

# Atividade antimicrobiana de polifenóis isolados das folhas de *Schinopsis brasiliensis* (Engl.) guiado por bioautografia

Antimicrobial activity of polyphenols isolated from the leaves of *Schinopsis brasiliensis* (Engl.) guided by bioautography

DOI 10.32712/2446-4775.2020.850

Saraiva, Antonio Marcos<sup>1\*</sup>; Coutinho, Felipe Neves<sup>2</sup>; Silva, Ricardo Oliveira da<sup>3</sup>; Randau, Karina Perrelli<sup>2</sup>; Xavier, Haroudo Satiro<sup>2</sup>; Pisciotano, Maria Nelly Caetano<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (UF/PE), Laboratório de Análises Clínicas, Avenida Professor Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, Várzea, CEP 50670-901, Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Rua Professor Artur de Sá, s/n, CDU, Cidade Universitária, CEP 50740-520, Recife, PE, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Departamento de Química Fundamental, Avenida Professor Luiz Freire, s/n, Laboratório de RMN, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife, PE, Brasil.

\*Correspondência: [saraivas2@yahoo.com.br](mailto:saraivas2@yahoo.com.br).

## Resumo

O extrato metanólico das folhas de *Schinopsis brasiliensis* apresentou atividade antimicrobiana com concentração mínima inibitória de 31,15 µg/mL frente *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus saprophyticus*. A prospecção fitoquímica das folhas de *Schinopsis brasiliensis* (Engl.) guiado pelo método bioautográfico permitiu isolar duas moléculas (galato de metila - GM and β-1,2,3,4,6-Pentagaloi-D-Glicose - PGG), as quais apresentaram atividade antimicrobiana frente *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativo e *Enterococcus faecalis*, com halos de ordem de 14 a 20 mm. Ainda, PGG apresentou atividade antimicrobiana frente *Pseudomonas aeruginosa* com halos da ordem de 21 mm e GM com halos de ordem de 17 a 18 mm frente *Escherichia coli*. Novos estudos, tais como a quantificação dos compostos antimicrobianos e identificação de outros metabólitos secundários das folhas de *S. brasiliensis*, são necessários pelos presentes resultados.

**Palavras-chave:** β-1,2,3,4,6-Pentagaloi-D-Glicose. *Staphylococcus aureus* MRSA multirresistente. *Pseudomonas aeruginosa*. Bioautografia.

## Abstract

The methanolic extract of the leaves of *Schinopsis brasiliensis* presented antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* with minimum inhibitory concentration of 31.15 µg/mL. Phytochemical prospecting of *Schinopsis brasiliensis* (leaves)

guided by the bioautographic method allowed to isolate two molecules (methyl gallate - GM and  $\beta$ -1,2,3,4,6-Pentagalloyl-D-Glucose - PGG), which showed antimicrobial activity against *S. aureus*, coagulase-negative staphylococci and *Enterococcus faecalis* with inhibition zones of 14 to 20 mm. Furthermore, PGG presented antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa* showed inhibition zone of 21 mm and GM showed inhibition zone of 17 to 18 mm against *Escherichia coli*. Further studies, such as quantification of antimicrobial compounds and identification of other secondary metabolites of leaves of *S. brasiliensis* are necessary due to the present results.

**Keywords:**  $\beta$ -1,2,3,4,6-Pentagalloyl-D-Glucose. *Staphylococcus aureus* multiresistant MRSA. *Pseudomonas aeruginosa*. Bioautography.

---

## Introdução

O crescimento da resistência bacteriana aos antibióticos é uma ameaça à população mundial. A multirresistência de bactérias virulentas e de alta prevalência nas infecções nosocomiais e comunitárias (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, entre outras) [1] torna incerta a eficácia dos antimicrobianos. As recorrências nas doenças infecciosas causam prolongamento do tempo de internação hospitalar, bem como têm levado a mortes prematuras de várias pessoas. Por tudo isso, se faz necessário e essencial, a descoberta de novas classes de antimicrobianos, em particular, aquelas oriundos das plantas, que é uma fonte inesgotável de novas moléculas [2].

*Schinopsis brasiliensis* Engl. é popularmente conhecida por “braúna”, “baraúna”, “braúna-do-sertão” e “braúna-parda”, “quebracho”, “chamacoco” e “chamucoco” [3,4]. Na medicina popular são usadas das folhas, casca, caule, entrecasca, resina e fruto de *S. brasiliensis* como antiinflamatório em geral, gripe, febre, tosse, diarreia, disenteria, impotência sexual, fraturas [5-7], como antiséptico natural no tratamento de micoses superficiais e feridas [8].

Em estudo do extrato das folhas de *S. brasiliensis* por Saraiva [9] foi observada importante atividade antioxidante e alto teor de polifenóis. Também foi relatada boa atividade antimicrobiana frente cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, como as cepas de *Staphylococcus coagulase* negativo e menor atividade antimicrobiana frente às cepas de *Enterococcus faecalis*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis*. Na planta tem sido identificado e/ou isolado a partir das folhas e caule de *S. brasiliensis* os seguintes metabolitos secundários: ácido gálico, galato de metila, quercetina, quercetina-3-O- $\beta$ -D-xilopiranosídeo 5,6,7,8,3', 4'-hexahidroxi-flavonol, 5,7,4',5'-tetrahidroxiflavon-3'-o- $\beta$ -D-glicopiranosídeo, megastigmona, gallic acid 4-O-b-D-gluco-pyranoside, gallic acid 4-O-b-D-(60-Ogalloyl)-gluco-pyranoside, ethyl-O-b-D-(6'-O-galloyl)-gluco-pyranoside, 2-hydroxy-4-methoxyphenol, 2-hydroxy-4-methoxyphenol 1-O-b-D-(6'-O-syringoyl) - gluco-pyranoside, ácido elágico, 5,6,7,8,3',4'-hexahidroxi-flavonol, aquil e alquênol fenóis,  $\beta$ -sitosterol, estigmast-4-en-3-ona, estigmast-4-em-ona-6- $\beta$ -ol, entre outros [4,9-12].

A pesquisa dos componentes com propriedade antimicrobiana do extrato metanólico das folhas de *Schinopsis brasiliensis* tomou como indicador os fatores de retenção (Rf) destes, por meio da técnica bioautográfica, referentes às zonas de inibição frente o inóculo de *Staphylococcus aureus* [2].

## Material e Método

### Químicos e reagentes

Os reagentes e solventes empregados neste estudo foram: ácido fórmico (Vetec), ácido acético glacial (Merck, 99,8%), n-hexano (Vetec, 99%), acetato de etila (Vetec, 99,5%), metanol (Vetec, 99,8%), dimetilsulfoxido (Vetec, 99,9%), Tween 80 (Vetec), 2,3,5-cloridrato de trifeniltetrazólio (Sigma), 2-Aminoetildifenil borinato. Como padrões foram utilizados: ácido gálico (Sigma) e tetraciclina (Sigma).

### Amostra vegetal e obtenção das frações

A amostra foliar de *S. brasiliensis* foi coletada na fazenda Cacimba Nova, localizada no município de Mirandiba/PE (08°07'13"S x 38°43'46"W, 450 m) no mês de março de 2008<sup>[13]</sup>. O material testemunho foi identificado pelo curador A. Bocage e incorporado ao herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), sob nº 70.007. As amostras foram estabilizadas durante três dias a 45 ± 5°C em estufa e posteriormente pulverizadas em triturador, obtendo-se granulometria de 16 Mesh.

