

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS-UFAM**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA-ICET**  
**CURSO: BACHAREL EM FARMÁCIA**

**MATEUS FEITOSA SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ALELOPÁTICA *in silico* e *in vitro* DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Syzygium cumini* (L.) Skeels.**

**ITACOATIARA-AM**

**2024**

**MATEUS FEITOSA SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ALELOPÁTICA *in silico* e *in vitro* DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Syzygium cumini* (L.) Skeels.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), como requisito para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

**Orientadora:** Dr<sup>a</sup>: Renata Takeara Hattori

**Coorientadora:** MsC- Rhanna Victória Amaral da Silva

**ITACOATIARA-AM**

**2024**

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S237c Santos , Mateus Feitosa  
Caracterização Química e Atividade Alelopática in silico e in vitro do óleo essencial das folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels / Mateus Feitosa Santos . 2024  
50 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Renata Takeara Hattori  
Coorientadora: Rhanna Victória Amaral da Silva  
TCC de Graduação (Farmácia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Azeitoneira. 2. Alelopatia. 3. Docking Molecular. 4. Compostos voláteis. I. Hattori, Renata Takeara. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

**MATEUS FEITOSA SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ALELOPÁTICA *in silico* e *in vitro* DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Syzygium cumini* (L.) Skeels.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), como requisito para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 26/07/2024.

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Renata Takeara Hattori - UFAM

---

**Coorientadora:** Prof.<sup>a</sup> MsC Rhanna Victória Amaral da Silva-UFAM

---

Prof.<sup>a</sup> MsC Vanessa Farias dos Santos Ayres- Afya Faculdade de Ciências Médicas

---

Prof.<sup>a</sup> MsC Rafaela Rolim da Silva-UFAM

## AGRADECIMENTOS

Se eu tentasse definir tudo o que estou sentindo neste exato momento que estou escrevendo esta parte do Meu Trabalho de Conclusão de Curso a definiria com a palavra: **GRATIDÃO**.

Agradeço primeiramente a Deus pela força e sabedoria de ter me ensinado a acreditar no bem. Obrigado Deus pelas oportunidades vivenciadas durante minha jornada acadêmica quanto aluno e pesquisador foram os anos mais produtivos e apesar de tudo os mais felizes que eu carregarei para sempre no meu coração.

Aos meus pais João Batista da Costa Santos e minha mãe Maria Aparecida Lopes Feitosa muito obrigado por me amarem e me aceitarem do jeito que eu sou, um filho imperfeito, sem religião, que ama roupa preta, que curte a vida de uma forma louca. Obrigado pelo apoio e compreensão durante estes anos que me dediquei dia e noite ao meu estudo.

À minha avó Maria Lopes Trindade (*in memoriam*) por toda contribuição na minha educação, saudades eternas vovó.

Ao Senhor Olímpio da Churrascaria do Olímpio e sua família por toda receptividade durante minha estadia em Manaus.

À minha orientadora, prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Renata Takeara Hattori por ter aceito essa missão de me orientar desde que cheguei no ICET com uma vertente tão diferente do que me consagrei a trabalhar. Obrigado por não ter desistido de me orientar.

À minha coorientadora, à prof.<sup>a</sup> MsC Rhanna Victória Amaral da Silva a quem tenho grande admiração muito obrigado por me ensinar a ser uma pessoa melhor e a ver o mundo com um outro olhar.

Ao Grupo de Pesquisa em Produtos Naturais (GPPN) Midiã Rodrigues Oliveira, obrigado por tudo e por todas as vezes que você me levantou quando eu pensei em desistir. Aos alunos que fazem parte deste grupo de Pesquisa em especial: Anyele Ramos da Silva, Diego Cezar, Anderson Viana, Fabiana Silva, Maria Gabriela Lisboa de Matos, Laenir Anjos da Silva, Eliza Oliveira, Kézia Castro, Liliane, Vanessa Farias dos Santos Ayres, César Queiroz, Maria Sara, Bruno Castro e Simone Castro.

Minha mudança para Manaus foi rápida e me permitiu conhecer novas pessoas as quais se tornaram parte da minha vida e mudaram minha concepção sobre tantas coisas. Agradeço ao Eldon Carlos dos Santos Colares por ter mudado a minha vida. Nunca irei esquecer todas as vezes que você me aconselhou e disse que tinha orgulho de mim, você é a melhor pessoa que eu já conheci nessa vida. Obrigado pelos eventos, pelas festas, Natal e Ano Novo (risos), Cervejada do Boi Caprichoso, Ensaio no Sambódromo, Barzinho no final de Semana, Boates e os melhores rolês. Gratidão por ter me ensinado a maior lição dessa vida: O amor. Conte comigo sempre, até depois do fim, Amo-te.

À Carol Colares, Geândria Nogueira, Rovy e Renata Zortéa pela amizade e companhia, que Deus abençoe sempre e muito sucesso amo vocês.

Agradeço ao Café com Pimenta, empreendimento da Sra. Ozineide Pimenta pela receptividade, companheirismo e atenção fornecida a mim em todos os cafés da manhã, em especial a dona Telma, Elvira, Queila e seu Luís.

Agradeço a Empresa Amazônia Fórmula pela oportunidade de realizar meu Estágio Supervisionado em Farmácia de Manipulação e pelas amizades que eu fiz lá e que irei levar para o resto da vida em especial: Dona Maria, Helena, Mateus Pimentel, Diani, Vanessa, Carol, Jéssica Menezes, Ykuno, Hiury, Emanuele, Mário, Erison Costa, Fabiana, Dayse, Conceição, Luciane Moreno.

Agradeço ao Hospital Universitário Getúlio Vargas pela oportunidade de ter me permitido estagiar em Farmácia Hospitalar e Análises Clínicas. Obrigado a todos

profissionais: Vivian Pereira, Heleno, Nairze Saldanha, Jéssica Mathias, Thaís, Quilda, Andreia, Antônia, Samantha, Pedro, Pablo, Deise, Amanda, Sayuri Miki, Rebeca, Mateus, Seu Garcia, Leila Coelho, Isaías, Tatiana, Roberto, Elma, Leila, Noelia, José Brillhante, Éber, Célio, Cynthia, Julivalda, Euderlan, Jessyca Matos, Cláudia Pio e Raylson.

Agradeço ao corpo técnico da UFAM de Itacoatiara: Sulcimilena Mady Flores por todo apoio e ajuda durante o estágio, Leandro Queiroz, Moacir Guimarães, Stefani Oliveira que atualmente é docente e me apresentou o mundo da pesquisa, Sâmia, Bruno, Luzia Dunnemann, Iderclei, Sinay, André, Almir, Naira pelas orações e pela fé a mim ensinada, Emiliano Neto por toda paciência em me ensinar Química Orgânica, Deiziane, Adriana Farias, Nadson e a todos envolvidos saibam que eu amo vocês.

Aos professores que abrilhantaram minha formação acadêmica e que deixarão saudades: Odineia Pamplona (*in memoriam*), Leandro Biase, Rosiane Moraes, Fabiana Paschoal, Paulo Tavares, Ao meu pai científico Pierre André de Souza meu muito obrigado por tudo, Clycia Anaíze a responsável por eu continuar no curso de Farmácia, Gleica Soyan, Vicente, Welma Carneiro, Dominique Fernandes obrigado por me preparar de forma excepcional na Química Orgânica, Margarida Carmo, Alex Martins, ao meu segundo pai de pesquisa Valdomiro Lacerda Martins meu muito obrigado por confiar em mim na elaboração de seus artigos, João Lucas Ruffini, Rafaela Rolim da Silva, Giana Thais Kaufman a deusa da Farmacotécnica, Tecnologia Farmacêutica e dos Cosméticos, Maxwell Adriano Abegg, Kibelle Costa, Aluizio Gonçalves Brasil Júnior, Alan Mazzari (paizão e chefe), Maiara Nunes Ávila a deusa da Sistemática e da Alelopatia, Isabel Reis Guesdon, Nívea Guedes, Fábio Medeiros, Santiago Linório, Ranieri Campos, Flávio Nogueira da Costa, Victor Celso Cavalcanti Capibaribe, Liane Demóstenes, Gerlândio Suassuna, Márcio Marçal Lobo amigo e parceiro de pesquisa obrigado por acreditar em mim e conduzir os experimentos de suas alunas de PIBIC.

Agradeço a empresa terceirizada da UFAM e as responsáveis pelo setor de serviços gerais em especial a Adriana, Paula, Elma e Rute por todo apoio, vocês não sabem o quanto vocês me ensinaram tantas coisas e a principal foi a de ser humilde, muito obrigado. Ao corpo de segurança da UFAM-ICET: Francismar e Delcimar muito obrigado por tudo.

Agradeço imensamente ao meu amigo João Alaor, gerente da drogaria Santo Remédio por todo apoio nos meus primeiros dias em Manaus, Deus te abençoe sempre. Ao Adriano Encarnação Lima pela amizade, cumplicidade e hospedagem nos eventos. Agradeço a Lívia Lisboa de Matos por toda ajuda e suporte nos dias iniciais em Manaus com a sua filha Maria Gabriela. Vocês são pessoas de Deus que eu amo e quero levar para o resto da vida.

