração mínima inibitória (CMI) pelo método de diluição em meio líquido em tubos. Os resultados encontram-se nas Tabelas 3 a 6.

Tabela 3. Atividade antimicrobiana do EHEL das folhas de *S. jambos* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Amostra	<i>Staphylococcus aureus</i>
cloranfenicol 2 µg/mL	3-
extrato 1000 µg/mL	3-
extrato 750 µg/mL	3-
extrato 500 µg/mL	3-
extrato 300 µg/mL	3-
extrato 200 µg/mL	2-, 1+
extrato 125 µg/mL	3+
controle negativo	3+

Legenda:

(3+) = 3 tubos com crescimento microbiano

(2-, 1+) = 2 tubos sem crescimento microbiano e 1 tubo com crescimento

(3-) = 3 tubos sem crescimento microbiano

Tabela 4. Atividade antimicrobiana do EHEL das folhas de *S. jambos* frente a *Escherichia coli* ATCC 10536.

Amostra	<i>Escherichia coli</i>
cloranfenicol 3 µg/mL	3-
extrato bruto 1000 µg/mL	3+
controle negativo	3+

Legenda:

(3+) = 3 tubos com crescimento microbiano

(3-) = 3 tubos sem crescimento microbiano

Tabela 5. Atividade antimicrobiana do EHEL das folhas de *S. jambos* frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Amostra	<i>Candida albicans</i>
anfotericina B 1 µg/mL	3-
extrato 2000 µg/mL	3+
extrato 1000 µg/mL	3+
controle negativo	3+

Legenda:

(3+) = 3 tubos com crescimento microbiano

(3-) = 3 tubos sem crescimento microbiano

Tabela 6. Atividade antimicrobiana do EHEL das folhas de *S. jambos* frente a *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Amostra	<i>Aspergillus niger</i>
anfotericina B 10 µg/mL	3-
extrato 2000 µg/mL	3+
extrato 1000 µg/mL	3+
controle negativo	3+

Legenda:

(3+) = 3 tubos com crescimento microbiano

(3-) = 3 tubos sem crescimento microbiano

5.3.4 Atividade antiúlcera

A avaliação da atividade antiúlcera aguda do EHEL das folhas de *S. jambos* foi realizada através da indução por etanol e ácido clorídrico. O teste foi realizado com o EHEL das folhas e com as frações obtidas a partir do EHEL, através de fracionamento por solventes (clorofórmio, acetato de etila, etanol e etanol a 50%). Os resultados encontram-se nas Tabelas 7 a 9 e Figuras 12 a 14.

Tabela 7. Efeito da administração oral do EHEL das folhas de *S. jambos* (400 mg/kg) na incidência de lesões gástricas agudas induzidas por etanol e ácido clorídrico (1 mL/100 g de massa corpórea). Misoprostol foi utilizado como controle positivo (100 µg/kg).

	Média do número de lesões		
	Nível I	Nível II	Nível III
CONTROLE	1,80 ± 0,57	5,20 ± 0,44	16,10 ± 1,41
EXTRATO	1,70 ± 0,54	4,40 ± 0,99	2,70 ± 0,78***
MISOPROSTOL	1,80 ± 0,85	1,50 ± 0,56**	0,80 ± 0,69***

Cada valor representa a média ± erro padrão de 10 animais.

* $p < 0,05$ = resultado significativo

** $p < 0,01$ = resultado muito significativo

*** $p < 0,001$ = resultado extremamente significativo

Figura 12. Efeito da administração oral do EHEL das folhas de *S. jambos*, na dose de 400 mg/kg, no teste de atividade antiúlcera gástrica em modelo de indução aguda por etanol e ácido clorídrico (1 mL/100 g de massa corpórea). Cada valor corresponde à média de 10 animais.

Tabela 8. Efeito da administração oral das frações etanol e etanol a 50% de *S. jambos* (400 mg/kg) na incidência de lesões gástricas agudas induzidas por etanol e ácido clorídrico (1 mL/100 g de massa corpórea).

	Média do número de lesões		
	Nível I	Nível II	Nível III
CONTROLE	2,80 ± 1,02	7,20 ± 1,19	18,80 ± 3,04
ETANOL	7,10 ± 0,98*	6,40 ± 1,45	7,90 ± 1,96**
ETANOL A 50%	6,40 ± 1,34	7,70 ± 1,20	10,60 ± 2,13

Cada valor representa a média ± erro padrão de 10 animais.

* $p < 0,05$ = resultado significativo

** $p < 0,01$ = resultado muito significativo

Figura 13. Efeito da administração oral das frações etanol e etanol a 50% de *S. jambos*, na dose de 400 mg/kg, no teste de atividade antiúlcera gástrica em modelo de indução aguda por etanol e ácido clorídrico (1 mL/100 g de massa corpórea). Cada valor corresponde à média de 10 animais.

Tabela 9. Efeito da administração oral das frações clorofórmio e acetato de etila de *S. jambos* (400 mg/kg) na incidência de lesões gástricas agudas induzidas por etanol e ácido clorídrico (1 mL/100 g de massa corpórea).

	Média do número de lesões		
	Nível I	Nível II	Nível III
CONTROLE	3,50 ± 1,21	6,10 ± 1,09	20,10 ± 2,27
CLOROFÓRMIO	6,20 ± 1,65	4,30 ± 1,45	8,80 ± 3,44*
ACETATO DE ETILA	8,90 ± 1,60	10,10 ± 3,10	10,90 ± 3,09

Cada valor representa a média ± erro padrão de 10 animais.

* $p < 0,05$ = resultado significativo

Figura 14. Efeito da administração oral das frações clorofórmio e acetato de etila de *S. jambos*, na dose de 400 mg/kg, no teste de atividade antiúlcera gástrica em modelo de indução aguda por etanol e ácido clorídrico (1 mL/100 g de massa corpórea). Cada valor corresponde à média de 10 animais.

5.3.5 Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante do EHEL de *S. jambos* foi avaliada através da velocidade de produção de malonildialdeído (MDA), na lipoperoxidação espontânea de homogeneizado de cérebro de ratos. Os valores representam a média de 4 determinações de substâncias reagentes com ácido tiobarbitúrico (TBARS) e são apresentados nas Figuras 15 e 16.

Figura 15. Capacidade antioxidante (CAOx %) do EHEL das folhas de *S. jambos* na lipoperoxidação de homogeneizado de cérebro de rato.

Figura 16. Regressão linear da capacidade antioxidante do EHEL das folhas de *S. jambos*.