Os extratos foram obtidos por maceração fracionada com n-hexano, seguido por metanol, sendo descartada a fração hexânica. O extrato metanólico de *S. brasiliensis* (ExmSb) foi filtrado e evaporado (Marconi MA-120) sob pressão reduzida, obtendo rendimento de 26,27%. A escolha do metanol tem sido recomendada para a extração de compostos fenólicos em tecidos vegetais devido à sua capacidade de inibir a oxidação de polifenóis, que podem alterar a atividade antioxidante <sup>[14]</sup>.

### Linhagens microbianas

Os microrganismos utilizados nos ensaios pertencem à coleção do Laboratório de Análises Microbiológicas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - Brasil (código: **AM**). Foram eles:

- *Staphylococcus aureus*: MRSA (Clone Epidêmico Brasileiro - AM858, AM793; Clone Pediátrico - AM642 e AM922; MSSA (AM632, AM672) e Padrão (AM103-ATCC 6538);
- *Staphylococcus coagulase negativo* (AM789), *Staphylococcus saprophyticus* (AM245), *Staphylococcus epidermidis* (AM235), *Staphylococcus sp.* (AM109);
- *Enterococcus faecalis* (AM997; AM1056 - ATCC 51299);
- *Pseudomonas aeruginosa* (AM428; AM458; AM460; ATCC 14502 - AM206);
- *Escherichia coli* (AM161; AM167; AM251; AM247; AM1050 - ATCC 35218);
- *Klebsiella pneumoniae* (AM339; AM342; AM379; AM410);
- *Salmonella spp.* serotype Montevideo (AM1046; ATCC 8387 - AM149);
- ATCC – American Type Culture Collection.

### Preparo dos inóculos

Os inóculos foram preparados a partir de culturas de 24 h em agar Mueller-Hinton (Himedia), e suspendidas em soro fisiológico estéril, ajustando a turvação dos inóculos a da escala 0,5 McFarland (10<sup>8</sup> UFC/ml) <sup>[15]</sup>.

## Método Bioautográfico

Na cromatografia em camada delgada (CCD) (GF<sub>254</sub> - Merck), o extrato metanólico das folhas de *Schinopsis brasiliensis* na concentração de 20 mg/mL foi aplicado, tendo como fase móvel o sistema cromatográfico acetato de etila:ácido fórmico:ácido acético:água (100:3:3:3, v/v). As CCD foram eluídas em duplicata, sendo uma usada como referência cromatográfica (CCD<sup>a</sup>) e a segunda para bioautografia (CCD<sup>b</sup>).

## Bioautografia

A CCD<sup>b</sup> ficou sob corrente de ar por 8 horas. Após esse período foi instalada numa placa de Petri e recoberta com 20 mL de meio fundido de ágar Mueller Hinton (Himedia®), inoculado com uma suspensão salina de *S. aureus* ATCC 6538 ou AM793 (10<sup>8</sup> UFC/ml) [12]. Após solidificação do meio de cultivo, a placa foi incubada por 24 horas a 37±1°C. Passado este período, a bioautografia foi revelada com uma solução de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) a 2,5 mg/mL e reincubada por 4 horas. A presença de zona de inibição indica a existência de compostos ativos [16].

## Isolamento dos constituintes com potencial antimicrobiano das folhas

A prospecção de metabólitos secundários do extrato metanólico da folha de *S. brasiliensis* (ExmSb) deu partida com o particionamento de 40 g de ExmSb, que se iniciou com n-hexano, clorofórmio, acetato de etila, metanol (3 x 150 mL), obtendo-se, respectivamente as partições hexânica (ExmSb/PH), clorofórmica (ExmSb/PC), em acetato de etila (ExmSb/PAE) e finalmente a partição metanólica (ExmSb/PM). Das partições obtidas, a trabalhada foi a ExmSb/PAE, peso 16,17 g.

## Isolamento de S1

A partir de 1 g da ExmSb/PAE fez-se cromatografia em coluna (CC) tendo como fase estacionária a Sephadex LH-20® e sistema eluente (acetona: triclorometano: metanol - 200:100:150, v/v), obtendo-se 102 frações com volume médio de 7 mL. Com as frações 82-102 (F1') (240 mg), fez-se nova CC tendo como fase estacionária Sephadex LH-20 e sistema eluente: (acetona:diclorometano:metanol-200:100:150, v/v), obtendo-se 25 frações, média de 10 mL de volume. A partir das frações F21-24 (F2') (146 mg) e seguindo-se os passos anteriores, obteve-se 15 frações, média de 10 mL de volume, observou o isolamento de S1 nas frações 7-13 (F3') (89 mg). Sendo realizadas análises espectrais (RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, Cosy, HSQC, HMBC e Dept 135 - Bruker, modelo Avance DRX-500), cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas (Shimadzu LC-MS-IT-TOF) e Infravermelho com transformada de Fourier (IVTF Bruker® modelo IFS66) para elucidação estrutural.

## Isolamento de S2

A partir de 1 g do ExmSb/PAE foi realizado o isolamento da molécula dois de polifenol em coluna cromatográfica, tendo como fase estacionária a Sephadex (LH-20), e como sistema eluente Acetona:Diclorometano:Metanol (200:100:150, v/v), obtendo-se 52 frações com volume médio de 10 mL. Seguiu-se nova coluna em Sephadex (LH-20), a partir das frações 22-26 (57 mg), e com novo sistema eluente (Acetona:Diclorometano: Metanol) na proporção de (150:100:150, v/v), onde obteve-se 39 frações, média de 10 mL, onde, na primeira fração (14,7 mg) evidenciou-se o isolamento da molécula (S2), quando foram realizado os espectros de RMN (<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C) (Varian Unity Plus 300 MHz spectrometer) e determinação

do comprimento de onda da molécula por varredura num espectrofotômetro UV-Visível (Agilent 8453 UV-Visible spectrophotometer).

### **Atividade Antimicrobiana**

Os estudos se basearam em dois métodos de ensaios: medida do halo de inibição por técnica de poços/difusão em agar e concentração mínima inibitória (CMI) por diluição em ágar.

### **Preparação das soluções e diluições das frações**

O extrato metanólico das folhas de *S. brasiliensis* (ExmSb) foi ressuspensionado em dimetilsulfóxido (DMSO):água (20%, v/v) [17]. A diluição do extrato para determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) foi 10 mg/mL (fator de diluição = 2) [8]. O antibiótico padrão foi tetraciclina (TET) (Sigma) nas concentrações de 0,31 µg/ml a 640 µg/ml (fator de diluição = 2).

Os metabólitos secundários isolados das folhas de *Schinopsis brasiliensis* foram solubilizados em solução aquosa de DMSO (20%, v/v) [17] nas concentrações de 750-6000 µg/mL, para S2 e de 250-2000 µg/mL, para S1 (fator de diluição = 2). O antimicrobiano controle foi a tetraciclina (300 µg/mL). Os controles negativos para ambas as técnicas (DMSO e Tween 80) foram preparados.