Agradeço a professora Dr<sup>a</sup> Fernanda Guilhon Simplício pela oportunidade de eu fazer parte do Laboratório de Fitoquímica e Semissíntese da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas FITOPHAR. Fazer parte desta equipe é um grande presente amo vocês: Matheus Melo, Angel, Indira, Odoiza, Elias, Victória Nunes, Aryane Castro que me ensinou os conceitos cruciais de Docking Molecular presentes nesse TCC, Talita, Douglas, Maria Clara, Laiza (Barbarizante), Oscar, Rebeca limori e Felipe.

Agradeço à dona Elcilene Araújo da Silva, proprietária da Drogaria Nova Vida e família: Isaías, Oseias, Larissa, Ingrid Dantas, Miguel, Isaque, por todo apoio durante esses meses de estadia em Manaus, independentemente de onde eu for carregarei vocês no meu coração, muito obrigado por tudo.

Agradeço a Igreja Pentecostal Deus é Amor a quem fui membro por alguns anos. Obrigado por tudo e foi uma honra contribuir com o corpo administrativo e deliberativo.

Agradeço a enfermeira Eliade Elen, por cuidar dos curativos e da terapia com meu pai. Agradeço também a minha amiga Ana Paula Carvalho de Lima, Fábio Gama, Miguel meu afilhado, Bianca Andrade, Beatriz Andrade e Bianca Andrade.

Agradeço aos meus filhos de laboratório de Química Medicinal: Dayane Fernandes, Débora França, Débora Cristina Almeida, Hugo César Crispim, Iasmim Albuquerque, Jaqueline Marques, Paloma Leonel e Fernanda.

À Universidade Federal do Oeste do Pará UFOPA por ter me apresentado as melhores pessoas que já pude conhecer na vida: Laenir Anjos da Silva grande amiga e exemplo de mulher e pesquisadora. Aos meus amigos de pesquisa e de vida Darcy Pereira Fernandes Filho, Jefferson Adan Cavalcante Lopes, Laura Emília Rebelo Monte Blanco, e Lucas Emanuel Aquino a quem desejo tudo de bom. Obrigado de coração pela parceria e cumplicidade vocês são parte desta conquista.

À Universidade Federal de Sergipe e em especial à Luana Marília Santos Oliveira, Mariani e dona Mari (Mamãe) saudades e muito sucesso.

Agradeço a minha grande amiga: Fabiana Silva de Souza tenha certeza que você mudou a minha vida e eu nunca vou esquecer tudo o que você fez por mim. Obrigado por me ouvir naquele dia em que eu apenas queria morrer, mas você me deu a saída para vencer. Saudades dos nossos cafés da manhã, idas ao supermercado, saudades de tirar você de dentro de casa (risos) e o principal de tudo por conservar seu coração sempre bom mesmo diante das adversidades: Amo-te. Volta logo que estou morrendo de saudades.

À Sabrina dos Santos Souza, a quem eu pude conhecer durante minha passagem nos laboratórios 213 e 214. O que nos uniu tenho certeza foi nossa energia e nossas vertentes pois acreditamos em um mundo melhor. Desejo a você minha amiga tudo de bom e muito obrigado por me aceitar como eu sou, saudades dos nossos cafés e lanches da tarde você mora no meu coração.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos e em especial aos alunos: Aniele da Silva Neves Lopes por toda sabedoria e amizade nos melhores e piores momentos, ao Kaique Soares muito obrigado por me inspirar e pela amizade, ao Márcio Laranjeira Anselmo pela ajuda e pela amizade, ao Jardel Ramos, Joel, Noelle, Débora Libório, Carolyne Ribeiro, Kelly Serrão, Ívina Trindade, Rafaela Rolim da Silva. Aos orientadores, em especial ao prof. Dr. Paulo José Maia pelo convite de integrar o GeqBio da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Ao Conselho Regional de Farmácia do Estado do Amazonas em especial: Ana Célia da Silva Moura e Juliana Cristina Ferreira Fraiz Alves pela amizade e carinho comigo, vocês são pessoas incríveis e eu amo demais. Ao Jardel Inácio pela amizade e respeito, muito sucesso sempre.

Aos amigos que pude me aproximar mais e mais no Estágio em especial: Suelaine Gil da Silva a quem tenho muito carinho e que sabe muito sobre mim, mulher incrível uma amiga que amo demais, Emily Lorrane muito obrigado por me ensinar a amar minha família e ser uma pessoa melhor, Naymê Pereira que me ensinou tanta coisa e me socorreu no pior dia da minha vida, ao Kevin Christopher que tanto me ajudou nos momentos que eu pensei em parar, obrigado pela companhia nos lanches e nas sopas, à Crystine pela amizade em todos os momentos, saibam que vocês podem contar comigo sempre e amo muito todos vocês.

Aos amigos que o curso de Química Industrial me apresentou: Isabela Cavalcante do Nascimento a quem tanto amo e quero ver muito bem pois é muito especial para mim e ao Márcio Henrique (Marcinho) que sempre me animou a continuar no curso de Farmácia, Mily Tayara e Ranna Ambrósio por terem me permitido auxiliar nas pesquisas de vocês muito obrigado.

Aos amigos que o curso de Licenciatura em Química e Biologia me proporcionaram conhecer: Lohane Bianca a quem amo demais e me ensinou que o amor existe e que ele não escolhe gêneros, Adriana Albuquerque (Dri), Renata Aline, Adriele Lever, Larissa Almeida, Larissa Pereira, Edinelza Martins, Cadma Coelho, Rayane, Diana, Danyele de Melo Barbosa, Marcela Peixoto, Flávia, Renan Jena, Sinara Nayara, Tainá Grana, Cleiziane, Wanderlan, Valéria Nunes, Sandy, Isreele e Diana.

Aos amigos do curso de Agronomia que me receberam bem pois tenho o agro nas veias: Tatiane, Suelen, Lara Lopes, Shayenne, Lorena Leal, Mayara Mendonça, Elias (coronel), Irlanda Simas, Juliana Barbosa, Jarmily Gondim a quem tanto quero bem e pela amizade de anos e a Kembelly Merrick.

Aos amigos do curso de Farmácia que pude conhecer: Alef Ney, Geovana Souza, Leonardo Portilho vulgo (Paula Bruice), Mateus Lucas, Humberto, Jamily, Juliana 1 e Juliana Castro, Luana, Luciana, Samyra, Brenda, Heliam, Aline Thaise, Danielly Costa, Hugo Felipe, Elisandra Teixeira, Ana Paula Libório, Andressa Maciel, Dâmaris Barbosa, Eduarda Cristina, Lauriene, Juliane Souza, Simon Cruz e dona Eivalda obrigado por tudo, Ananda Alves, Ariane Lopes, Ilze Dourado, Felipe Russo, Woslon Paes, Ticiane, Milena Baía, Áquila Neves, Adelaide, Andria Lopes, Thalisson Castro, Felipe Ehm, Roosallyn Silva, Felipe Gaspar, Beatriz, Dayane Campelo.

Em especial quero agradecer ao meu grupo do café e de rolês após estágio no centrão (Emílio Borges, Gicele Doval e Amanda Cristine vocês são incríveis) obrigado por todos os momentos de apoio e de aprendizado, foi uma honra poder dividir laboratório, pesquisas, seminários, vou sentir saudades e os encontro pelas avenidas da vida. Gratidão.

Ao meu melhor amigo Vitor Hugo Neves da Silva por toda parceria, apoio, conselhos e principalmente pela paciência você sempre terá minha amizade.

Agradeço à minha amiga do coração Ariane Lopes que tanto me ajudou no meu início de caminhada acadêmica. Muito obrigado pelo afeto, carinho, amizade e principalmente pela reciprocidade você faz parte dessa conquista.

Ao professor Dr. Marcos Túlio da Silva pela amizade e parceria nos momentos mais tensos e complexos da vida, os melhores amigos nos aproximam do bem sempre. Gratidão por me acolher nos momentos em que apenas pensei em abrir mão do sonho de ser farmacêutico, obrigado por tudo. Que Deus e os orixás lhe protejam.

À minha amiga irmã Brenda Castro que amo demais e que me ensinou a ser uma nova pessoa, gratidão por tudo.

Agradeço imensamente à Myeda Caresto minha amiga que o Hospital Francisca Mendes me apresentou. Deus te abençoe sempre e muito obrigado por me ajudar em momentos tensos e complexos da vida, os bons amigos sempre estão dispostos a nos ajudar.

Agradeço a Aline Thaise, Hugo, Maylane Gomes (minha parceira de aventuras risos) e a Glenda Marques precisamos voltar no parque de diversões pessoal (risos).

Aos residentes do HUGV: Carlos Guimarães e Nilton Fabris pela amizade e compreensão nos momentos em que eu apenas queria desistir de tudo.

À técnica do laboratório da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto Izabel Cristina Casanova Turatti pelas análises dos óleos em CG-EM e ao Prof. Noberto Peoporine Lopes pela orientação e amizade.