Equação da reta: $y = a + bx$

$a = 0,0079$

$b = 0,002$

Regressão linear: 0,9761

Cálculo de $Q_{1/2}$ (concentração necessária para atingir 50% da capacidade antioxidante):

$$y = 1/50 = 0,0079 + 0,002x$$

$$Q_{1/2} = 0,165 \mu\text{g/mL}$$

6. DISCUSSÃO

Os vegetais fazem parte da vida do homem desde seus primórdios, como fonte de alimentos, de materiais para o vestuário, habitação, utilidades domésticas, na produção de meios de transporte, como utensílios para manifestações artísticas, culturais e religiosas, e como meio restaurador da saúde (SCHENKEL *et al.*, 2002a).

As plantas medicinais constituem fonte inesgotável de substâncias potencialmente ativas como medicamento, e devem ser consideradas não apenas como matéria-prima, ponto de partida para a descoberta de novas moléculas, mas também como um recurso natural com atividade potencial na forma de fitoterápico padronizado e eficaz (DI STASI, 1996).

No estudo de plantas medicinais, a identificação da espécie é um dos passos mais importantes para que qualquer investigação possa ser reproduzida. Para que estudos envolvendo plantas medicinais, quer sejam na área de etnobotânica, etnofarmacologia, farmacologia, farmacognosia, fitoquímica, agronomia ou biotecnologia, mereçam confiabilidade, devem partir da certeza de que as espécies envolvidas estejam corretamente identificadas (MENTZ & BORDIGNON, 2002).

A identificação de uma droga é feita comparando-a com uma droga padrão, com descrições pormenorizadas existentes nas farmacopéias ou, ainda, em literatura especializada. A identificação, portanto, encerra a idéia de comparação (OLIVEIRA *et al.*, 1998).

As mirtáceas, de um modo geral, são de difícil identificação, e mesmo mateiros experientes podem se enganar, tomando uma espécie por outra (JORGE *et al.*, 2000). Desta forma, torna-se necessária a verificação de características morfológicas peculiares a cada espécie, para que seja possível a identificação.

De acordo com as observações realizadas no presente estudo, podemos reconhecer, na espécie estudada, muitas das características morfológicas universais da família Myrtaceae: folhas simples, inteiras, opostas, hipoestomáticas, apresentando cavidades secretoras subepidérmicas, feixes vasculares bicolaterais e mesofilo dorsiventral (JOLY, 1975; METCALFE & CHALK, 1950).

No entanto, no material analisado não foram observados tricomas em nenhuma das superfícies da lâmina foliar ou do pecíolo. Não foram observados também cristais prismáticos de oxalato de cálcio, comumente descritos em mirtáceas (METCALFE & CHALK, 1950).

Na epiderme do limbo foliar, as células que recobrem as glândulas são diferenciadas, apresentando parede comissural ligeiramente sinuosa. Este fator pode contribuir para a diferenciação entre esta espécie e, por exemplo, o jambolão (*Syzygium cumini*), que apresenta na porção mediana da parede comissural um pequeno “dente” (JORGE *et al.*, 1994).

As paredes retas de contorno poligonal da face adaxial da epiderme, em vista frontal, podem constituir um fator de diferenciação de algumas espécies de mirtáceas que apresentam paredes onduladas e ornamentadas, como *Myrcia guianensis* (JORGE *et al.*, 2000).

As cavidades secretoras apresentam sinais de fragmentos celulares em seu interior, porém não foram realizados estudos de ontogênese para definir a natureza destas cavidades, se lisígenas ou esquizolisígenas.

Os feixes vasculares da região da nervura mediana são circundados por bainha de células com espessamento principalmente celulósico. As células lignificadas apresentam espessamento em U ou uniforme.

HOWARD (1979) assinala que a anatomia do pecíolo fornece, freqüentemente, subsídios para a identificação de determinados táxons, e que a secção distal do pecíolo é a mais significativa em termos taxonômicos. No estudo de 11 espécies de *Eugenia*, COSTA e cols. (1995) distribuíram-nas em 4 categorias, de acordo com a configuração do sistema vascular do pecíolo: arco atenuado, arco com as extremidades eretas em maior ou menor extensão, arco com as extremidades dirigidas para o centro, podendo, neste último caso, apresentarem-se ou não fletidas. Outro aspecto importante do sistema vascular no pecíolo de espécies da família Myrtaceae é a presença de uma bainha perivascular de espessura variada (METCALFE & CHALK, 1950), constituída de fibras que podem ser parenquimáticas, esclerenquimáticas ou mistas (FONTENELLE *et al.*, 1994).

As características morfológicas do pecíolo da espécie estudada podem representar um fator de diagnose. Na porção distal, o feixe vascular apresenta-se em arco com as extremidades dirigidas para o centro. Ocorre grande quantidade de esclereídes na região externa ao floema que, na dissociação, apresentaram-se com formato alongado e irregular, com até três ramificações nas extremidades.

São necessários estudos mais detalhados desta espécie, principalmente comparando folhas jovens e adultas, bem como de outras espécies da família Myrtaceae que sejam utilizadas na terapêutica, para tornar possível uma diferenciação efetiva entre as diversas espécies.

A triagem fitoquímica do pó das folhas secas de *S. jambos* confirmou a presença de flavonóides e taninos, e não apresentou resultados indicativos da presença de outras classes de substâncias, além do conhecido óleo volátil. Anteriormente já haviam sido isolados do extrato metanólico das folhas de *S. jambos*, flavonóides diglicosídeos derivados de quercetina e miricetina (quercetina- e miricetina-3-O- β -D-xilopiranosil-(1-2)- α -L-ramnopiranosídeo) (SLOWING *et al.*, 1994b), bem como derivados de ácido elágico, unidade presente em taninos (CHAKRAVARTY *et al.*, 1998). OKUDA e cols. (1982) isolaram diversos elagitaninos e outros compostos fenólicos dos extratos das folhas de *S. jambos*: pedunculagina, casuarinina, casuariina, casuarictina, telimagrandina I, estrictinina e 2,3-hexaidroxidifenoilglicose.

Em decorrência da falta de padrões dos flavonóides acima citados, não foi verificada a presença destas substâncias no extrato em estudo.

Conforme descrito em EUROPEAN PHARMACOPOEIA (1996), o doseamento de taninos foi realizado a partir de 0,750 g da droga pulverizada. Em função do rendimento do extrato (30%), foram utilizados 0,300 g do EHEL, para possibilitar a leitura em espectrofotômetro.