### **Determinação do Halo de Inibição**

Após o semeio dos inóculos bacterianos em placas, com agar Mueller-Hinton, foram realizadas perfurações (6 mm de diâmetro) e aplicação dos produtos testes (100 µl por poço), nas concentrações de 75, 150, 300 e 600 µg/poço para o isolado S2 e de 25, 50, 100 e 200 µg/poço para o isolado S1. O antibiótico padrão foi tetraciclina (30 µg / poço). Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C ± 1 por 24 h [17]. Os ensaios foram realizados em duplicata.

### **Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)**

A avaliação da CMI foi determinada pela metodologia da microdiluição em caldo proposta pelo Clinical and Laboratory Standards Institute [15] modificada.

Microplacas estéreis com 96 orifícios foram utilizadas. Cada orifício recebeu 160 µL de meio de cultura líquido caldo Mueller-Hinton (Himedia), 20 µL do inóculo a 0.5 da escala McFarland (10<sup>8</sup> UFC/mL) e 20 µL das soluções de diferentes concentrações de ExmSb (31.25 a 1000.0 mg/mL). Como controles foram utilizados: 20 µL de soro fisiológico, 160 µL de caldo Mueller-Hinton e 20 µL do inóculo (controle de crescimento microbiano); 20 µL de soro fisiológico e 180 µL de caldo Mueller-Hinton (controle de esterilidade); solução aquosa de tetraciclina nas concentrações de 0.125 µg/mL a 64.0 µg/mL (controle positivo); 160 µL de meio de cultura líquido caldo Mueller-Hinton, 20 µL do inóculo a 0.5 da escala McFarland e 20 µL DMSO (40%, v/v) (controle negativo). As microplacas foram incubadas a 37±1°C por 24 horas e, após esse período, foram adicionados 20 µL da solução aquosa de resazurina 0,2% como revelador.

## Resultados e Discussão

A avaliação da atividade antimicrobiana de um extrato é determinada pela presença de metabólitos secundários com toxicidade as cepas microbianas. Estes compostos, contidos nas plantas e adquiridos por processos extrativos, são concentrados e testados frente estudos biológicos. A classificação quanto ao potencial antimicrobiana tomou como referência a classificação de Saraiva<sup>[8]</sup> - CMI < 100 µg/mL, muito ativo; CMI entre 100 e 500 µg/mL, ativo; CMI > 500 e ≤ 1000 µg/mL, moderadamente ativo; CMI > 1000 e ≤ 2000 µg/mL, pouco ativo; e aqueles com CMI > 2000 µg/mL, inativos.

Na determinação das CMI das folhas de *S. brasiliensis* (TABELA 1 e 2) foram observadas as menores CMI, classificadas como muito ativos<sup>[8]</sup>, com valores de 31,25 µg/mL frente *S. aureus* e *Staphylococcus* (sp.) com valores de 500 µg/mL frente *E. coli* classificado como ativo.

**TABELA 1:** Atividade antimicrobiana do extrato metanólico de *Schinopsis brasiliensis* Engl. (ExmSb) frente a bactérias Gram-positivas.

Produtos	MIC - Bactérias Gram Positivas (AM)							
	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Staphylococcus</i> <sup>2</sup>			
	103 <sup>1</sup>	672	642	793	235	245	109	789
ExmSb (µg/mL)	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25
Tet (µg/mL)	16	2	1	1	0,5	0,5	0,25	<0,062

*S. aureus*: *Staphylococcus aureus*; Tet: tetraciclina; <sup>1,2</sup>: Os números abaixo de cada espécie são códigos de identificação que começa com as letras AM e são descritos em detalhe na secção **Linhagens microbianas**.

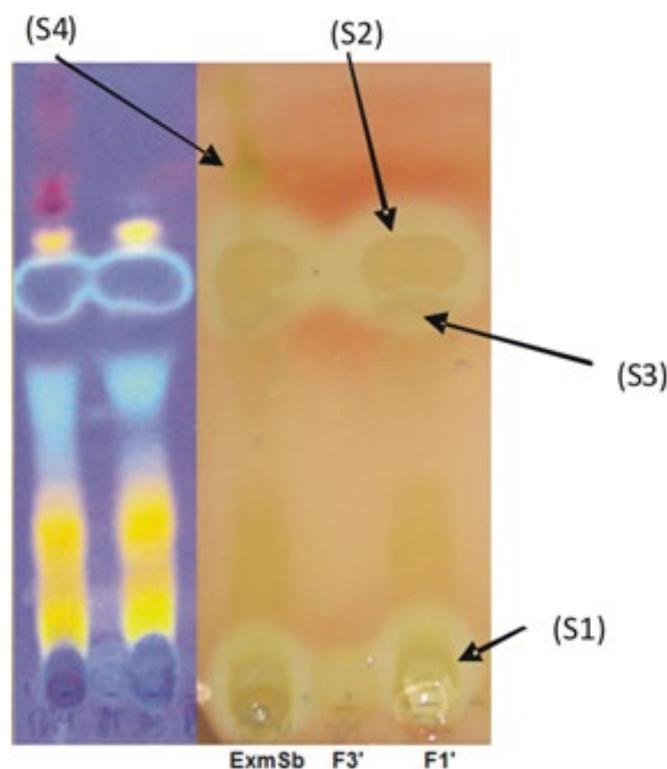
**TABELA 2:** Atividade antimicrobiana do extrato metanólico de *Schinopsis brasiliensis* Engl. (ExmSb) frente a bactérias Gram-negativas.

Produtos	CMI - Bactérias Gram Negativas (AM)													
	<i>E. coli</i>				<i>P. aeruginosa</i>				<i>K. pneumoniae</i>				<i>Salmonella</i>	
	1050 <sup>1</sup>	167	251	161	206	428	458	460	342	379	410	339	149	1046
ExmSb (µg/mL)	500	500	500	500	1000	1000	1000	1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Tet (µg/mL)	1	1	0,5	8	4	32	32	32	4	2	>64	4	2	2

*E. coli*: *Escherichia coli*; *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*; *K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae*; Tet: tetraciclina; <sup>1</sup>: Os números abaixo de cada espécie são códigos de identificação que começa com as letras AM e são descritos em detalhe na secção "Linhagens microbianas".

No estudo bioautográfico observou-se três zonas de inibição, sendo compatível há pelo menos quatro compostos com potencial antimicrobiano frente às duas linhagens de *Staphylococcus aureus* (A: AM103 e B: AM793) testadas. Dois destes compostos (S1, Rf 0,1 e S2, Rf 0,71) foram isolados e suas estruturas elucidadas. O metabólito secundário S3 (Rf 0,60) foi identificado, presuntivamente, utilizando o ácido gálico (Sigma) como padrão de referência por cromatografia em camada delgada (CCD), já tendo sido isolado por Souza<sup>[9]</sup> e Moreira<sup>[10]</sup>. O quarto metabólito secundário (S4), observado no Rf 0,83, ainda não foi identificado (FIGURA 1).

FIGURA 1. Bioautografia das frações das folhas de *Schinopsis brasiliensis* (ExmSb)



**S1, S2, S3 e S4:** halos de inibição referente a moléculas com potencial antibacteriano por bioautografia; **ExmSb:** extrato metanólico das folhas de *S. brasiliensis*; **F1'** e **F3':** frações de ExmSb.