Sei que são tantas pessoas que tenho que agradecer, mas carrego todos no coração independentemente dos resultados obtidos.

Agradeço pôr fim aos meus inimigos que mesmo com tantas adversidades não conseguiram me destruir e sim me ajudaram a ser mais forte. A inveja dos meus inimigos acelerou o meu progresso. E hoje posso dizer com orgulho: EU SOBREVIVI.



## EPÍGRAFE

“Azul é nossa cor.  
E o nosso amor é o Caprichoso.  
Viver é mais que ser.  
É aprender Ser caprichoso”.

**Utopia Cabocla:** Augusto Lobato e Zé Renato

## RESUMO

A família Myrtaceae é bastante conhecida devido à produção de óleos essenciais, sendo a espécie *Syzygium cumini* (L.) Skeels amplamente reportada na literatura em função de suas propriedades biológicas, conhecidas tanto pela medicina popular quanto pela comunidade científica. A *S. cumini* é conhecida popularmente como: Azeitoneira, Jamelão ou Jambolão sendo uma espécie produtora de óleos essenciais com diferentes atividades biológicas como: Antimicrobiana, Antitumoral, Anticolinesterásica e Antiparasitário. Os óleos essenciais, são compostos voláteis e têm sido alvo de vários estudos científicos por possuírem princípios ativos de interesse industrial, constituindo uma alternativa sustentável à inúmeros produtos químicos sintéticos. Porém, até o presente momento não foram encontrados relatos de sua atividade alelopática. Os centros de pesquisa investigam a atividade de compostos bioativos por meio de ferramentas computacionais, dentre estas destaca-se o Docking Molecular que pode ser usado para analisar a atividade de moléculas de interesse farmacológico sobre enzimas como a do processo de germinação de sementes. Nesse sentido o objetivo deste trabalho foi avaliar rendimento, perfil químico e a atividade alelopática do óleo essencial das folhas de *S. cumini*. O óleo essencial foi obtido a partir da extração por hidrodestilação das folhas frescas em aparelho de Clevenger e seus compostos foram caracterizados por meio de Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massa. A triagem virtual *in silico* foi realizada a partir da obtenção dos ligantes utilizando o software ChemDraw (versão 12) e posteriormente transformados em 3D no software Chem3D. Esses ligantes foram selecionados a partir dos compostos majoritários do óleo essencial de *Syzygium cumini* (L.) Skeels e foram avaliados *in silico* por modelagem molecular usando o software Gold da Hermes frente a proteína Apo mannanase 26 A sob código PDB (1R70). O ensaio alelopático *in vitro* foi realizado em câmara de germinação a 25 °C e 12 horas de fotoperíodo, utilizando as concentrações de 0,001; 0,01; 0,1 e 1% do óleo essencial sobre 20 sementes de cada cultura: alface, tomate e pimenta biquinho. Foram avaliadas as variáveis: Porcentagem de germinação, Tempo Médio de Germinação, Velocidade de Germinação, Índice de Velocidade de Germinação e Comprimento Médio Radicular monitoradas estatisticamente pelo software SISVAR. O óleo essencial apresentou rendimento de 0,25%(v/m) os componentes majoritários identificados foram: cis- $\beta$ -ocimeno (22,4%),  $\beta$ -pineno (8,7%), limoneno (8,4%),  $\alpha$ -Terpineol (8,0%),  $\alpha$ -pineno (6,2%), trans-cariofileno (6,2%). O teste de atividade alelopática *in silico* foi confirmado por meio do cálculo do desvio quadrático médio (RMSD), cuja o valor apresentado foi de 0.36 Å, e função de pontuação ChemScore. Os ligantes SC02, SC03 e SC06 apesar de apresentarem função de pontuação próximo ao do ligante original da enzima Apo mannanase 26 A favoreceram interações moleculares de interesse farmacológico. O óleo essencial inibiu a germinação das sementes de alface, tomate e pimenta biquinho além de ocasionarem o retardo no tempo de germinação assim a atividade alelopática se deve à presença dos constituintes químicos do óleo essencial de *S. cumini* tais como os monoterpenos. O óleo essencial de *S. cumini* apresentou atividade alelopática em ambos os testes sendo necessários estudos futuros buscando investigar o mecanismo de ação dos componentes deste óleo essencial frente outras enzimas do processo de germinação de sementes e o possível desenvolvimento de formulações com potencial bioherbicida.

**Palavras-chave:** Azeitoneira, Alelopatia, Docking Molecular, Compostos voláteis.

## ABSTRACT

The Myrtaceae family is well known for its production of essential oils, with the species *Syzygium cumini* (L.) Skeels being widely reported in the literature due to its biological properties, known both by folk medicine and the scientific community. *S. cumini* is popularly known as: Olive tree, Jamelão or Jambolão, and is a species that produces essential oils with different biological activities such as: Antimicrobial, Antitumor, Anticholinesterase and Antiparasitic. Essential oils are volatile compounds and have been the subject of several scientific studies because they contain active ingredients of industrial interest, constituting a sustainable alternative to numerous synthetic chemical products. However, to date, no reports of their allelopathic activity have been found. Research centers investigate the activity of bioactive compounds using computational tools, among which Molecular Docking stands out, which can be used to analyze the activity of molecules of pharmacological interest on enzymes such as those in the seed germination process. In this sense, the objective of this work was to evaluate the yield, chemical profile and allelopathic activity of the essential oil from the leaves of *S. cumini*. The essential oil was obtained from the hydrodistillation extraction of fresh leaves in a Clevenger apparatus and its compounds were characterized by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry. Virtual in silico screening was performed by obtaining the ligands using the ChemDraw software (version 12) and subsequently transformed into 3D in the Chem3D software. These ligands were selected from the major compounds of the essential oil of *Syzygium cumini* (L.) Skeels and were evaluated in silico by molecular modeling using the Hermes Gold software against the Apo mannanase 26 A protein under PDB code (1R70). The in vitro allelopathic assay was performed in a germination chamber at 25 °C and 12 h of photoperiod, using concentrations of 0.001; 0.01; 0.1 and 1% of the essential oil on 20 seeds of each crop: lettuce, tomato and biquinho pepper. The following variables were evaluated: Germination Percentage, Average Germination Time, Germination Speed, Germination Speed Index and Average Root Length statistically monitored by the SISVAR software. The essential oil presented a yield of 0.25% (v/m) and the major components identified were: cis- $\beta$ -ocimene (22.4%),  $\beta$ -pinene (8.7%), limonene (8.4%),  $\alpha$ -Terpineol (8.0%),  $\alpha$ -pinene (6.2%), trans-caryophyllene (6.2%). The in silico allelopathic activity test was confirmed by calculating the root mean square deviation (RMSD), whose value presented was 0.36 Å, and ChemScore scoring function. The ligands SC02, SC03 and SC06, despite presenting a scoring function close to that of the original ligand of the enzyme Apo mannanase 26 A, favored molecular interactions of pharmacological interest. The essential oil inhibited the germination of lettuce, tomato and biquinho pepper seeds, in addition to causing a delay in germination time. Thus, the allelopathic activity is due to the presence of chemical constituents of the essential oil of *S. cumini*, such as monoterpenes. The essential oil of *S. cumini* presented allelopathic activity in both tests, and future studies are necessary to investigate the mechanism of action of the components of this essential oil against other enzymes of the seed germination process and the possible development of formulations with bioherbicidal potential.

**Keywords:** Olive tree, Allelopathy, Molecular Docking, Volatile compounds.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estrutura da Apo-mannanase 26 A e seu ligante original.....	24
<b>Figura 2:</b> Árvore de <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels em local de coleta.....	25
<b>Figura 3:</b> Extração do óleo essencial de <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels.....	26
<b>Figura 4:</b> Equipamento CG-EM.....	27
<b>Figura 5:</b> Interação do ligante SC01 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.....	33
<b>Figura 6:</b> Interação do ligante SC02 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.....	34
<b>Figura 7:</b> Interação do ligante SC03 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.....	35
<b>Figura 8:</b> Interação do ligante SC04 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.....	36
<b>Figura 9:</b> Interação do ligante SC05 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.....	37
<b>Figura 10:</b> Interação do ligante SC06 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.....	38

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1:</b> Substâncias químicas já identificadas em espécies do gênero <i>Syzygium</i> .....	20
<b>Quadro 2:</b> Funções de pontuação utilizadas no software GOLD.....	23

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Substâncias presentes no óleo essencial de *S. cumini* (L.) Skeels amostra (AZSE6) .....31

**Tabela 2:** Interação dos compostos majoritários do óleo essencial de *Syzygium cumini* (L.) Skeels por meio do Docking Molecular frente os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.....33