O teor de taninos obtido no pó da droga foi de 21,9%. O EHEL de *S. jambos* apresentou 43,3% de taninos, não sendo proporcional ao rendimento

do extrato (30%). Isto pode ser devido ao modo de extração, uma vez que o EHEL de *S. jambos* não é totalmente solúvel em água.

A quantificação dos flavonóides totais da droga e do EHEL foi realizada segundo método descrito por WICHTL (1971), após eliminação prévia de clorofila. Foi realizado um acompanhamento através de cromatografia em camada delgada para verificação da presença dos flavonóides após a extração de clorofila. A droga pulverizada apresentou 0,6% de flavonóides totais, calculados como quercetina. O mesmo cálculo empregado no EHEL revelou um teor de flavonóides de 1,2%.

SCHIMDT & ORTEGA (1993) comentam sobre o doseamento de flavonóides de espécies de *Passiflora*. No método da DAB 10 (Farmacopéia Alemã, 10ª edição), muito próximo ao utilizado, são determinados somente os derivados de flavonóis. O método empregado por nós foi adaptado para a retirada de clorofila que, após adição de cloreto de alumínio, absorve no mesmo comprimento de onda que os flavonóis, como também citado por SCHIMDT & ORTEGA (1993). Os autores, além da retirada de clorofila por extração líquida ou em fase sólida, também sugerem a leitura próxima a 375 nm, sem hidrólise prévia dos flavonóides. Neste comprimento de onda não há interferência da clorofila. Uma outra sugestão é a retirada de clorofila, através de extração por fase sólida, e leitura a 396 nm, sem hidrólise prévia dos flavonóides, tendo apigenina como padrão.

Pretendemos, futuramente, otimizar e padronizar o método, utilizando a experiência dos autores, uma vez que foi realizada por nós uma única análise sem uma padronização prévia.

O perfil cromatográfico foi definido para o EHEL e para as frações acetato de etila, etanol e etanol a 50%, utilizando os Sistemas 1 e 2. Através das cromatografias (Figuras 7 e 8), pode-se observar, em todas as frações, a indicação da presença de uma substância com Rf e coloração semelhantes à rutina. Seria necessária a separação desta substância e identificação da mesma para confirmação de sua estrutura. Nenhum dos sistemas cromatográficos testados apresentou resolução para a fração clorofórmica do extrato.

O pensamento de que as plantas medicinais, por serem “produtos naturais”, são remédios eficazes e seguros, é bastante comum entre a população. No entanto, a planta medicinal utilizada em medicamentos é um xenobiótico, isto é, um produto estranho ao organismo humano, nele introduzido com finalidades terapêuticas. E como todo corpo estranho, os produtos de sua biotransformação são potencialmente tóxicos, e assim devem ser encarados até prova em contrário (LAPA *et al.*, 2002). Desta forma, torna-se necessária a verificação da toxicidade de todo e qualquer extrato vegetal ainda não estudado, mesmo aqueles de uso popular.

O estudo de toxicidade aguda representa uma avaliação estimativa e preliminar das propriedades tóxicas de uma droga, fornecendo informações acerca dos riscos sobre a saúde, resultantes de uma exposição de curta duração pela via selecionada (SOUZA BRITO, 1996).

O teste de toxicidade aguda do EHEL das folhas de *S. jambos* foi realizado através da administração do extrato liofilizado em suspensão aquosa, por via oral, em dose única de 5 g/kg de massa corpórea. Após a

administração, os animais apresentaram apatia, respiração ofegante e piloereção. Os gráficos comparativos do consumo de água e de ração demonstraram um aumento no consumo de água dos machos tratados a partir do oitavo dia após a administração, enquanto as fêmeas controle e tratadas apresentaram o mesmo perfil de consumo. As fêmeas tratadas apresentaram um aumento no consumo de ração por volta do décimo dia, retornando ao consumo semelhante ao controle até o final do experimento. Como houve morte de 7 animais entre os 10 tratados, foi realizada a determinação da DL_{50} .

No estudo de DL_{50} foram utilizados níveis crescentes de doses para obtenção de “um nível de dose que não mata nenhum dos animais tratados; três níveis crescentes de dose nos quais morrem entre 10% e 90% dos animais e; uma última dose, que mata 100% dos animais tratados”. A DL_{50} é obtida por análise de regressão linear e pode ser definida como o nível de dose no qual morrem 50% dos animais tratados (SOUZA BRITO, 1996).

O valor de DL_{50} encontrado para o EHEL de *S. jambos* foi de 4,68 g/kg, o que representa uma dose acima daquela utilizada nos ensaios farmacológicos, com atividade comprovada. São necessários, porém, estudos de toxicidade subcrônica para avaliação dos efeitos da administração do extrato em doses repetidas, durante um período de exposição mais longo, para que se possa afirmar a baixa toxicidade do referido extrato.

Os efeitos agudos observados mais acentuadamente nos animais foram apatia, respiração ofegante, piloereção e dificuldade de locomoção. Nas doses mais altas foi observada paralisia das patas traseiras de alguns animais, culminando com a morte dos mesmos. As mortes ocorreram em até 72 horas

depois da administração do extrato; após este período, os sintomas regrediram e não houve mais mortes.

Tanto na avaliação da toxicidade aguda como no estudo de DL₅₀, a análise macroscópica dos órgãos (fígado, rins, coração e pulmão) não apresentou diferenças em relação ao grupo controle. No estudo de DL₅₀, a relação entre massa dos órgãos e massa corpórea dos animais foi significativa, em comparação ao grupo controle, apenas para o fígado dos machos nas doses de 1,92 g/kg e 4,90 g/kg, e das fêmeas na dose de 4,90 g/kg, sendo menor que do controle. Não pudemos tirar uma conclusão, já que a diferença de massa também ocorreu na dose menor e não em doses intermediárias.

A atividade antimicrobiana de uma substância pode ser avaliada pelo seu valor de concentração mínima inibitória (CMI) em relação a um determinado microrganismo.

Para a determinação de CMI de *S. jambos* foi empregado o método de diluição em meio líquido em tubos. Neste método, o extrato em teste permanece em contato direto com o microrganismo, uma vez que a amostra fica dispersa homogeneamente no meio de cultura. Isto contorna também problemas de extratos vegetais que não apresentam difusão em ágar, favorecendo uma determinação mais aproximada de CMI (GUNDIDZA, 1987).

No estudo de atividade antimicrobiana do EHEL das folhas de *S. jambos*, o parâmetro de avaliação do crescimento microbiano foi a turvação do meio de cultura. A adição do extrato ao meio de cultura ocasionou a formação de precipitado, provavelmente devido à presença de taninos. Foi realizada então subcultura em meio líquido para visualização dos resultados.