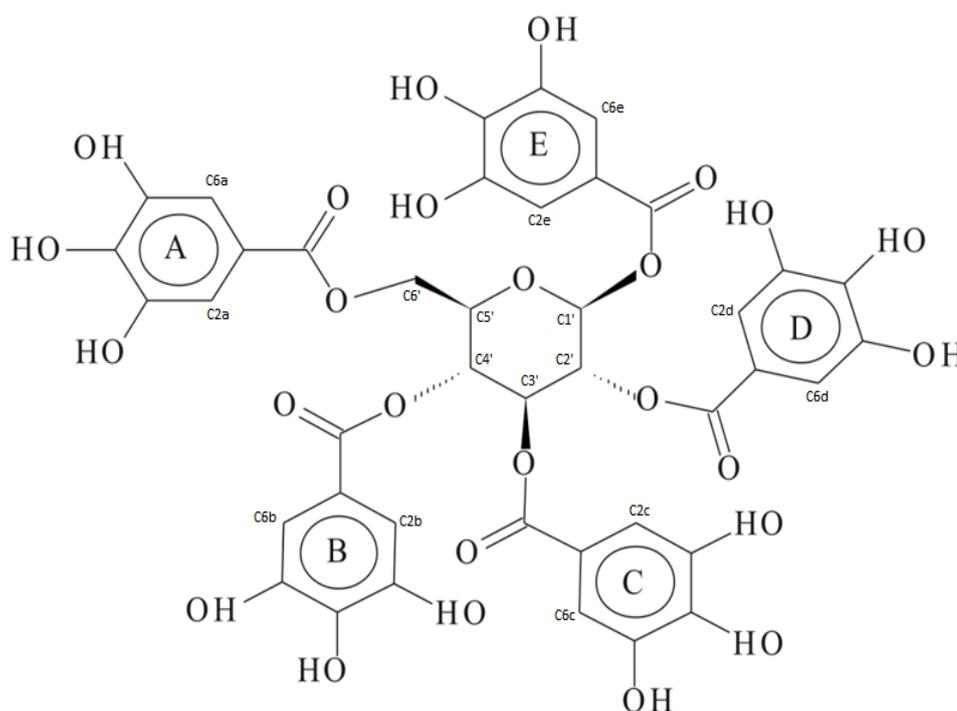
O fracionamento cromatográfico do extrato metanólico das folhas de *S. brasiliensis*, guiado por bioautografia, resultou no isolamento de dois compostos fenólicos:  $\beta$ -1,2,3,4,6-Pentagaloi-D-Glicose (PPG) ou  $\beta$ -1,2,3,4,6-Pentagaloi-D-piranoose e galato de metila, cujas estruturas foram identificadas com base na análise dos dados espectrais por  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  RMN, com apoio do espectro de infravermelho e GC-MS, para S1 e determinação do comprimento de onda ( $\lambda$ ) por varredura no espectrofotômetro de UV-visível e confirmados com os dados da literatura<sup>[9,19-21]</sup>.

### S1 - $\beta$ -1,2,3,4,6-Pentagaloi-D-Glicose

O composto S1 apresentou-se como um pó amorfo de coloração esbranquiçada. Os dados obtidos por espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) foi caracterizado como uma substância do grupo dos taninos hidrolisáveis, devido a presença de singletos, referente a dois prótons  $^1\text{H}$  entre 6,91 e 7,12 ppm do espectro (6,91 ppm – H-2c, H-6c; 6,96 ppm – H-2e, H-6e; 6,98 ppm – H-2d, H-6d; 7,06 ppm – H-2b, H-6b; 7,12 ppm – H-2a, H-6a), magneticamente equivalentes nas posições C-2 e C-6 de cada anel aromático do galoil, grupo dos fenóis, e sete sinais de prótons alifáticos provenientes de uma porção de açúcar foram observados entre as regiões 4,3 à 6,3 ppm do RMN  $^1\text{H}$ . A ressonância do próton ( $^1\text{H}$ ) anomérico em 6,24 (C-1') e os sinais na região de próton ( $^1\text{H}$ ) 5,59 (C-2'); 5,91 (C-3'); 5,62 (C-4'); 4,42 (C-5'); 4,39-4,52 (C-6') em conjunto com as ressonâncias observada pelos RMN bidimensionais (2D)  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  - COSY,  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  - HSQC e HMBC, respectivamente, confirmaram a presença da unidade glicopiranoose na estrutura de S1, sendo sua configuração  $\beta$  determinada com base na constante de acoplamento do próton anomérico ( $J = 8,4 \text{ Hz}$ )<sup>[21]</sup>.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e DEPT 135 de S1 mostrou trinta e um sinais representando quarenta e um carbonos, dos quais, cinco são carbonos alquila terciário e um alquila secundário compoendo a molécula da glicose. Dos trinta e cinco carbonos restantes, que fazem parte de cinco grupos galoiil, tem-se trinta carbonos com hibridização  $\text{sp}^2$  (110,79 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(2\text{b})$ ,  $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(6\text{b})$ ]; 110,50 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(2\text{c})$ ,  $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(6\text{c})$ ]; 110,63 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(2\text{d})$ ,  $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(6\text{d})$ ]; 110,54 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(2\text{a})$ ,  $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(6\text{a})$ ]; 110,57 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(2\text{e})$ ,  $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(6\text{e})$ ]; 146,67 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(3\text{b})$ ,  $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(5\text{b})$ ]; 146,40 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(3\text{c})$ ,  $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(5\text{c})$ ]; 146,49 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(3\text{d})$ ,  $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(5\text{d})$ ]; 146,59 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(3\text{a})$ ,  $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(5\text{a})$ ]; 146,55 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(3\text{e})$ ,  $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(5\text{e})$ ], 140,92 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(4\text{b})$ ], 140,27 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(4\text{c})$ ], 140,45 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(4\text{d})$ ], 140,15 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(4\text{a})$ ], 140,50 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(4\text{e})$ ]; (120,34 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(1\text{b})$ ], 120,34 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(1\text{c})$ ], 120,49 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(1\text{d})$ ], 121,18 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(1\text{a})$ ], 120,27 ppm [ $\text{R}'\text{-C}=\text{R}(1\text{e})$ ]) e cinco carbonos com hibridização  $\text{sp}^2$  (acila) (166,37 ppm [ $\text{R,R}'\text{C}=\text{O}(7\text{b})$ ], 168,08 ppm [ $\text{R,R}'\text{C}=\text{O}(7\text{c})$ ], 167,16 ppm [ $\text{R,R}'\text{C}=\text{O}(7\text{d})$ ], 168,55 ppm [ $\text{R,R}'\text{C}=\text{O}(7\text{a})$ ], 167,44 ppm [ $\text{R,R}'\text{C}=\text{O}(7\text{e})$ ]) (FIGURA 2)<sup>[19-21]</sup>.