**Tabela 3:** Efeito alelopático do óleo essencial de *S. cumini* sobre sementes de Alface *Lactuca sativa* .....39

**Tabela 4:** Efeito alelopático do óleo essencial de *S. cumini* sobre sementes de Tomate *Solanum lycopersicum*.....39

**Tabela 5:** Efeito alelopático do óleo essencial de *Syzygium cumini* sobre sementes de *Capsicum chinense* .....40

## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 1:</b> Rendimento de óleo essencial.....	26
<b>Equação 2:</b> Fórmula da Porcentagem de Germinação.....	29
<b>Equação 3:</b> Fórmula do Tempo Médio de Germinação.....	29
<b>Equação 4:</b> Fórmula da Velocidade Média de Germinação.....	29
<b>Equação 5:</b> Fórmula do Índice de Velocidade de Germinação.....	29
<b>Equação 6:</b> Fórmula do Comprimento Médio Radicular.....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Å- Angstrom  
**ACTHE**- Acetilcolinesterase  
**AG**- Algoritmo de busca  
**ALA133**-Alanina  
**ANOVA**-Análise de Variância  
**APG**- Angiospermas: Filogenia e Grupos  
**ASP**- Análise Estatística Potencial  
**ASP197**- Asparagina  
**AZSE6**- Amostra selecionada para os ensaios  
**BDEC**- Bases de Dados de Estruturas Cristalinas  
**BOD**-Demanda Bioquímica de Oxigênio  
**CAPES**- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior  
**CG/EM**- Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas  
**CHEMPLP**- Química de Potencial Linear por Partes  
**CRM**- Comprimento Médio Radicular  
**DNA**- Ácido Desoxirribonucleico  
**GOLD**- Otimização Genética de Ligante por Docking  
**G%**- Percentual de Germinação  
**ILE413**- Isoleucina  
**INMET**- Instituto Nacional de Meteorologia  
**IVG**- Índice de Velocidade de Germinação  
**LYS129**-Lisina  
**OE**- Óleo essencial  
**PDB**- Banco de Dados de Proteínas  
**RMSD**-Desvio Quadrático Médio  
**RAS**- Regras Para Análise de Sementes  
**R (%)** - Rendimento de Óleo Essencial  
**RPM**-Rotações Por Minuto  
**SC**-*Syzygium cumini*  
**SC01**- Limoneno  
**SC02**- Cis-β-ocimeno  
**SC03**- Alfa-Terpineol  
**SC04**- α-pineno  
**SC05**- β-pineno  
**SC06**- Trans-cariofileno  
**TMG**- Tempo Médio de Germinação  
**TYR132; TYR415**-Tirosina  
**USP**- Universidade de São Paulo  
**VAL414**-Valina  
**VG**-Velocidade Média de Germinação  
**µm**- Micrômetro  
**µL**- Microlitro



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>18</b>
2.1 Família Myrtaceae.....	18
2.2 Gênero <i>Syzygium</i> .....	19
2.3 Espécie <i>Syzygium cumini</i> .....	20
2.4 Alelopatia.....	21
2.5 Docking Molecular.....	22
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>24</b>
3.1 Objetivo Geral.....	24
3.2 Objetivos Específicos.....	25
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>25</b>
4.1 Coleta do vegetal.....	25
4.2 Extração do óleo essencial.....	26
4.3 Caracterização química do óleo essencial.....	26
<b>4.4 Análise <i>in silico</i>.....</b>	<b>27</b>
4.4.1 Triagem virtual.....	27
4.4.2 Ancoragem molecular.....	27
4.4.3 Análise conformacional dos resultados.....	28
<b>4.5 Análise <i>in vitro</i>.....</b>	<b>28</b>
4.5.1 Preparo das soluções para ensaio alelopático.....	28
4.5.2 Ensaio Alelopático.....	28
4.5.3 Análise Estatística.....	29
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>30</b>
5.1 Rendimento do Óleo Essencial.....	30
5.2 Perfil Químico do Óleo Essencial.....	30
5.3 Atividade Alelopática <i>in silico</i> .....	32
5.4 Atividade Alelopática <i>in vitro</i> .....	38
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>44</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Desde os tempos imemoriais o ser humano utiliza a flora medicinal para o tratamento de diversas doenças, contudo nos últimos anos o estudo de plantas com diferentes atividades terapêuticas intensificou-se ainda mais (Newman & Cragg., 2020). Por meio do metabolismo secundário, as plantas são capazes de produzir diversas classes de substâncias que podem atuar em sua proteção, como os óleos essenciais, que podem ser obtidos por meio da técnica de arraste a vapor e pela prensagem dos pericarpos de frutos cítricos (Simões., 2017).

Os óleos essenciais podem apresentar diversas atividades biológicas como: antifúngica (Natu; Takte, 2019; Tariq *et al*, 2019), antibacteriana, antiviral (TARIQ *et al.*,2019) inseticida (Souza *et al.*, 2019; Chellappandian *et al.*, 2018; Pavela; Benelli.,2016) e alelopática (IQBAL *et al.*,2017). Dentre as famílias botânicas sintetizadoras destes compostos, destaca-se a família Myrtaceae, que representa cerca de 1,32 % da população das angiospermas já catalogadas, com cerca de 140 gêneros e 3600 espécies (Angiosperm Phylogeny Group III, 2009).

Uma das espécies da família Myrtaceae já investigada cientificamente é a *Syzygium cumini* (L.) Skeels, conhecida popularmente como azeitona-preta, jamelão e entre outros nomes. É uma árvore de grande porte que atinge de 7 a 10 metros de altura, com folhas simples e frutos pequenos (2 a 3 cm) de cor roxo–escura, forma oval e coloração que varia de vermelho a preto quando maduros, apresentam ainda uma única semente coberta de polpa comestível (Migliato *et al.*, 2006). Entre as atividades biológicas que já foram atribuídas a *S. cumini*, destaca-se a inibição de acetilcolinesterase (Acthe) (Petrachaianan *et al.*,2019) ação antimicrobiana (Muhammad, *et al.*,2020) antioxidante e inibição enzimática (Nishandhini *et al.*,2015).

Atualmente as grandes indústrias vêm desenvolvendo diversos produtos usando insumos vegetais e uma das propriedades biológicas de interesse é o efeito alelopático, uma vez que os óleos essenciais e extratos de diversas plantas têm atuado como importantes inibidores da germinação de sementes e do desenvolvimento de diferentes espécies de plantas, evidenciando assim a ação herbicida, que pode reduzir o uso de agroquímicos que causam danos aos plantios e aos diferentes ecossistemas (Radhakrishnan *et al.*,2018; Day *et al.*,2020).

Uma das formas pelas quais a indústria farmacêutica explora a interação de uma substância com um alvo é por meio dos estudos *in silico* (Docking molecular). Trata-se de um método de predição e simulação da interação de uma molécula bioativa com um sítio ativo de uma proteína/enzima que utiliza softwares específicos (Braga *et al.*, 2015; Braga *et al.*, 2017; Rim., 2020). Wang *et al.*, (2023) avaliaram o efeito herbicida de oito compostos ativos isolados de *Brassica oleracea* L. comprovando o potencial alelopático *in silico* e *in vitro* da espécie frente sementes de alface (*Lactuca sativa*).

Até o presente momento, ainda não foram encontrados relatos na literatura acerca da atividade alelopática *in silico* e *in vitro* do óleo essencial das folhas de *S. cumini*. Visto isso, o objetivo deste trabalho é avaliar a composição química e o potencial alelopático *in silico* e *in vitro* do óleo essencial extraído das folhas de *S. cumini* (L.) Skeels, a fim de fornecer subsídios à agricultura para o desenvolvimento de produtos que possam causar menos impacto ao ecossistema.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Família Myrtaceae

A família Myrtaceae é uma das maiores famílias botânicas da flora brasileira, e abriga filogeneticamente cerca de 3600 espécies e 140 gêneros nativos (Apg., 2009). Esta família botânica possui uma ampla distribuição no hemisfério Sul, além de apresentar uma ampla diversidade de espécies eudicotiledôneas de aspecto lenhoso e os seus caracteres crípticos são considerados um grande desafio para a classificação e taxonomia das espécies que fazem parte desta família (Balbinott *et al.*, 2022).

As espécies que fazem parte da família Myrtaceae possuem características morfológicas específicas como: folhas simples e opostas, nervura intramarginal, limbo com glândulas taníferas, canais oleíferos, ritidoma do tipo laminado, flores pequenas e hermafroditas as quais podem apresentar variações de estames e frutos carnosos (Martins *et al.*, 2014).

A família Myrtaceae também abriga espécies que possuem glândulas pelúcidas as quais são secretoras de óleos essenciais (Apg III, 2009). Existem espécies desta família que, apresentam inflorescências axilares, caulifloras ou uniflorais assim como podem existir espécies com flores bissexuais ou

unissexuais, cálice polilobular no caso das espécies que possuem de 4 a 5 lóbulos, estames e a presença de pistilo e estigma (Sánchez-Chávez; Zamudio., 2017).

Algumas espécies da família Myrtaceae são muito importantes para o setor econômico pela praticidade no desenvolvimento de alimentos como: doces, compotas, geleias, sucos, gelatinas, assim como estas são difundidas pelo fato de apresentarem diferentes atividades farmacológicas pela quantidade de classes de metabólitos secundários que apresentam como: fenóis, taninos, terpenos, alcaloides, flavonoides e entre outras (Bfg., 2015).