O teste de ação antimicrobiana para o EHEL de *S. jambos* foi realizado utilizando-se uma bactéria Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*), uma bactéria Gram-negativa (*Escherichia coli*), uma levedura (*Candida albicans*) e um fungo esporulado (*Aspergillus niger*).

Os resultados mostraram que o EHEL de *S. jambos* foi eficaz contra *S. aureus* com CMI maior que 200 µg/mL e menor que 300 µg/mL. O mesmo extrato não mostrou atividade contra *E. coli* na concentração de 1000 µg/mL e não foi eficaz contra os fungos nas duas concentrações utilizadas (1000 e 2000 µg/mL).

De acordo com DJIPA e cols. (2000), os extratos aquoso e acetônico das cascas de *S. jambos* apresentaram CMI de 1000 µg/mL para *Escherichia coli* e 750 µg/mL para *Staphylococcus aureus*. Os mesmos extratos não apresentaram atividade após a eliminação dos taninos, sugerindo que são estes os principais responsáveis pela atividade antimicrobiana do vegetal. Os extratos aquoso e acetônico das cascas de *S. jambos* apresentaram, respectivamente, 77% e 83% de taninos, segundo método descrito em EUROPEAN PHARMACOPOEIA (1996). O conteúdo de taninos do extrato hidroalcoólico das folhas foi de 43,3%, empregando o mesmo método.

Apesar do menor teor de taninos no extrato das folhas, este foi mais efetivo contra *S. aureus*. Essa diferença de atividade pode ser devida à presença de outras classes de substâncias, como os flavonóides e óleos voláteis.

A maioria dos antibióticos utilizados clinicamente é ativa a uma concentração de 10 µg/mL. Portanto, se uma substância pura não é ativa em

100 µg/mL, ela provavelmente não será utilizada clinicamente. Extratos vegetais que apresentam atividade na concentração de 100 µg/mL possuem um bom nível potencial, pois temos uma mistura de compostos e, dependendo da natureza química do componente responsável pela atividade, pode ser avaliada posteriormente uma técnica de purificação (RIOS *et al.*, 1988).

Na Inglaterra, até 1965, o tratamento padrão para o alívio das dores da úlcera gástrica era constituído de repouso e dieta, incluindo modificações no estilo de vida como, por exemplo, moderação do fumo e do consumo de álcool. Os únicos medicamentos utilizados eram os antiácidos, que neutralizavam o ácido gástrico, diminuindo as dores. Contudo, seu efeito raramente durava mais de duas horas (LEWIS & HANSON, 1991).

Um avanço significativo no tratamento da úlcera gástrica ocorreu na década de 1960, após investigação das raízes e rizomas do alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*). Verificou-se que os compostos extraídos dessa planta têm o efeito de aumentar a concentração local de prostaglandinas, que promovem a secreção de muco e a proliferação celular no estômago, levando à cicatrização das úlceras (SCHENKEL *et al.*, 2002b). A carbenoxolona, derivado hemisuccinato sódico do ácido glicirrético, extraído das raízes do alcaçuz, foi o primeiro fármaco utilizado para acelerar a cura da úlcera gástrica através de um mecanismo que não envolvia a inibição da secreção de ácido (BORRELLI & IZZO, 2000).

A etiologia da úlcera gástrica ainda não está totalmente elucidada. Fato conhecido é que ocorre um desequilíbrio entre os fatores agressivos (secreção de ácido e pepsina) e os fatores citoprotetores (secreção de bicarbonato,

secreção de muco e produção de prostaglandinas). Mais recentemente descobriu-se que a infecção por *Helicobacter pylori* contribui na formação das úlceras gástricas, sendo imprescindível para o tratamento a erradicação do microrganismo (BRUNTON, 1996).

As metas das terapias para úlceras são o alívio da dor, a promoção da cicatrização e a prevenção de reincidência. As estratégias terapêuticas destinam-se, portanto, ao equilíbrio entre os fatores agressivos e os fatores citoprotetores (BRUNTON, 1996).

A verificação da atividade antiúlcera dos extratos das folhas de *S. jambos* foi realizada utilizando modelo de indução aguda por etanol acidificado, que avalia, entre outras, a atividade de substâncias citoprotetoras (MIZUI & DOTEUCHI, 1983). O etanol produz lesões necróticas na mucosa gástrica, reduzindo a secreção de bicarbonato e a produção de muco, além de modificar sua composição de glicoproteínas (MARHUENDA *et al.*, 1993). A presença de ácido clorídrico somente acelera e agrava este processo (MIZUI & DOTEUCHI, 1983). As ulcerações induzidas por etanol não são inibidas por substâncias que interferem na secreção de ácido como a cimetidina, mas são inibidas por agentes que aumentam os fatores de defesa da mucosa, como, por exemplo, as prostaglandinas (ROBERT, 1979).

No modelo utilizado, o EHEL das folhas de *S. jambos* não apresentou resultados significativos, em comparação ao grupo controle, nas ulcerações de nível I e II, mas apresentou resultados extremamente significativos em ulcerações de nível III (hemorrágicas).

Após fracionamento do extrato com diferentes solventes (clorofórmio, acetato de etila, etanol e etanol a 50%), observamos que as frações etanólica e clorofórmica apresentaram os resultados mais significativos, também nas ulcerações de nível III.

LACY (1982) verificou, através da análise microscópica da mucosa gástrica, após indução de lesão gástrica por etanol, que as prostaglandinas administradas antes da indução protegiam somente as camadas mais profundas da mucosa, não protegendo a região superficial. Desta forma, o tratamento com prostaglandinas diminuiu o número de lesões, mas não evitou totalmente o aparecimento de lesões superficiais. Tanto o fármaco de referência (misoprostol) como os extratos de *S. jambos* apresentaram comportamento semelhante, reduzindo a severidade das lesões (níveis II e III), porém não reduzindo o número de lesões de nível I (superficiais).

Pelos resultados obtidos nas frações ensaiadas, verifica-se que as substâncias com ação antiúlcera do EHEL devem ter sido separadas entre as frações clorofórmica e etanólica, uma vez que o EHEL apresentou proteção mais evidente do que as referidas frações.

A presença de flavonóides e taninos, verificada na triagem fitoquímica da droga e na literatura (SLOWING *et al.*, 1994b; CHAKRAVARTY *et al.*, 1998; OKUDA *et al.*, 1982), pode ser responsável pela ação antiúlcera do extrato.