FIGURA 2:  $\beta$ -1,2,3,4,6-Pentagaloiil-D-Glicose (S1) ( $\lambda$ ) 229 nm



As atribuições completas de S1 foram confirmadas pelos RMN 2D COSY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ), HSQC e HMBC ( $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ ). Estas indicaram claramente que os sítios de acilação do núcleo da glicopiranosose foram referentes às correlações de acoplamento ( $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ ) observadas no RMN HMBC ( $J^2$  e  $J^3$ ) entre prótons de glicopiranosose e grupo carbonila de cada galoiil correspondente, respectivamente 2H-6' acoplado com R,R'C=O (7a) (168,55 ppm); H-4' acoplado com R,R'C=O (7b) (166,37 ppm); H-3' acoplado com R,R'C=O (7c) (168,08 ppm); H-2' acoplado com R,R'C=O (7d) (167,16 ppm); H-1' acoplado com R,R'C=O (7e) (167,44 ppm) para cada unidade gálica (E, D, C, B e A) ligadas a glicopiranosose, respectivamente em C-1, C-2, C-3, C-4 e C-6 (TABELA 3)<sup>[21, 22]</sup>.

**TABELA 3:** Dados do RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) [ $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  (ppm),  $m$  (Multiplicidade)] de substância 1(S1).

Molécula Carbono	$\delta$ $^1\text{H}$	$\delta$ $^{13}\text{C}$	$J^{2,3}\text{CH}$
Glicose			
C1'	6,24 <i>d</i> (8,4)	93,96	1H-2'; 1H-5'
C2'	5,59 <i>dd</i> (8,4/9,8)	72,33	1H-3'
C3'	5,91 <i>dd</i> (9,8/9,7)	74,25	1H-4'; 1H1'
C4'	5,62 <i>dd</i> (9,8/9,7)	69,95	1H-3'; 1H-6 <sup>1,2</sup> '
C5'	4,42 <i>m</i>	74,54	2H-6a'; 6b'
C6'	4,39 <i>dd</i> (4,0/12,4) <sup>1</sup>	63,26	1H-4'
	4,52 <i>dd</i> (11,5/12,4) <sup>2</sup>		
Anel Galoil A			
C1a		121,18	1H-2a; 1H-6a
C2a	7,12 <i>s</i> (a)	110,54	1H-6a
C3a		146,59	1H-2a
C4a		140,15	1H-2a; 1H-6a
C5a		146,59	1H-6a
C6a	7,12 <i>s</i> (a)	110,54	1H-2a
C7a		168,55	1H-2a; 1H-6a; 2H-6 <sup>1,2</sup> '
Anel Galoil B			
C1b		120,37	1H-2b; 1H-6b
C2b	7,06 <i>s</i> (b)	110,79	1H-6b
C3b		146,67	1H-2b
C4b		140,92	1H-2b; 1H-6b
C5b		146,67	1H-6b
C6b	7,06 <i>s</i> (b)	110,79	1H-2b
C7b		166,37	1H-2b; 1H-6b; 1H-4'
Anel Galoil C			
C1c		120,34	1H-2c; 1H-6c
C2c	6,91 <i>s</i> (c)	110,50	1H-6c
C3c		146,40	1H-2c
C4c		140,27	1H-2c; 1H-6c
C5c		146,40	1H-6c
C6c	6,91 <i>s</i> (c)	110,50	1H-2c
C7c		168,08	1H-2c; 1H-6c; 1H-3'
Anel Galoil D			
C1d		120,49	1H-2d; 1H-6d
C2d	6,98 <i>s</i> (d)	110,63	1H-6d
C3d		146,49	1H-2d
C4d		140,45	1H-2d; 1H-6d
C5d		146,49	1H-6d
C6d	6,98 <i>s</i> (d)	110,63	1H-2d
C7d		167,16	1H-2d; 1H-6d; 1H-2'
Anel Galoil E			
C1e		120,27	1H-2e; 1H-6e

C2e	6,96 s (e)	110,57	1H-6e
C3e		146,55	1H-2e
C4e		140,50	1H-2e; 1H-6e
C5e		146,55	1H-6e
C6e	6,96 s (e)	110,57	1H-2e
C7e		167,44	1H-2e; 1H-6e; 1H-1'

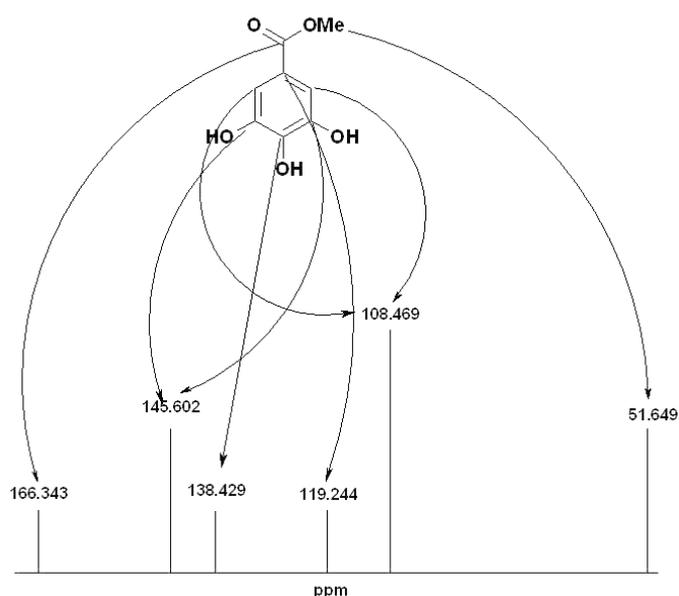
A massa molecular 940 de S1 foi determinada por GC-MS, sendo 940 [*M*] (100); 887 [*M* C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>] (32); 770 [*M*-ácido gálico] (12); 635 [*M*-(OH)<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>COO-(OH)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>CO] (50); 518 [*M*-ácido elágico (-H)-(OH)-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CO] (15), em intensidade moderada. No espectro de Infravermelho (IV) observou-se os grupamentos OH [3325, 964 cm<sup>-3</sup>], CH<sub>2</sub> [2931, 2861 cm<sup>-3</sup>], C=C do Anel aromático [1609, 1534, 1448, 678 cm<sup>-3</sup>], carbonila [C=O] do éster [1698 cm<sup>-3</sup>], COO [1310, 1189 cm<sup>-3</sup>], CO [1091, 1025 cm<sup>-3</sup>], CH de um metileno [2931, 817, 758, 671 cm<sup>-3</sup>] [23,19].

## S2 - Galato de Metila

No espectro de RMN (300 MHz) de <sup>1</sup>H [DMSO-d<sub>6</sub>] observou-se um singlete em δ<sub>H</sub> 6,93 ppm, com integral referente a dois prótons <sup>1</sup>H, sendo um em C-2 e um em C-6 de um anel aromático. Um singlete em δ<sub>H</sub> 3,74 ppm, com integral referente a três prótons <sup>1</sup>H no C-8. Um singlete em δ<sub>H</sub>: 9,19 ppm, correspondente a três hidrogênios relativos a três grupo hidroxila (3OH), cada uma ligada a um carbono sp<sup>2</sup> nas posições C-3, C-4 e C-5 de anel aromático (fenol).