A família Myrtaceae é produtora de diversos produtos como: extratos, óleos essenciais e resinas além de diferentes atividades biológicas como: antioxidante Franco *et al.*, (2021); anti-inflamatória e anti-nociceptiva Basting *et al.*, (2014), inseticida (Souza *et al.*, 2019; Chellappandian *et al.*, 2018; Pavela; Benelli.,2016) e alelopática (Iqbal *et al.*,2017).

## **2.2 Gênero *Syzygium***

O gênero *Syzygium* é muito conhecido pela sua distribuição mundial e pelo fato de ser um gênero nativo dos trópicos (Ayyanar; Subash-Babu, 2012). Para este gênero até o presente momento foram catalogadas aproximadamente 3600 espécies as quais possuem uma prevalência abundante em áreas tropicais e subtropicais e de grande produtividade (Nacata.,2017; Apg III.,2009).

As espécies pertencentes ao gênero *Syzygium* vem sendo amplamente estudadas por conta de suas propriedades terapêuticas e medicinais assim como apresentam grande importância econômica. O gênero abriga espécies produtoras de frutos carnosos como a goiaba, o jambo, a azeitona preta e outras espécies da flora brasileira (Camacho-Romero *et al.*,2016; Mariselvam *et al.*, 2017).

Algumas espécies botânicas pertencentes ao gênero *Syzygium* como o cravo da Índia vêm sendo estudadas pela indústria farmacêutica com o objetivo de investigar diferentes propriedades biológicas para o gênero principalmente por conta das substâncias químicas encontradas nas espécies. Dentre as principais atividades biológicas das espécies deste gênero pode-se citar: antioxidante, antitumoral e anti-inflamatória (Batista *et al.*,2016), antidiabética

(Santos *et al.*, 2023); anti-inflamatório (Camacho-Romeiro *et al.*, 2016), proteção gastrointestinal (Melo *et al.*, 2009; Nacata., 2017).

No quadro 1 são apresentadas algumas espécies do gênero *Syzygium* e as substâncias encontradas com potencial farmacológico.

**Quadro 1:** Substâncias químicas já identificadas em espécies do gênero *Syzygium*.

<b>Espécie</b>	<b>Composição química</b>	<b>Referência.</b>
<b><i>S. aqueum</i></b>	p-hidroxibenzaldeído, miricetina-3-O-raminosídeo, e mirigalona-B.	(Manaharan <i>et al.</i> , 2012).
<b><i>S. malaccense</i></b>	Ácido benzóico, catequinas, quercetina e rutina (+) -alfa pineno, (-) beta pineno, p-cimeno e (-) -beta-cariofileno	(Batista <i>et al.</i> , 2016).
<b><i>S. cumini</i></b>	$\beta$ -guaieno, trans-cariofileno, $\beta$ -pineno e p-cimeno. Taninos e flavonoides.	(Camacho-Romero <i>et al.</i> , 2017). (Cartaxo- Furtado <i>et al.</i> , 2015)
<b><i>S. aromaticum.</i></b>	trans-cariofileno, acetato de eugenila, humuleno, vanilina e eugenol	(Paoli <i>et al.</i> ,2007)

**Fonte:** O autor (2024).

### 2.3 Espécie *Syzygium cumini*

*Syzygium cumini* conhecida popularmente por: jambolão, jamelão, guapê e azeitona-preta. É uma planta frutífera, ornamental, pertencente à família Myrtaceae e que possui origem Asiática, encontrada em diversas regiões, tendo seu registro já comprovado nas regiões nordeste, norte e sudeste do Brasil (PINHEIRO; HORNES.,2021).

A espécie possui porte arbóreo alto, robusto chegando a atingir cerca de 10 metros de altura, possui folhas verdes, aromáticas e lisas, seus frutos são pequenos (2 a 3 cm) de cor roxo–escura, forma oval e coloração que varia de vermelho a preto quando maduros, apresentam ainda uma única semente coberta de polpa comestível (Pinheiro; Hornes.,2021). O caule é lenhoso e reto com alto teor de substância adstringentes (Pinheiro; Hornes.,2021).

O período de janeiro a maio é o período de frutificação da espécie que iniciam com a coloração branca e estes vão mudando conforme o grau de

maturação, onde ocorre a mudança da cor para tons avermelhados, e quando atinge o alto pico de maturação, apresenta coloração roxa intensa (BRASIL, 2015).

Entre as principais atividades biológicas que já foram atribuídas a *S. cumini*, destaca-se a inibição de acetilcolinesterase (Petrachaianan.,2019) atividade antimicrobiana (Muhammad, *et al.*, 2020), antioxidante (Nishandhini *et al.*,2015) e antidiabética (Santos *et al.*,2023).

## 2.4 Alelopatia

O termo “alelopatia” é derivado do grego *allelon*, palavra utilizada para se referir a efeito 'mútuo' ou 'entre si', e páthos, que quer dizer 'sofrimento'. Este termo foi utilizado pela primeira vez no ano de 1937 pelo fisiologista vegetal austríaco Hans Molisch afim de explicar o efeito inibitório ou estimulante de uma planta sobre outra (Willis.,2007).

No ano de 1984 o termo alelopatia foi definido por Rice como a ação de uma determinada planta sobre outra, em virtude da liberação de substâncias químicas no meio ambiente denominadas de aleloquímicos. Atualmente a alelopatia foi descrita de forma específica como a interação direta ou indireta na qual compostos aleloquímicos liberados por um organismo tendem a influenciar nos processos fisiológicos dos organismos vizinhos (Graeber; Nakabayashi; Leubner-Metzger., 2017).

O interesse acerca da alelopatia surgiu com o objetivo de se estudar acerca dos fenômenos agrônômicos como a quebra de safra e a infertilidade do solo. Nos ecossistemas naturais, as interações químicas entre as plantas passaram a receber maior atenção a partir do século XX. Nos últimos anos a alelopatia tem ganhado destaque em diversos estudos científicos para a fisiologia vegetal, uma vez que os compostos aleloquímicos apresentam acentuado potencial para aplicação como herbicidas, inseticidas e nematicidas naturais (Almeida *et al.*, 2019).

Os aleloquímicos podem atuar de diferentes formas. Em organismos alvos os efeitos dos aleloquímicos dependem de fatores como a permeabilidade da membrana, absorção direta de água e nutrientes, respiração, fotossíntese,

síntese de proteínas e ácidos nucleicos e regulação do crescimento (Latif; Chiapusio; Weston.,2017; Moura *et al.*,2013).

Algumas espécies botânicas já foram descritas na literatura por apresentarem atividade alelopática. Moura *et al.*, (2013) relataram que os óleos essenciais de *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Ocimum gratissimum*, inibiram o desenvolvimento da radícula e parte aérea de picão-preto e pimentão. Miranda *et al.*, (2015) descrevem que os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum* L. e *O. gratissimum* foram capazes de inibir o desenvolvimento de aquênios de alface. Melo *et al.*, (2017) relataram que o óleo essencial do rizoma de *Curcuma zedoaria* ocasionou a queda nas taxas de germinação em alface e tomate.

## 2.5 Docking Molecular

Dentre as ferramentas computacionais utilizadas para o planejamento de fármacos destaca-se o Docking molecular. Esta técnica utiliza a abordagem *in silico* (simulação computacional) e fundamenta-se no acoplamento de moléculas químicas denominadas de ligantes nos sítios ativos de ligação de macromoléculas como: proteínas, aminoácidos, DNA e entre outros (Pires.,2015; Batool.,2019).

O docking molecular pode ser interpretado a partir da análise das propriedades estruturais como: posição espacial ou rotação de moléculas, assim como pelas análises físico-químicas, baseadas nas diferentes ligações químicas como: forças eletrostáticas, interações hidrofóbicas, interações de Van der Waals, ligações de hidrogênio e ligações covalentes, definem diretamente qual o grau de afinidade e/ ou especificidade entre um determinado ligante e um receptor (Batool.,2019).

Atualmente existem diversos programas usados para o docking molecular. Estes softwares utilizam dois algoritmos principais: o algoritmo de busca e a função de pontuação. O algoritmo de busca apresenta diversas soluções denominadas “pose”, que consiste em uma orientação específica de encaixe do ligante na cavidade específica de um receptor (Meng et al, 2011).

Dentre os principais softwares de docking molecular o programa GOLD (Genetic Optimisation for Ligand Docking) têm apresentado excelentes resultados na análise de predição de poses corretas do ligante com o receptor

específico com uma precisão de 90% (Pagadala.,2017) e ótimos resultados para triagem virtual permitindo investigar mecanismos de ação de produtos naturais, derivados semissintéticos e fármacos (Meng et al., 2011).

O GOLD é um software que funciona por meio da plataforma de Bases de Dados de Estruturas Cristalinas – BDEC, é utilizada como algoritmo de busca o AG e possui quatro funções de pontuação: GoldScore, ChemScore, ChemPLP (Piecewise Linear Potencial) e ASP (Astex Statistical Potential) (Verdonk et al., 2003).

As funções de pontuação presentes no software GOLD, possuem diferentes atividades algorítmicas. No quadro 2 são apresentas as funções de pontuação do GOLD e suas respectivas funcionalidades.