Os taninos possuem propriedade adstringente devido à sua complexação com proteínas e polissacarídeos. Um possível mecanismo para a atividade antiúlcera dos taninos baseia-se exatamente na formação de uma camada de tanino-proteína complexados, protegendo a mucosa do estômago e

tornando-a menos permeável e mais resistente a agressões químicas ou mecânicas (MELLO & SANTOS, 2002). Como somente as ulcerações nível II e III foram afetadas, provavelmente os taninos não são os únicos responsáveis pela atividade antiúlcera.

Diversos flavonóides têm sido estudados com relação à ação antiúlcera, entre eles a naringina, quercetina, rutina, canferol. Aos flavonóides se atribuem o aumento do conteúdo local de prostaglandinas, a diminuição da secreção de histamina, a inibição da bomba de prótons e a inibição do *H. pylori* (DI CARLO *et al.*, 1999).

Outro possível mecanismo envolve a atividade antioxidante atribuída aos flavonóides e taninos, uma vez que os radicais livres representam um fator importante na formação de lesões ulcerativas e erosivas do trato gastrointestinal (BORRELLI & IZZO, 2000).

As lesões gástricas induzidas por etanol são resultantes de danos diretos às células da mucosa, decorrentes da hiperoxidação de lipídeos (PUURUNEN, 1980) e da formação de radicais livres que atacam moléculas como enzimas, proteínas ou receptores (PIHAN *et al.*, 1987). A glutathione, presente em grandes quantidades em órgãos como fígado, rins e estômago, é geralmente associada à prevenção de danos teciduais ocasionados por espécies reativas de oxigênio. Desta forma, os compostos sulfidrílicos, principalmente a glutathione, exercem papel fundamental nos mecanismos de citoproteção (MIZUI & DOTEUCHI, 1983). Estes dados sugerem que compostos antioxidantes podem ser ativos neste modelo experimental, produzindo atividade antiulcerogênica.

Além de úlceras gástricas, várias doenças degenerativas como câncer, esclerose múltipla, aterosclerose e o próprio processo de envelhecimento estão associados a altas concentrações intercelulares de espécies oxigenadas reativas ou radicais livres (MELLO & SANTOS, 2002).

Estudos recentes demonstram que vários taninos atuam como captadores (seqüestrantes) de radicais, os quais interceptam o oxigênio ativo formando radicais estáveis (MELLO & SANTOS, 2002).

Os flavonóides também têm apresentado uma excelente atividade antioxidante. Estudos demonstraram que os flavonóides não reagem especificamente com uma única espécie reativa de oxigênio, mas com diversas delas (ânion superóxido, radical hidroxila, radicais peroxi). Alguns autores sugerem que o efeito sinérgico de misturas de flavonóides pode ser responsável pela alta atividade antioxidante observada em extratos vegetais (HARBORNE & WILLIAMS, 2000).

A medida da atividade antioxidante *in vitro* do EHEL das folhas de *S. jambos* foi realizada segundo método preconizado por STOCKS e cols. (1974), que avalia a inibição da lipoperoxidação espontânea de homogeneizado de cérebro de rato, quando incubado em condições controladas de temperatura e oxigenação. O malonildialdeído (MDA) é um dos produtos de oxidação de ácidos graxos poliinsaturados, que reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA), formando um complexo de coloração rosa, que tem um máximo de absorção no comprimento de onda 535 nm.

WADT (2000) determinou o valor de $Q_{1/2}$ (concentração necessária para atingir 50% da capacidade antioxidante) de 53,06 $\mu\text{g/mL}$ para *Leonurus*

sibiricus. Os extratos etanólicos de raiz, caule e folhas de *Pothomorphe umbellata* (pariparoba) apresentaram $Q_{1/2}$ de 4,4 $\mu\text{g/mL}$; 19,3 $\mu\text{g/mL}$ e 38,5 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (BARROS *et al.*, 1996), sendo que, em ambos os extratos, os resultados foram considerados promissores. MARKMAN (2002) determinou valor de $Q_{1/2}$ de 0,2891 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato hidroalcoólico a 70% das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* (Myrtaceae). Na avaliação da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia uniflora* (Myrtaceae), AURICCHIO (2001) determinou $Q_{1/2}$ de 0,578 $\mu\text{g/mL}$.

O EHEL de *S. jambos* apresentou $Q_{1/2} = 0,165 \mu\text{g/mL}$, indicando capacidade antioxidante superior à dos extratos anteriormente citados (BARROS *et al.*, 1996; WADT, 2000), inclusive de outras espécies da família Myrtaceae (MARKMAN, 2002; AURICCHIO, 2001).

Em função dos resultados obtidos, pretende-se realizar, em trabalho posterior, o fracionamento biomonitorado do extrato através de cromatografia em coluna, buscando um possível isolamento de substâncias ativas, principalmente com relação à ação antiúlcera e antioxidante.

7. CONCLUSÕES

A droga vegetal constituída de folhas de *S. jambos* apresentou lâmina foliar lanceolada, de consistência coriácea, coloração verde pardacenta, odor aromático característico e sabor adstringente. As folhas secas apresentaram-se retorcidas, com os bordos recurvados no sentido da face adaxial. Foram observados pontos translúcidos por toda a superfície da lâmina foliar.

As características anatômicas observadas foram mesofilo dorsiventral, apresentando parênquima paliçádico com uma a duas camadas de células, observando-se freqüentemente idioblastos arredondados contendo drusas; folha hipostomática, com predominância de estômatos paracíticos, cavidades secretoras associadas às duas faces da epiderme e recobertas por células aos pares, com a parede comissural ligeiramente sinuosa; feixe vascular bicolateral, disposto em arco aberto, envolvido por bainha de células com espessamento celulósico e lignificado.

A triagem fitoquímica da droga indicou a presença de flavonóides, taninos e óleo volátil. O teor de taninos na droga foi de 21,9% e no extrato de 43,3%. O pó da droga apresentou 0,6% de flavonóides totais e no EHEL, o teor de flavonóides foi de 1,2%.

O valor de DL_{50} em camundongos foi de 4,68 g/kg. Esta dose é bastante superior à utilizada em ensaios farmacológicos, em que houve alguma atividade, podendo o extrato ser considerado de baixa toxicidade aguda.

Na avaliação da atividade antimicrobiana, através do método de diluição em meio líquido, o extrato mostrou-se eficaz apenas contra *S. aureus*, apresentando CMI entre 200 e 300 µg/mL.

No modelo utilizado de indução ulcerativa aguda por etanol acidificado, o extrato, administrado na dose de 400 mg/kg, apresentou resultados extremamente significativos nas ulcerações de nível III. As frações etanólica e clorofórmica mostraram-se efetivas nas ulcerações de nível II e III.