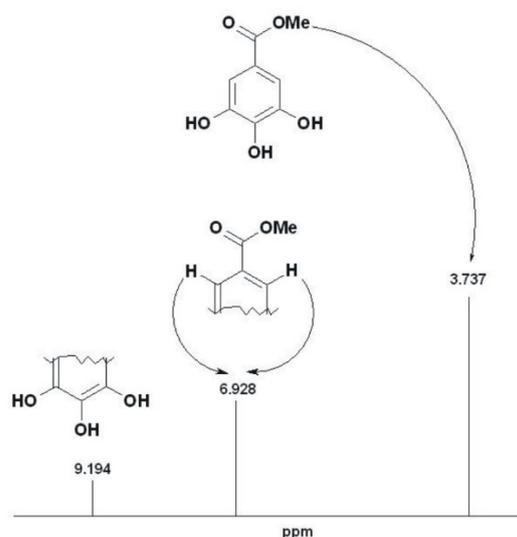
No RMN (75 MHz) de <sup>13</sup>C [DMSO-d<sub>6</sub>] de S2 observaram-se seis carbonos com hibridização sp<sup>2</sup> (145,60 ppm [R'-C=R(3), R'-C=R(5)]; 138,43 ppm [R'-C=R (4)]; 119,24 ppm [R'-C=R (1)]; 108,47 ppm [R'-C=R(2), R'-C=R(6)]), um carbono com hibridização sp<sup>2</sup> (haleto de acila) (166,34 ppm [R,R'C=O(7)]) e um carbono com hibridização sp<sup>3</sup> (alquila primário) (51,65 ppm [C-8, CH<sub>3</sub>]). O comprimento de onda (λ) de S2 foi 274 nm, que corresponde ao do galato de metila (FIGURA 3 e 4) [24].

FIGURA 3: Galato de Metila (C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>) <sup>13</sup>C RMN: *M* 184,146; λ = 274 nm (S2)



<sup>13</sup>C RMN (75 MHz; DMSO): δ<sub>C</sub> 119,24 ppm [R'-C=R (1)]; δ<sub>C</sub> 108,47 ppm [R'-C=R (2), R'-C=R (6)], δ<sub>C</sub> 138,43 ppm [R'-C=R (4)], δ<sub>C</sub> 145,60 ppm [R'-C=R (3), R'-C=R (5)], δ<sub>C</sub> 166,34 ppm [R,R'C=O (7)], δ<sub>C</sub> 51,65 ppm [-CH<sub>3</sub>(8)]; ppm: partes por milhão.

FIGURA 4: Galato de Metila (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>5</sub>) <sup>1</sup>H RMN: M 184,146; λ = 274 nm (S2)



<sup>1</sup>H RMN (300 MHz; DMSO): δ<sub>H</sub> 3,74 ppm (H-8a, H-8b, H-8c, s, 3H), δ<sub>H</sub> 6,93 ppm (H-2, H-6, s, 2H), δ<sub>H</sub> 9,19 ppm (OH-3, OH-4, OH-5, s, 3H); ppm: partes por milhão.

#### Atividade antimicrobiana

No estudo da atividade antimicrobiana de S1 (β-1,2,3,4,6 - pentagaloi-D-glicose - PGG) isolado das folhas de *S. brasiliensis* frente a bactérias anteriormente ensaiadas para o ExmSb, onde observou-se halos de inibição da ordem de 18 mm (200 µg/poço) e de 14 mm (50 µg/poço), ativos, frente as cepas de *S. aureus* (ATCC 6538), de 16 mm (200 µg/poço) e 13 mm (50 µg/poço), ativos, frente *S. saprophyticus* e de 14 mm (200 µg/poço), ativo, e 12 mm (50 µg/poço), pouco ativo, frente cepas *E. faecalis* (AM997) (TABELA 4).

TABELA 4: Atividade antimicrobiana de β-1,2,3,4,6-Pentagaloi-D-glicose frente cepas Gram positivas por poços difusão em ágar

Amostras	<i>S. aureus</i>					<i>Staphylococcus</i> <sup>2</sup>			<i>E. faecalis</i>	
	103 <sup>1</sup>	642	632	858	922	789	235	245	997	1056
PGG	200	18*	16	15	19	16	16	16	14	14
	100	16	14	13	16	14	14	14	12	12
	50	13	12	12	14	12	-	12	13	10
	25	10	10	10	11	10	-	10	11	-
Tet*	30	30	34	33	16	34	36	34	34	-

*S. aureus*: *Staphylococcus aureus*; *E. faecalis*: *Enterococcus faecalis*; \*: µg/poço; Tet: Tetraciclina; <sup>1,2</sup>: Os números abaixo de cada espécie são códigos de identificação que começa com as letras AM e são descritos em detalhe na seção "Linhagens microbianas"; -: Sem formação de Halo de inibição;

Nos resultados da atividade antimicrobiana de PGG frente bactérias Gram negativas observou-se, com halos de inibição da ordem de 21 mm (200 µg/poço), muito ativo, e 14 mm (25 µg/poço), ativo, frente cepas de *P. aeruginosa*. Não foram observados halos de inibição nas concentrações ensaiadas frente *E. coli* e *K. pneumoniae* (TABELA 5).

**TABELA 5:** Atividade antimicrobiana de  $\beta$ -1,2,3,4,6-Pentagaloi-D-glicose frente cepas Gram negativas por poços difusão em ágar.

		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>K. pneumoniae</i>		
Amostras		1050 <sup>1</sup>	247	460	428	339	379	
PGG	200	-	-	21*	21	-	-	
	100	-	-	18	19	-	-	
	50	-	-	16	16	-	-	
	25	-	-	14	14	-	-	
Tet*		30	28	24	13	14	28	27

*E. coli*: *Escherichia coli*; *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*; *K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae*; \*:  $\mu\text{g/poço}$ ; Tet: Tetraciclina; <sup>1</sup>: Os números abaixo de cada espécie são códigos de identificação que começa com as letras AM e são descritos em detalhe na secção "Linhagens microbianas"; -: Sem formação de Halo de inibição.

Os resultados da atividade antimicrobiana do galato de metila (GM), molécula isolada das folhas de *S. brasiliensis* frente cepas Gram positivas e Gram negativas de interesse clínico, foram observados halos de inibição da ordem de 19 mm (600  $\mu\text{g/poço}$ ), muito ativo, de 12 mm (150  $\mu\text{g/poço}$ ) frente às cepas de *S. aureus* (ATCC 6538), pouco ativo. Halos de 20 mm (600  $\mu\text{g/poço}$ ), muito ativo, de 13 mm (150  $\mu\text{g/poço}$ ) frente a cepa de *Staphylococcus coagulase negativo* (AM789). Em relação *E. coli* (AM1050) o galato de metila obteve halos de 17 mm (600  $\mu\text{g/poço}$ ) e 14 mm (150  $\mu\text{g/poço}$ ), ativos [24]. Frente às cepas *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *E. faecalis* não foi observado halos de inibição nas concentrações ensaiadas (TABELA 6 e 7).