**Quadro 2:** Funções de pontuação utilizadas no software GOLD.

<b>Função de Pontuação</b>	<b>Funcionalidade</b>
<b>GoldScore</b>	Utiliza os fundamentos da mecânica molecular afim de otimizar as melhores predições de poses de ligações químicas do ligante analisado, com o sítio ativo da enzima de interesse, analisa as energias de ligações de hidrogênio, forças intramoleculares do ligante e complexo proteína-ligante, interações de Van der Waals existentes entre o complexo proteína-ligante e tensão intramolecular do ligante (Naranjo-Montoya.,2015).
<b>ChemScore</b>	É a função de score empírica coordenada por 82 complexos de afinidade de ligação conhecida e que possui a finalidade de avaliar mecanicamente a variação de energia para efetivar a ligação entre o ligante e a proteína-alvo analisando fatores como: ligação de hidrogênio, interações com metal, interações lipofílicas, perda de entropia conformacional do ligante (Olanda.,2016; Andricopulo.,2009).
<b>ChemPLP</b>	Função que visa analisar e tratar os ligantes por meio de forças de contato neutro e de repulsão através de potencial linear por partes (PLP). O PLP é composto por uma parte atrativa e outra repulsiva analisando nesse sentido a funcionalidade de: (doador-doador, doador de metal e aceitador-aceitador) (Naranjo-Montoya.,2015).
<b>ASP</b>	É uma função de potencial estatístico que analisa de forma completa os dados estruturais disponíveis em um banco de dados de complexos proteína-ligantes por meio de reconhecimentos de algoritmos. Esta função analisa qual a frequência de interação entre átomos de ligantes e as proteínas assim como a ocorrência das interações entre pares de átomos (Olanda.,2016).

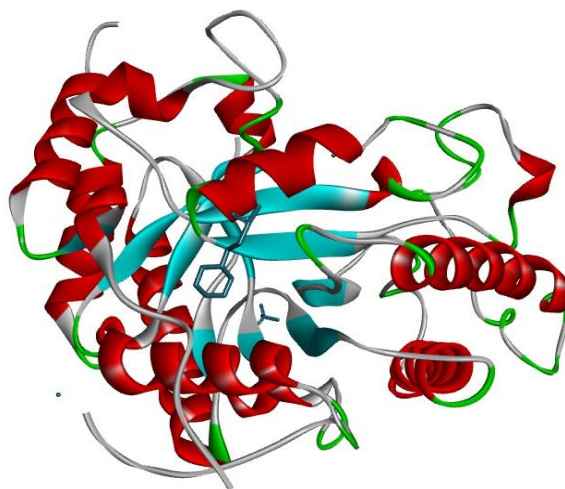
**Fonte:** O autor., (2024).



Diferentes enzimas podem ser investigadas no GOLD, dentre estas as responsáveis pelo processo de germinação de sementes como as mananases. Dentre estas enzimas destaca-se a que foi utilizada neste Trabalho de Conclusão de Curso presente do PDB (Protein Data Bank) a Apo-mannanase 26 A, uma enzima responsável pelo processo de germinação de sementes como: alface, tomate, pimentas e entre outras hortaliças (Hogg et al.,2001).

A Apo-mannanase 26 A (figura 1) é uma enzima constituída pela Manana, um polissacarídeo de matriz principal nas paredes celulares de angiospermas, e compreende uma estrutura de unidades de manose ligadas a -1,4 (em glucomananas a estrutura consiste em resíduos de manose e glicose), que são nutridos com resíduos de galactose e possui como ligante original o ácido-2-N-morfolino etano sulfônico, cofator o íon sulfato e é uma proteína do tipo zinco dependente (Bolam et al.,1996).

**Figura 1:** Estrutura da Apo-mannanase 26 A e seu ligante original



**Fonte:** O autor (2024).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Avaliar o perfil químico e a atividade alelopática *in silico* e *in vitro* do óleo essencial das folhas de *Syzygium cumini*.

### 3.2 Objetivos Específicos

- a) Determinar a composição química do óleo essencial das folhas de *S. cumini* (L.) Skeels por meio da técnica de CG-EM;
- b) Avaliar o potencial alelopático *in vitro* do óleo essencial de *S. cumini* (L.) Skeels frente às espécies: alface (*Lactuca sativa*), tomate (*Solanum lycopersicum*) e pimenta-biquinho (*Capsicum chinense*);
- c) Estudar os efeitos do óleo essencial sobre os parâmetros: Porcentagem de germinação (%G), Tempo Médio de Germinação (TMG), Velocidade de Germinação (VG), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Comprimento Médio Radicular (CRM);
- d) Investigar o potencial alelopático *in silico* dos compostos majoritários do óleo essencial das folhas de *S. cumini* (L.) Skeels por meio de estudos de Docking molecular frente o sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A responsável pela germinação de sementes;

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Coleta do vegetal

Folhas de *S. cumini* foram coletadas no Horto Florestal de Itacoatiara-AM no mês de junho de 2020 para extração do óleo essencial às 08 horas da manhã, sendo este período de transição do período de seca para o chuvoso. A temperatura do local no dia da coleta era 32,1°C e a umidade 39% (figura 2).

O índice de precipitação foi obtido por meio de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) no dia anterior à coleta foi de 0,0 mm. As coordenadas geográficas do local foram: S 3°8'10,94604" e W: 58°25'55,7562".

**Figura 2:** Árvore de *Syzygium cumini* em local de coleta



**Fonte:** O autor (2024)

## 4.2 Extração do óleo essencial

O óleo essencial das folhas de *S. cumini* foi obtido por meio da técnica de hidrodestilação do material fresco em aparelho de Clevenger onde foram utilizados 800 gramas de folhas (figura 3).

Em seguida, o óleo essencial foi centrifugado por 10 minutos a 3500 RPM para separação e retirada da água. Foi obtido 2000  $\mu$ L e esta amostra recebeu o código de AZS-E6.

O óleo essencial obtido foi mantido em frasco âmbar tampado sob refrigeração até o momento de ser analisado. O rendimento obtido do óleo essencial foi calculado baseado no volume do óleo essencial em mililitros pelo peso das folhas em gramas (v/m) conforme a equação 1 a seguir:

$$\text{Equação 1: } R (\%) = \text{volume (mL)}/\text{massa(g)} * (100)$$

**Figura 3:** Extração do óleo essencial de *Syzygium cumini*.



**Fonte:** O autor (2024).

## 4.3 Caracterização química do óleo essencial

O óleo essencial extraído das folhas de *Syzygium cumini* foi submetido à análise em CG-EM em equipamento SHIMADZU acoplado a um espectrômetro de massas SHIMADZU QP2010.

Para cromatografia dos componentes foi utilizada uma coluna DB-5MS, com 30 m x 0,25 mm, espessura do filme interno de 0,25  $\mu$ m. A identificação dos constituintes foi realizada por meio da análise e interpretação de seus espectros de massas através do cálculo do Índice de Kovat's e pela comparação com os dados da literatura (Adams., 2007).

Para realização das análises químicas foi utilizado equipamento da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP conforme visto na (figura 4)

**Figura 4:** Equipamento CG-EM.



**Fonte:** O autor (2024).

#### **4.4 Análise *in silico***

##### **4.4.1 Triagem virtual**

A triagem virtual *in silico* foi realizada a partir da obtenção dos ligantes utilizando o software ChemDraw (versão 12) e posteriormente transformados em 3D no software Chem3D.

Esses ligantes foram selecionados a partir dos compostos majoritários do óleo essencial de *S. cumini*. Cada um dos ligantes recebeu um código específico: **SC01:** Limoneno, **SC02:** cis- $\beta$ -ocimeno, **SC03:** Alfa-Terpineol, **SC04:**  $\alpha$ -pineno, **SC05:**  $\beta$ -pineno e **SC06:** Trans-cariofileno. Os arquivos foram salvos em formato mol.1 e armazenados em uma pasta na área de trabalho. Posteriormente foi obtido o arquivo 3D da proteína (alvo molecular) a partir do Protein Data Bank (PDB; CÓDIGO: 1R7O) o qual também foi armazenado na pasta mencionada.

O Alvo e os ligantes foram tratados para adição de cargas, retiradas de cofatores, e otimização das moléculas para posterior ancoramento (Docking Molecular).

##### **4.4.2 Ancoragem molecular**

O Docking molecular foi realizado utilizando o software Gold. Os parâmetros de docking consistiram na validação do alvo obtido do PDB, a fim de obter-se valores de RMSD (Desvio quadrático médio) abaixo de 2 Å. Foram testadas diferentes funções de pontuação sendo a mais estável a função Chem Score, e foram analisados os raios de busca dentro do sítio ativo do alvo.

Após validação, o arquivo gold foi utilizado para adicionar os ligantes desenhados e finalmente o ancoramento foi realizado.

#### 4.4.3 Análise Conformacional dos Resultados

Para análise dos resultados os diferentes arquivos log de cada molécula foram analisados e as funções de pontuação foram anotadas e os arquivos dos resultados salvos separadamente.