Na avaliação da atividade antioxidante, através da medida da velocidade de produção de malonildialdeído na lipoperoxidação espontânea de homogeneizado de cérebro de ratos, o extrato de *Syzygium jambos* apresentou $Q_{1/2} = 0,165$ µg/mL, indicando excelente atividade antioxidante comparado a outros extratos, avaliados através do mesmo método.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, M.J.; BERMEJO, P.; VILLAR, A. Antiviral activity of medicinal plant extracts. **Phytother. Res.**, Bognor Regis, v.11, p.198-202, 1997.
- AGBEDAHUNSI, J.M.; ALADESANMI, A.J. Effect of *Eugenia uniflora* on early malaria infection. **Fitoterapia**, Amsterdam, v.64, n.2, p.174-175, 1993.
- ALMEIDA, C.E.; KARNIKOWSKI, M.G.D.; FOLETO, R.; BALDISSEROTTO, B. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.29, n.6, p.428-433, 1995.
- ARAI, I.; AMAGAYA, S.; KOMATSU, Y.; OKADA, M.; HAYASHI, T.; KASAI, M.; ARISAWA, M.; MOMOSE, Y. Improving effects of the extracts from *Eugenia uniflora* on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in mice. **J. Ethnopharmacol.**, Shannon, v.68, p.307-314, 1999.
- AURICCHIO, M.T. **Estudo farmacognóstico de folhas de *Eugenia uniflora* L.** São Paulo, 2001. 128p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- BACCHI, E.M. **Estudo farmacológico da ação antiúlcera dos extratos de *Styrax camporum* Pohl e *Caesalpinia ferrea* Martius.** São Paulo, 1988. 254p. Tese de Doutorado – Instituto de Ciências Biológicas – Universidade de São Paulo.
- BARROS, S.B.M.; TEIXEIRA, D.S.; AZNAR, A.E.; MOREIRA Jr.; J.A.; ISHII, I.; FREITAS, P.C.D. Antioxidant activity of ethanolic extracts of *Pothomorphe umbellata* L. Miq. (Pariparoba). **Cienc. Cult.**, São Paulo, v.48, p.114-116, 1996.

- BARROSO, G.M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1984. v.2, p.114-133.
- BORRELLI, F.; IZZO, A.A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytother. Res.**, Bognor Regis, v.14, p.581-591, 2000.
- BRIGGS, L.H.; CAMBIE, R.C. Constituents of *Eugenia maire*. II. Identification of mairin and constituents of the leaves. **J. Chem. Soc.**, London, p.4684-4685, 1961.
- BRUNTON, L.L. Fármacos para controle da acidez gástrica e tratamento de úlceras pépticas. In: HARDMAN, J.G.; LIMBERD, L.E.; MOLINOFF, P.B.; RUDDON, R.W.; GILMAN, A.G., eds. **Goodman & Gilman as bases farmacológicas da terapêutica**. 9.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996, 1436p.
- CANDY, H.A.; McGARRY, E.J.; PEGEL, K.H. Constituents of *Syzygium cordatum*. **Phytochemistry**, Oxford, v.7, p.889-890, 1968.
- CHAKRAVARTY, A.K.; DAS, B.; SARKAR, T.; MASUDA, K.; SHIOJIMA, K. Ellagic acid derivatives from the leaves of *Eugenia jambos* Linn. **Indian J. Chem.**, New Delhi, v.37, Sect.B, p.1316-1318, 1998.
- CHANG, C.N.; WU, T.S.; HSIEH, Y.S.; KUO, S.C.; CHAO, P.D. Terpenoids of *Syzygium formosanum*. **J. Nat. Prod.**, Columbus, v.62, n.2, p.327-328, 1999.
- CONSOLINI, A.E.; BALDINI, O.A.N.; AMAT, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. **J. Ethnopharmacol.**, Shannon, v.66, p.33-39, 1999.

- COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 4.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, 1994. 3v.
- COSTA, C.G.; MACHADO, R.D.; FONTENELLE, J.B. Sistema vascular em folhas de *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Bradea**, Rio de Janeiro, v.6, n.42, p.345-356, 1995.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981. 1262p.
- CRUZ, G.L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. 2.ed. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1982. 599p.
- DAHLGREN, R.M.T. A revised system of classification of the angiosperms. **Bot. J. Linn. Soc.**, Sidcup, v.80, n.2, p.91-124, 1980.
- DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A.A.; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sci.**, New York, v.65, n.4, p.337-353, 1999.
- DI STASI, L.C., org. **Plantas medicinais: arte e ciência. um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996. 230p.
- DJIPA, C.D.; DELMEE, M.; QUETIN-LECLERCQ, J. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **J. Ethnopharmacol.**, Shannon, v.71, p.307-313, 2000.
- EUROPEAN Pharmacopoeia. 3.ed. Strasbourg: Council of Europe, 1996. p.930.
- FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 2.ed. São Paulo: Siqueira, 1959. p.448-449. (Código farmacêutico brasileiro, v.1).

- FERRI, M.G. Informações sobre transpiração e anatomia foliar de diversas mirtáceas. **Cienc. Cult.**, São Paulo, v.23, p.313-316, 1971.
- FONTENELLE, G.B.; COSTA, C.G.; MACHADO, R.D. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Bot. J. Linn. Soc.**, Sidcup, v.115, p.111-133, 1994.
- FRANKLIN, G.L. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature**, London, v.155, n.3924, p.51, 1945.
- FUJIOKA, T.; KASHIWADA, Y.; KILKUSKIE, R.E.; CONSENTINO, L.M.; BALLAS, L.M.; JIANG, J.B.; JANZEN, W.P.; CHEN, I.S.; LEE, K.H. Anti-AIDS agents, 11. Betulinic acid and platanic acid as anti-HIV principles from *Syzygium claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids. **J. Nat. Prod.**, Columbus, v.57, n.2, p.243-247, 1994.
- GBOLADE, A.A.; ILESANMI, O.R.; ALADESANMI, A.J. The contractile effects of the extracts of *Eugenia uniflora* on isolated rat duodenum. **Phytother. Res.**, Bognor Regis, v.10, n.7, p.613-615, 1996.
- GUNDIDZA, M. Antimicrobial activities of *Helinus integrifolius*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v.58, n.3, p.180-183, 1987.
- GUPTA, G.S.; SHARMA, D.P. Triterpenoid and other constituents of *Eugenia jambolana* leaves. **Phytochemistry**, Oxford, v.13, n.9, p.2013-2014, 1974.
- HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Kärber methods for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Technol.**, Columbus, v.11, n.7, p.714-719, 1978.

- HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, Oxford, v.55, p.481-504, 2000.
- HOWARD, R.A. The petiole. In: METCALFE, C.R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. 2.ed. Oxford: Clarendon Press, 1979. v.1, p.88-96.
- JOLY, A.B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 2.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1975. 777p. (Biblioteca universitária: Série 3a, Ciências puras, v.4).
- JORGE, L.I.F.; MARKMAN, B.E.O.; SILVA, C.B.M. Jambolão: *Syzygium cumini* (L.) Skeels: elementos histológicos característicos das folhas, frutos e cascas. **Rev. Bras. Farm.**, Rio de Janeiro, v.75, p.38-39, 1994.
- JORGE, L.I.F.; AGUIAR, J.P.L, SILVA, M.L.P. Anatomia foliar de pedra-hume-caá (*Myrcia sphaerocarpa*, *Myrcia guianensis*, *Eugenia puniceifolia* – Myrtaceae). **Acta Amazônica**, Manaus, v.30, p.49-57, 2000.
- JUNGES, M.J.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; FERNANDES DA SILVA, M.F.G.; RODRIGUES FILHO, E. The use of ^{13}C and ^1H -NMR in the structural elucidation of a new nor-lupane triterpene. **J. Braz. Chem. Soc.**, São Paulo, v.10, n.4, p.317-320, 1999.
- KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198p.
- LACY, E.; ITO, S. Microscopic analysis of ethanol damage to rat gastric mucosa after treatment with a prostaglandin. **Gastroenterology**, New York, v.83, p.619-625, 1982.

- LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; GODINHO, R.O.; LIMA, T.C. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 4.ed. Porto Alegre: UFRGS ; Florianópolis: UFSC, 2002. 833p.
- LEE, M.; NISHIMOTO, S.; YANG, L.; YEN, K.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimers from *Eugenia uniflora*. **Phytochemistry**, Oxford, v.44, n.7, p.1343-1349, 1997.
- LEWIS, D.A.; HANSON, P.J. Anti-ulcer drugs of plant origin. **Prog. Med. Chem.**, Amsterdam, v.28, p.201-231, 1991.
- LOCHER, C.P.; BURCH, M.T.; MOWER, H.F.; BERESTECKY, J.; DAVIS, H.; VAN POEL, B.; LASURE, A.; VANDEN BERGHE, D.A.; VLIETINCK, A.J. Antimicrobial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.**, Shannon, v.49, p.23-32, 1995.
- LUNARDI, I.; PEIXOTO, J.L.B.; SILVA, C.C.; SHUQUEL, I.T.A.; BASSO, E.A.; VIDOTTI, G.J. Triterpenic acids from *Eugenia moraviana*. **J. Braz. Chem. Soc.**, São Paulo, v.12, n.2, p.180-183, 2001.
- MAHMOUD, I.I.; MARZOUK, M.S.A.; MOHARRAM, F.A.; EL-GINDI, M.R.; HASSAN, A.M.K. Acylated flavonol glycosides from *Eugenia jambolana* leaves. **Phytochemistry**, Oxford, v.58, p.1239-1244, 2001.
- MARHUENDA, E.; MARTIN, M.J.; ALARCON DE LA LASTRA, C. Antiulcerogenic activity of aescine in different experimental models. **Phytother. Res.**, Bognor Regis, v.7, p.13-16, 1993.

- MARKHAM, K.R. **Techniques of flavonoid identification**. London, New York: Academic Press, 1982. 113p. (Biological techniques series).
- MARKMAN, B.E.O. **Caracterização farmacognóstica de *Campomanesia xanthocarpa* Myrtaceae**. São Paulo, 2002. 167p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- MATSUMURA, T.; KASAI, M.; HAYASHI, T.; ARISAWA, M.; MOMOSE, Y.; ARAI, I.; AMAGAYA, S.; KOMATSU, Y. α -glucosidase inhibitors from paraguayan natural medicine Ñangapiry, the leaves of *Eugenia uniflora*. **Pharm. Biol.**, Lisse, v.38, n.4, p.302-307, 2000.
- MELLO, J.C.P.; SANTOS, S.C. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2002. 833p.
- MENTZ, L.A.; BORDIGNON, S.A. Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2002. 833p.
- METCALFE, C.R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy, with notes on economic uses**. Oxford: Clarendon Press, 1950. v.1, p.620-631.
- MIZUI, T.; DOTEUCHI, M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesion in rats. **Jpn. J. Pharmacol.**, Kyoto, v.33, p.939-945, 1983.

- NAIR, A.G.R.; KRISHNAN, S.; RAVIKRISHNA, C.; MADHUSUDANAN, K.P.
New and rare flavonol glycosides from leaves of *Syzygium samarangense*.
Fitoterapia, Amsterdam, v.70, p.148-151, 1999.
- NONAKA, G.; ISHIMARU, K.; WATANABE, M.; NISHIOKA, I.; YAMAGUCHI, T.;
WAN, A.S.C. Tannins and related compounds. LI. Elucidation of the
stereochemistry of the triphenol moiety in castalagin and vescalagin, and
isolation of 1-O-galloyl castalagin from *Eugenia grandis*. **Chem. Pharm.**
Bull., Tokyo, v.35, n.1, p.217-220, 1987.
- NONAKA, G.; AIKO, Y.; ARITAKE, K.; NISHIOKA, I. Tannins and related
compounds. CXIX. Samaragenins A and B, novel proanthocyanidins with
doubly bonded structures, from *Syzygium samarangens* and *S. aqueum*.
Chem. Pharm. Bull., Tokyo, v.40, n.10, p.2671-2673, 1992.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T.; YAZAKI, K.; ASHIDA, M. Ellagitannins
of the Casuarinaceae, Stachyuraceae and Myrtaceae. **Phytochemistry**,
Oxford, v.21, n.12, p.2871-2874, 1982.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. **Farmacognosia**. São Paulo:
Atheneu, 1998. 412p. (Série Farmácia: Veterinária).
- PAINULY, P.; TANDON, J.S. Two 3-C-methylflavone glycosides from
Eugenia kurzii. **Phytochemistry**, Oxford, v.22, n.1, p.243-245, 1983.
- PHARMACOPEIA dos Estados Unidos do Brasil. São Paulo: Companhia
Editora Nacional, 1926. p.489. (Código farmacêutico brasileiro).
- PIHAN, G.; REGILLO, C.; SZABO, S. Free radicals and lipid peroxidation in
ethanol- or aspirin-induced gastric mucosal injury. **Dig. Dis. Sci.**,
Dordrecht, v.32, n.12, p.1395-1401, 1987.