**TABELA 6.** Atividade antimicrobiana de galato de metila frente cepas Gram positivas por poços difusão em ágar.

		<i>S. aureus</i>				<i>Staphylococcus</i> <sup>2</sup>			<i>E. faecalis</i>	
Amostra		103 <sup>1</sup>	642	632	922	789	235	245	997	1056
GM	600	19*	17	19	17	20	17	16	-	-
	300	17	13	15	14	16	13	14	-	-
	150	12	-	11	-	13	-	10	-	-
	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tet*		30	31	28	28	28	35	28	29	-

*S. aureus*: *Staphylococcus aureus*; *E. faecalis*: *Enterococcus faecalis*; \*:  $\mu\text{g/poço}$ ; Tet: Tetraciclina; <sup>1,2</sup>: Os números abaixo de cada espécie são códigos de identificação que começa com as letras AM e são descritos em detalhe na secção "Linhagens microbianas"; -: Sem formação de Halo de inibição;

**TABELA 7:** Atividade antimicrobiana de galato de metila frente cepas Gram negativas por poços difusão em ágar.

		<i>E. coli</i>			<i>P. aeruginosa</i>		<i>K. pneumoniae</i>		
Amostra		161 <sup>1</sup>	1050	247	460	428	339	379	
GM	600	18*	17	17	-	-	-	-	
	300	16	14	12	-	-	-	-	
	150	13	-	-	-	-	-	-	
	75	-	-	-	-	-	-	-	
Tet		30	26	27	26	-	-	20	22

*E. coli*: *Escherichia coli*; *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*; *K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae*; \*:  $\mu\text{g/poço}$ ; Tet: Tetraciclina; <sup>1</sup>: Os números abaixo de cada espécie são códigos de identificação que começa com as letras AM e são descritos em detalhe na secção "Linhagens microbianas"; -: Sem formação de Halo de inibição.

A atividade antimicrobiana das várias frações de *Schinopsis brasiliensis*, aqui estudados, pode ser justificada pela alta presença de taninos nas espécies do gênero *Schinopsis*[26], inclusive na espécie de

*Schinopsis brasiliensis* (Engl.), que também apresenta relevante concentração de flavonoides<sup>[8,27,28]</sup>, entre estes quercetina. Ainda, ácidos fenólicos, como ácido gálico, galato de metila, ácido elágico<sup>[10,9,29,30]</sup> e sitosterol<sup>[11,31]</sup>.

O  $\beta$ -1,2,3,4,6-Pentagalactil-D-Glicose (PGG) já tinha sido isolado antes na família Anacardiaceae, nas folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. (aroeira)<sup>[32]</sup>.

O proposto mecanismo de ação de PGG estaria relacionado na inibição da síntese de ácidos graxos das células bacterianas. Também é relatado que o PGG possuía propriedade antiviral, antidiabética<sup>[33]</sup>, antiangiogênica *in vitro* e *in vivo*, que diminui a expressão da ciclooxigenase 2 (COX-2) e da densidade microvascularização e do fator de crescimento vascular, redução do crescimento tumoral e aumento da apoptose das células tumorais<sup>[34,35]</sup>. Os ácidos fenólicos (ácido elágico, ácido gálico e galato de metila) têm seu mecanismo de ação na modulação do potencial da membrana plasmática (MP) devido à acidificação na interface da MP, implicando distúrbios de bombas e canais proteicos de membrana, na complexação de íons metálicos, inibição de proteínas carreadoras de nutrientes e cofatores enzimáticos. Tudo isso leva a inibição do crescimento bacteriano, diminuição da resistência da bactéria aos agentes antimicrobianos podendo causar morte da célula bacteriana<sup>[29,36]</sup>.

## Conclusão

Os estudos com o extrato metanólico das folhas de *Schinopsis brasiliensis* proporcionaram isolar, guiado pelo método bioautográfico, dois metabólitos com potencial antimicrobiano:  $\beta$ -1,2,3,4,6-Pentagalactil-D-Glicose (PGG) e galato de metila (GM). Estes isolados apresentaram atividade antimicrobiana frente às cepas de *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativo. Ainda, apresentou boa atividade antimicrobiana frente *P. aeruginosa* e *E. faecalis* para PGG e frente *E. coli* para o GM. A atividade antimicrobiana de PGG frente às linhagens de *S. aureus* (uma ATCC 6538 - cepa padrão e outra AM858 - Clone Epidêmico Brasileiro multirresistente) sugere que os mecanismos de ação dos compostos isolados são diferentes daqueles, aos quais, as linhagens multirresistentes desenvolveram resistência, já que os halos observados foram equivalentes, em média, entre as cepas responsivas testadas, o que, em tese, revela uma janela de possibilidades para a pesquisa de um mecanismo de ação alternativo, vislumbrando o desenvolvimento de uma nova classe de antimicrobianos. Ainda, para novas pesquisas que quantifiquem os compostos com propriedade antimicrobiana das folhas de *S. brasiliensis*, como a identificação de outros metabólitos secundários e estudos de suas propriedades farmacológicas, são necessários os resultados apresentados.

## Agradecimentos

Aos Professores Dr. Antônio Rodolfo de Faria (Laboratório de Síntese Orgânica Aplicada a Fármacos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil), Dr. Edilberto Rocha Silveira (Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil) e Dr. Pedro José Rolim Neto (Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil).

## Referências

1. Singh AK, Venkatesh V, Singh RP, Singh M. Bacterial and antimicrobial resistance profile of bloodstream infections: A hospital-based study. **J Health Res.** 2014; 1(3):140-144. [[CrossRef](#)]
2. Saraiva AM, Saraiva CL, Gonçalves AM, Soares RR, Mendes FO, Cordeiro RP. Antimicrobial activity and bioautographic study of antistaphylococcal components from *Caesalpinia pyramidalis* Tull. Braz. **J Pharm Sci.** 2012; 48(1): 147-154. ISSN 2175-9790.
3. Prado MCG, Barbosa DCA, Alves JLH. Aspecto Morfo-Estruturais da Unidade de Dispersão de *Schinopsis brasiliensis* Engl. "Baraúna" (Anacardiaceae). **Bol Soc Brot. Coimbra.** 1995; 67(2): 187-197. ISSN 0081-0657.
4. Cardoso MP, David JM, David JP. A new alkyl phenol from *Schinopsis brasiliensis*. **Nat Prod Res.** 2005; 19(5):431-433. [[CrossRef](#)].
5. Albuquerque UP, Medeiros PM, Almeida ALS, Monteiro JM, Lins Neto EMF, Melo JG et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **J Ethnopharmacol.** 2007; 114(3):325-354. [[CrossRef](#)].
6. Albuquerque UP. Re-examining hypotheses concerning the use and knowledge of medicinal plants: a study in the Caatinga vegetation of NE Brazil. **J Ethnomed.** 2006; 2:30. [[CrossRef](#)].
7. Almeida CFCBR, Silva TCL, Amorim ELC, Maia MBS, Albuquerque UP. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the Caatinga (Northeast Brazil). **J Arid Environ.** 2005; 62(1):127-142. [[CrossRef](#)].
8. Saraiva AM, Castro RHA, Cordeiro RP, Peixoto Sobrinho TJS, Castro VTNA, Amorim ELC et al. *In vitro* evaluation of antioxidant, antimicrobial and toxicity properties of extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae). **Afr J Pharm Pharmacol.** 2011; 5:1724-1731. ISSN 1996-0816.
9. Souza ON. **Chemical Constituents of the Leaves of *Schinopsis brasiliensis*.** 1990. These of Philosophy Doctor. The Polytechnic of North London, London. 207p.
10. Moreira BO. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antioxidante dos extratos hexânicos e diclorometânico das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae).** 2009. 103p. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química. Universidade Federal da Bahia, Salvador. [[Link](#)].
11. Cardoso MP. **Contribuição ao estudo fitoquímico de *Schinopsis brasiliensis* (Anacardiaceae).** 2001. 106p. Dissertação de Mestrado. [Programa de pós-graduação em Química], Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador.
12. Santos CCS, Masullo M, Cerulli A, Mari A, Estevam CS, Pizza C, Piacente S. Isolation of antioxidant phenolics from *Schinopsis brasiliensis* based on a preliminary LC-MS profiling. **Phytochem.** 2017; 140:45-51. [[CrossRef](#)].
13. Brasil. MME (Ministério de Minas e Energia). **Diagnóstico do município de Mirandiba.** Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 15 ago. 2019.
14. Yao L, Jlang Y, Datta N, Singanusong R, Liu X, Duan J. HPLC analyses of flavanols and phenolic acids in the fresh young shoots of tea (*Camellia sinensis*) grown in Australia. **Food Chem.** 2004; 84:253-263. [[CrossRef](#)].
15. CLSI - Clinical Laboratory Standards Institute. **Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico.** 6ª ed. M7-A6. 2003; 23(2):49. [[Link](#)].