Os arquivos foram analisados no software Discovery Studio para determinação das interações intermoleculares e assim predizer a afinidade dos ligantes frente ao alvo selecionado.

#### 4.5 Análise *in vitro*

##### 4.5.1 Preparo das soluções para ensaio alelopático

As emulsões contendo o óleo essencial de *S. cumini* foram preparadas no laboratório de Farmácia, do Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia, UFAM, em Itacoatiara-AM. A partir dos óleos essenciais foram preparadas emulsões, com Tween 80, na proporção de 1:1 e dissolvidas em água destilada para a obtenção de soluções com concentrações de 1 %, 0,1%, 0,01% e 0,001% (v/v).

Foram estabelecidos dois tratamentos controles, um apenas com água destilada e outro contendo uma solução do tensoativo a 1% (v/v), e quatro tratamentos em delineamento inteiramente casualizados, aplicados frente três espécies-teste (alface, tomate e pimenta biquinho), cada tratamento com quatro repetições.

##### 4.5.2 Ensaio Alelopático

As sementes de alface (*Lactuca sativa*), variedade Hanson 029, tomate (*Solanum lycopersicum*), variedade San Marzano 270 e Pimenta biquinho (*Capsicum chinense*) 970 foram adquiridas em comércio local, cada Placa de Petri recebeu 20 sementes. Os bioensaios foram conduzidos em incubadora do tipo B.O.D Microprocessada Biothec -BT 71 /PID com volume interno de 300 litros, controle de temperatura digital PID com sensibilidade de 0,1 °C e exatidão interna de 0,3°C, set point de ajuste de segurança contra resfriamento com desligamento programado e ocorre presença de lâmpadas tipo led branca 6000 k-IP 65 de baixo consumo.

Foram colocadas na tampa e no fundo da placa de Petri duas folhas de papel germitest autoclavadas contendo os tratamentos e foram realizadas avaliações diárias e até que a germinação cessasse (10 dias consecutivos). Os

resultados foram expressos conforme as diretrizes da (RAS): Regras para Análise de Sementes (Brasil.,2009). Considerando sementes germinadas, aquelas que apresentassem a protrusão da radícula de no mínimo 2 mm de comprimento (Miranda et al., 2015).

#### 4.5.3 Análise Estatística

O teste estatístico foi realizado conforme as equações propostas por Labouriau; Valadares., 1976

As variáveis mensuradas foram porcentagem de germinação (%Cv), tempo médio de germinação (TMG), velocidade média de germinação (VG), índice de velocidade de germinação (IVG) e Comprimento Médio Radicular (CRM) calculados pelas seguintes equações a seguir:

**a) Equação 2: Fórmula da Porcentagem de Germinação:**

$$\%G = (N/100) \times 100.$$

**Onde:** N = número de sementes germinadas ao final do teste;  
Unidade: %.

**b) Equação 3: Fórmula do Tempo Médio de Germinação:**

$$TMG = (\sum ni t_i) / \sum ni.$$

**Onde:** ni = número de sementes germinadas por dia;  
ti = tempo de incubação;  
i = 1 → 12 dias;  
Unidade: dias;

**c) Equação 4: Fórmula da Velocidade Média de Germinação:**

$$VG = 1/t$$

**Onde:** t = tempo médio de germinação;  
Unidade: dias-1;

**d) Equação 5: Fórmula do Índice de Velocidade de Germinação:**

$$IVG = \sum (ni / t_i)$$

**Onde:** ni = número de sementes que germinaram no tempo 'i';  
ti = tempo após instalação do teste;  
i = 1 → 12 dias. Unidade: adimensional;

**e) Equação 6: Fórmula do Comprimento Médio Radicular:**

$$CMRP = (\sum c) / n$$

**Onde:** c = comprimento de sementes germinadas;  
n = número de sementes germinadas; Unidade: cm.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, utilizando o programa Sisvar a 5% de probabilidade e os dados quantitativos significativos foram submetidos à análise de regressão para determinação das variáveis analisadas.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Rendimento do óleo essencial

O óleo essencial extraído das folhas de *S. cumini* apresentou-se incolor e com odor forte.

O teor de óleo essencial foi de 0,25% sendo superior aos resultados obtidos por Da Silva et al., (2018) realizado no estado de Goiás que obtiveram o rendimento de 0,03% e Xavier, et al., (2021) no qual apresentou teor de 0,12% ao utilizarem folhas secas coletadas no estado do Paraná e superior aos resultados de Saroj et al., (2015) que ao realizar a extração do óleo essencial obtiveram teor de 0,05 % durante o mês de novembro, e foram próximos aos de Petrachaianan et al., (2019) na província de Nakhon Nayok na Tailândia com teor de 0,24% ao utilizar folhas frescas para a extração do óleo essencial no período do verão.

Desta forma foi possível verificar que as diferenças entre os rendimentos obtidos neste trabalho e os encontrados na literatura podem ser justificados pela localização geográfica da planta e entre outros fatores como: altitude, idade da planta, disponibilidade hídrica (Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Matias et al.,2016).

### 5.2 Composição química

A amostra utilizada foi identificada como AZS-E6 e apresentou em sua composição 79 substâncias que foram detectadas por meio da análise do cromatograma obtido por CG-EM (tabela 1), das quais 47 foram identificadas, correspondendo à um percentual total de 98% de área.

As substâncias majoritárias identificadas na análise química por CG-EM foram: *cis*- $\beta$ -ocimeno (22,4%),  $\beta$ - pineno (8,7%), Limoneno (8,4%),  $\alpha$ -Terpineol (8,0%),  $\alpha$ -pineno (6,2%) e *trans*- cariofileno (6,2%).

**Tabela 1:** Substâncias presentes no óleo essencial de *S. cumini*

Substância	IR*Adams (2017)	IR* AZSE6	Área (%) AZSE6
<b>cis- <math>\beta</math>-ocimeno</b>	<b>1032</b>	<b>1028</b>	<b>22,4</b>
$\alpha$ - fencheno	945	947	0,4
Canfeno	946	949	1,4
<b><math>\beta</math>-pineno</b>	<b>974</b>	<b>979</b>	<b>8,7</b>
Mirceno	988	989	3,92
orto-cimeno	1022	1024	1,76
<b>Limoneno</b>	<b>1024</b>	<b>1029</b>	<b>8,4</b>
<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	<b>932</b>	<b>939</b>	<b>6,2</b>
trans- $\beta$ -ocimeno	1050	1044	1,22
$\alpha$ pineno oxido	1099	1072	0,31
trans-ocimeno	1238	1216	0,33
2,3 epóxi-pineno	1099	1095	0,24
2,7,7 trimetil.			
3-Oxatriciclo (4.1.1.0) (2,4)] octano	1099	1100	0,63
2- Ciclohexiletilacetato	1233	1216	0,36
fenil- $\beta$ -acetato	1232	1218	0,54
allo-ocimeno	1132	1126	0,24
cis-miroxido	1135	1129	0,18
miroxi-do-trans	1145	1142	0,29
trans-pinocarveol	1139	1140	0,11
trans-verbenol	1144	1145	0,14
canfeno hidratado.	1149	1155	0,25
Borneol	1169	1172	0,39
para-cimen-8-ol	1182	1188	0,13
<b><math>\alpha</math>- terpineol</b>	<b>1188</b>	<b>1197</b>	<b>8,0</b>
trans p-menta-2,8-dien-1-ol	1113	1119	0,17
fenchil acetato exo	1232	1217	0,74
trans pinocarveil acetato	1298	1268	0,20
(3 trans) -2-Metil-3,5-hexadien-2-ol	1187	1198	0,32
2-metil-6-hepten-3-ol	1189	1189	0,62
2,6-Dimetil-2,6-octadien-1,8-diol diacetato	1284	1277	0,36
hotrienil acetato	1109	1113	0,25
mirtenil acetato	1290	1294	0,14
cis-verbenol	1141	1148	0,13
Mirtenol	1195	1187	0,15
Benzeno acetaldeído	1185	1189	0,16
ocimenil acetato	1261	1278	0,19
<b>trans-cariofileno</b>	<b>1417</b>	<b>1416</b>	<b>6,2</b>
$\alpha$ - humuleno	1452	1451	3,83
limoneno oxido trans	1142	1140	0,50
4,5-di-epi-Aristolocheno	1471	1468	0,26
cariofilenil álcool	1570	1571	0,83
Epoxicariofileno	1583	1578	6,01
$\beta$ - selineno	1489	1487	0,27
cis-cariofileno	1408	1412	0,37
Humulol	1609	1601	0,46
humuleno epoxido II	1608	1605	2,33
Viridiflorol	1592	1596	0,38

Fonte: O autor (2024)

Xavier *et al.*, (2021) relataram que o óleo essencial das folhas de *S. cumini* era abundante em  $\alpha$ -Pineno (19,56%), trans- $\beta$ -Ocimeno (4,93%), e  $\beta$ -Pineno (2,4%) destes compostos apenas o  $\alpha$ -Pineno foi superior ao deste trabalho de



conclusão de curso e o composto  $\beta$ -pineno apresentou-se majoritariamente na amostra AZSE-6 com valor superior aos dos autores citado anteriormente.