- PIO CORREA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, v.4, p.427, 1969.
- PUURUNEN, J.; HUTTUNEN, P.; HIRVONEN, J. Is ethanol-induced damage of the gastric mucosa a hyperosmotic effect?: comparative studies on the effects of ethanol, some other hyperosmotic solutions and acetylsalicylic acid on rat gastric mucosa. **Acta Pharmacol. Toxicol.**, Kobenhavn, v.47, p.321-327, 1980.
- RAO, J.R.; RAO, R.S.; SAHIB, P.E.; SUBRAMANYAM, G. Occurrence of sideroxylin in *Syzygium alternifolium* leaves. **Indian J. Chem.**, New Delhi, v.28, n.2, Sect.B, p.199, 1989.
- RAO, J.R.; RAO, R.S. Syzalterin: a new 6,8-di-C-methylflavone from *Syzygium alternifolium* leaves. **Indian J. Chem.**, New Delhi, v.30, n.1, Sect.B, p.66-67, 1991.
- RIOS, J.L.; RECIO, M.C.; VILLAR, A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. **J. Ethnopharmacol.**, Shannon, v.23, p.127-149, 1988.
- RIZZINI, C.T. Sistematização terminológica da folha. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v.23/24, p.193-212, 1960/61.
- ROBERT, A. Cytoprotection by prostaglandins. **Gastroenterology**, Orlando, v.77, p.761-767, 1979.
- SASS, J.E. **Botanical microtechnique**. 2.ed. Ames: Iowa State College Press, 1951. 228p.

- SCHAPOVAL, E.E.S.; SILVEIRA, S.M.; MIRANDA, M.L.; ALICE, C.B.; HENRIQUES, A.T. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. **J. Ethnopharmacol.**, Shannon, v.44, p.137-142, 1994.
- SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2002a. 833p.
- SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M.L. Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2002b. 833p.
- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Flavonoids from *Calycorectes*, *Campomanesia*, *Eugenia* and *Hexachlamys* species. **Fitoterapia**, Amsterdam, v.66, n.4, p.373-374, 1995.
- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; THEODULOZ, C.; FRANCO, F.; FERRO, E.; ARIAS, A.R. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity. **J. Ethnopharmacol.**, Shannon, v.21, p.183-186, 1987.
- SCHMID, R. A resolution of the *Eugenia*-*Syzygium* controversy (Myrtaceae). **Am. J. Bot.**, Columbus, v.59, n.4, p.423-436, 1972.
- SCHMIDT, P.C.; ORTEGA, G.O. Passionblumenkraut. Bestimmung des gesamtflavonoidgehaltes com? *Passiflorae herba*. **Deutsche Apotheker Zeitung**, Stuttgart, v,133, n.47, p.17-26, 1993.

- SLOWING, K.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Anti-inflammatory activity of leaf extracts of *Eugenia jambos* in rats. **J. Ethnopharmacol.**, Shannon, v.43, p.9-11, 1994a.
- SLOWING, K.; SÖLLHUBER, M.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Flavonoid glycosides from *Eugenia jambos*. **Phytochemistry**, Oxford, v.37, p.255-258, 1994b.
- SLOWING, K.; CARETERO, E.; VILLAR, A. Anti-inflammatory compounds of *Eugenia jambos*. **Phytother. Res.**, Bognor Regis, v.10, S126-S127, 1996.
- SOUZA BRITO, A.R.M. **Manual de ensaios toxicológicos *in vivo***. Campinas: UNICAMP, 1994. p.15-22. (Ciências médicas).
- SOUZA BRITO, A.R.M. Toxicologia pré-clínica de plantas medicinais. In: DI STASI, L.C., org. **Plantas medicinais: arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996. p.99-107.
- SRIVASTAVA, R.; SHAW, A.K.; KULSHRESHTHA, D.K. Triterpenoids and chalcone from *Syzygium samarangense*. **Phytochemistry**, Oxford, v.38, n.3, p.687-689, 1995.
- STAHL, E. **Thin layer chromatography: a laboratory handbook**. 2.ed. Berlin: Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 1969. 1041p.
- STOCKS, J.; GUTTERIDGE, J.M.C.; SHARP, R.J.; DORMANDY, T.L. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids. **Clin. Sci. Mol. Med.**, Oxford, v.47, p.215-222, 1974.
- TAHKTAJAN, A.L. Outline of the classification of flowering plants. **Bot. Rev.**, New York, v.46, n.3, p.225-359, 1980.

- TANAKA, T.; ORII, Y.; NONAKA, G.; NISHIOKA, I.; KOUNO, I. Syzyginins A and B, two ellagitannins from *Syzygium aromaticum*. **Phytochemistry**, Oxford, v.43, n.6, p.1345-1348, 1996.
- TEIXEIRA, C.; FUCHS, F.D.; BLOTTA, R.M. Effect of tea prepared from leaves of *Syzygium jambos* on glucose tolerance in nondiabetic subjects. **Diabetes Care**, Alexandria, v.13, n.13, 1990.
- TIMBOLA, A.K.; SZPOGANICZ, B.; BRANCO, A.; MONACHE, F.D.; PIZZOLATTI, M.G. A new flavonol from leaves of *Eugenia jambolana*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v.72, n.2, p.174-176, 2002.
- TSAI, I.; SHEEN, W.; CHEN, J.; CHEN, I. Isolation of constituents from the leaves of *Syzygium tripinnatum*. **Chin. Pharm. J.**, Taiwan, v.46, n.5, p.401-4012, 1994.
- WADT, N.S.Y.; OHARA, M.T.; SAKUDA-KANEKO, T.M.; BACCHI, E.M. Ação antimicrobiana de *Leonurus sibiricus* L. **Rev. Bras. Farmacogn.**, São Paulo, v.5, p.167-174, 1996.
- WADT, N.S.Y. **Estudo da variação ontogenética de princípios ativos de *Leonurus sibiricus* L. e suas ações farmacológicas**. São Paulo, 2000. 150p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. 2.ed. Berlin, London: Springer-Verlag, 1996. 384p.
- WICHTL, M. **Die Pharmakognostisch-Chemische Analyse**. Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt am Main, 1971, p.416.

YANG, L.L.; LEE, C.Y.; YEN, K.Y. Induction of apoptosis by hydrolysable tannins from *Eugenia jambos* L. on human leukemia cells. **Cancer Lett.**, Shannon, v.157, n.1, p.65-75, 2000.