16. Pessini GL, Holetz FD, Sanches NR, Cortez DA, Dias Filho BP, Nakamura CV. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizadas na medicina popular. **Rev Bras Farmacogn.** 2003; 13(suppl.1):21-24. ISSN 0102-695X.
17. Sakagami Y, Linuma M, Piyasema KGNP, Dharmaratne HRW. Antibacterial activity of  $\alpha$ -mangostin agins vancomycin resistant *Enterococci* (VRE) and synergism with antibiotics. **Phytomedicine.** 2005; 12(3):203-208. [[CrossRef](#)].
18. CLSI - Clinical Laboratory Standards Institute. **Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão – Norma M2-A8.** 8ª ed. ANVISA/MS – CLSI, 2003. [[Link](#)].
19. Cho JY, Sohn MJ, Lee J, Kim WG. Isolation and identification of pentagalloylglucose with broad-spectrum antibacterial activity from *Rhus trichocarpa* Miquel. **Food Chem.** 2010; 123: 501-596. [[CrossRef](#)].
20. Cannell RJP, Farmer P, Walker JM. Purification and characterization of pentagalloylglucose, an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor/antibiotic from the freshwater green alga *Spirogyra varians*. **Biochem J.** 1988; 255:937-941. [[CrossRef](#)].
21. Söhretoglu D, Sakar MK, Sabuncuoglu SA, Özgünes H, Sterner O. Polyphenolic Constituents and Antioxidant Potential of *Geranium stepporum* Davis. **Rec Nat Prod.** 2001; 5(1):22-28. ISSN 1307-6167.
22. Beretta G, Artali R, Caneva E, Facino RM. Conformation of the tridimensional structure of 1,2,3,4,6-pentagalloyl- $\beta$ -D-glucopyranose (PGG) by 1H NMR, NOESY and theoretical study and membrane interaction in a simulated phospholipid bilayer: a first insight. **Magn Reson Chem.** 2011; 49:132-136. [[CrossRef](#)].
23. Khanbabaee K, Lötzerich K. Efficient Total Synthesis of the Natural Products 2,3,4,6-Tetra-O-galloyl-D-glucopyranose, 1,2,3,4,6-Penta-O-galloyl- $\beta$ -D-glucopyranose and the Unnatural 1,2,3,4,6-Penta-O-galloyl- $\alpha$ -D-glucopyranose. **Tetrahedron.** 1997; 53:10725-10732. [[CrossRef](#)].
24. Moura ACS; Vilegas W; Santos LC. Identificação de alguns constituintes químicos de *Indigofera hirsuta* linn. (*Fabaceae*) por CLAE-IES-EM (TOF) e avaliação da atividade antirradicalar. **Quim Nova.** 2011; 34(7):1136-1140. ISSN 0100-4042.
25. Alves TMA, Silva AF, Brandão M, Grand TSM, Smônia FA, Smânia Jr. A et al. Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. **Rev Mem Inst Oswaldo Cruz.** 2000; 95: 367-373. ISSN 1678-8060.
26. Roux DG, Paulus E. Condensed Tannins - The isolation and distribution of interrelated heartwood components of *Schinopsis* spp. **Biochem J.** 1961; 78:785-789. [[PubMed](#)].
27. Araújo TAS, Alencar NL, Amorim ELC, Albuquerque UP. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge. **J Ethnopharmacol.** 2000; 120:72–80. [[CrossRef](#)].
28. Bylka W, Matlawska I, Pilewski NA. Natural Flavonoids as Antimicrobial Agents. **J. Am Nutr Assoc.** 2004; 7(2): 24-31. [[Link](#)].
29. Vatten DA, Shetty K. Biological functionality of ellagic acid: review. **J Food Biochem.** 2005; 29: 234-266. [[CrossRef](#)].
30. Akiyama H, Fuji K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. **J Antimicrob Chemother.** 2001; 48:487-491. [[CrossRef](#)].
31. Virtuoso S, Davet A, Dias JFG, Cunico MM, Miguel MD, Oliveira AB, Miguel OG. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae). **Rev Bras Farmacogn.** 2005; 15: 137-142. ISSN 1981-528X

32. Carvalher-Machado SC, Rosas EC, Brito FA, Heringe AP, Oliveira RR, Kaplan MAC et al. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. **Int Immunopharmacol.** 2008; 8: 1552–1560. [[CrossRef](#)].
33. Zhang J, Li L, Kim S, Hagerman AE, Lü J. Anti-cancer, anti-diabetic and other pharmacologic and biological activities of penta-galloyl-glucose. **Pharm. Res.**, 2009; 26: 2066. [[CrossRef](#)].
34. Chai Y, Lee HJ, Shaik AA, Nkhata K, Xing C, Zhang J et al. Penta-O-Galloyl- $\beta$ -D-glucose induces G<sub>1</sub> arrest and DNA replicative S-phase arrest independently of P21 cyclin-dependent kinase inhibitor 1A, P27 cyclin-dependent kinase inhibitor 1B and P53 in human breast cancer cells and is orally active against triple-negative xenograft growth. **Breast Cancer Res.** 2010; 12: R67. [[CrossRef](#)].
35. Huh J, Lee E, Kim M, Kang S. Penta - O -galloyl-beta- D -glucose suppresses tumor growth via inhibition of angiogenesis and stimulation of apoptosis: roles of cyclooxygenase-2 and mitogen-activated protein kinase pathways. **Carcinogenesis.** 2005; 26(8): 1436-1445. [[CrossRef](#)].
36. Zaidi-Yahiaoui R, Zaidi F, Bessai AA. Influence of gallic and tannic acids on enzymatic activity and growth of *Pectobacterium chrysanthemi* (*Dickeya chrysanthemi* bv. chrysanthemi). **Afr J Biotechnol.** 2008; 7(4): 482-486. ISSN 1684-5315.

---

**Histórico do artigo | Submissão:** 29/09/2019 | **Aceite:** 05/02/2020 | **Publicação:** 31/03/2020

**Conflito de interesses:** O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

**Como citar este artigo:** Saraiva AM, Coutinho FN, Silva RO, Randau KP, et al. Atividade antimicrobiana de polifenóis isolados das folhas de *Schinopsis brasiliensis* (Engl.) guiado por bioautografia. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2020; 14(1): 10-25. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/850>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

**Licença CC BY 4.0:** Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