Muhammad *et al.*, (2020) obtiveram como constituintes majoritários do óleo essencial de *S. cumini*:  $\beta$ -farneseno (3,42%), cariofileno (3,46 %), terpinen-4-ol (3,61 %),  $\beta$ -mirceno (3,90 %),  $\gamma$ -cadineno (4,09 %), fenchol (4,22 %), *cis*- $\beta$ -ocimeno (4,40%) e 5-metil-1,3,6-heptatrieno (4,90 %). Desta forma foi possível analisar que o percentual de área do *cis*- $\beta$ -ocimeno obtido no Paquistão foi inferior aos obtidos nesse trabalho de conclusão de curso.

Badawy e Abdelgaleil., (2014) no Egito em seus testes apresentaram como constituintes majoritários do óleo essencial de *S. cumini*:  $\alpha$ -pineno (17,26%),  $\alpha$ -terpineol (13,88%) e  $\beta$ -pineno (11,28%), diferente dos resultados apresentados por Nishandhini *et al.*, (2015) que apresentaram como constituintes majoritários  $\alpha$ -pineno (21.5%), *trans*- $\beta$ -Ocimeno (6.8%) e  $\alpha$ -terpineol (9.5%). Saroj *et al.*, (2015) analisaram no óleo essencial de *S. cumini* a presença dos constituintes:  $\alpha$ -pineno (17,2%),  $\beta$ -pineno (8,6%),  $\beta$ -mirceno (5,4%), limoneno (4,3%), *cis*- $\beta$ -ocimeno (10,9%), *trans*- $\beta$ -ocimeno (9,6%) e o  $\alpha$ -terpineol (3,9%) estes componentes também foram encontrados neste trabalho de conclusão de curso, contudo foram inferiores exceto o composto  $\alpha$ -pineno que apresentou percentual de área de 17,2% no óleo essencial extraído por Saroj *et al.*, (2015).

Sobral e Souza *et al.*, (2014) relatam que o constituinte químico  $\beta$ -pineno (8,26%) foi inferior ao obtido neste trabalho de conclusão de curso, o que permite analisar que fatores como: a época de coleta, localidade geográfica da planta, radiação UV, e entre outros podem ter influenciado diretamente na variação desses constituintes químicos. (Gobbo-Neto & Lopes, 2007 & Matias *et al.*, 2016).

### 5.3 Atividade Alelopática *in silico*

A validação da metodologia *in silico* pôde ser confirmada a partir do cálculo do desvio quadrático médio (RMSD), cuja o valor apresentado foi de 0.36 Å, e função de pontuação ChemScore definindo assim os parâmetros do docking molecular para a proteína selecionada (PDB: 1R7O).

Na tabela 2 são apresentados os valores de pontuação dos ligantes do óleo essencial de *S. cumini* e a interação com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A e do seu ligante original.

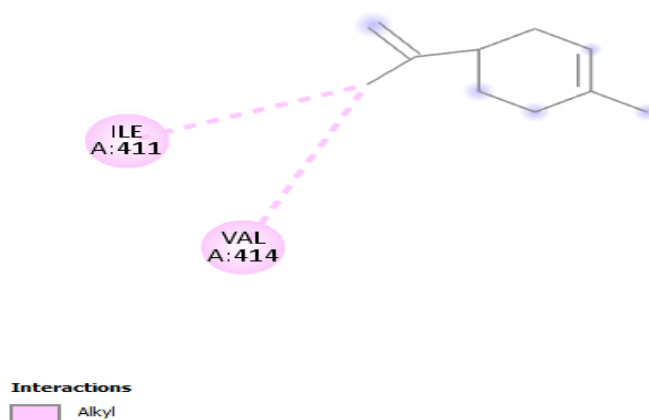
**Tabela 2:** Interação dos compostos majoritários do óleo essencial de *Syzygium cumini* (L.) Skeels por meio do Docking Molecular frente os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.

Ligante	Função de Pontuação	Interações Moleculares
<b>LIG:</b> Ácido-2-N-Morfolino etano sulfônico	35,0966	ALA133; TYR132
<b>SC01:</b> Limoneno	32,8383	ILE411; VAL414
<b>SC02:</b> cis- $\beta$ -ocimeno	34,9803	LYS129; ALA133; TYR132; TYR415
<b>SC03:</b> Alfa-Terpineol	31,6765	ASP197(H); TYR132; TYR415
<b>SC04:</b> $\alpha$ -pineno	25,0435	TYR415; VAL414
<b>SC05:</b> $\beta$ -pineno	25,7665	ILE411; ALA133; VAL414; TYR415
<b>SC06:</b> Trans-cariofileno	33,391	ALA133; TYR415; TYR132

**Fonte:** O autor., (2024)

Apesar dos valores de pontuação dos compostos majoritários do óleo essencial de *S. cumini* (L.) Skeels não serem superiores aos do ligante original é possível observar que três derivados apresentaram valores próximos sendo estes: SC02, SC03 e SC06. A figura 5 apresenta a interação do ligante SC01 com o sítio ativo da enzima Apo mannanase 26 A, apresentando interação com apenas dois aminoácidos do sítio ativo da enzima sendo: ILE 411 e VAL414.

**Figura 5:** Interação do ligante SC01 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.

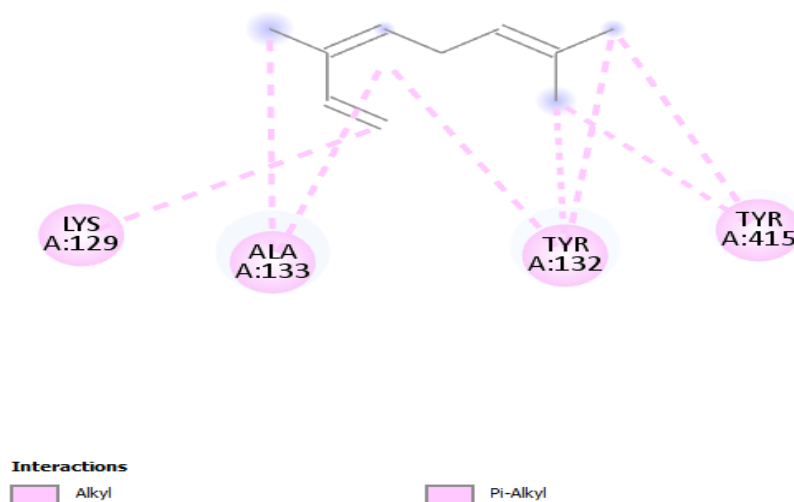


**Fonte:** O autor (2024)

O ligante SC01 é um monoterpene de fórmula molecular C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> muito conhecido por suas propriedades farmacológicas. apresenta interação com apenas dois aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A e esta interação ocorre por meio de interação do tipo alquil onde o carbono (CH<sub>3</sub>) da extremidade próxima da dupla ligação consegue interagir com maior especificidade com os aminoácidos ILE414 e VAL:414 sendo sustentado pela hibridização do tipo (sp<sup>3</sup>) (Cerqueira.,2015).

A figura 6 apresenta a interação do ligante SC02: cis-β-ocimeno com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A. O ligante apresentou interação com os aminoácidos: LYS129; ALA133:TYR132; TYR415.

**Figura 6:** Interação do ligante SC02 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.



**Fonte:** O autor (2024)

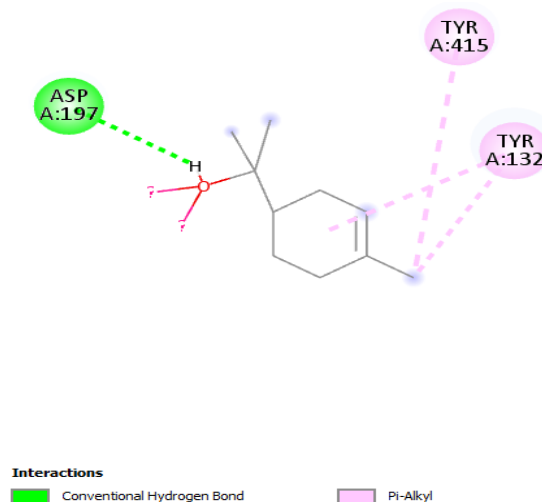
O cis-β-ocimeno em comparação com o ligante original da Apo-mannanase 26 A apresentou interação do tipo alquil e π-alquil com os aminoácidos LYS129: ALA133:TYR132; TYR415, estes tipos de interações moleculares são de especificidade do ligante com o sítio ativo da proteína.

A estrutura do ligante apresenta ligações estimuladas pelos carbonos (CH<sub>3</sub>) existentes nas extremidades com os aminoácidos TYR132, ALA133 e TYR415 favorecidos pela hibridização do tipo sp<sup>3</sup> que permite maior tensão eletrônica e estabilidade molecular, já as duplas ligações do ligante apresentaram afinidade pelos aminoácidos LYS129 e ALA133 sendo estas

sustentadas por meio da hibridização do tipo  $sp^2$  das duplas ligações existentes que conferem estabilidade molecular (Barreiro.,2008; Cerqueira.,2015).

A figura 7 apresenta a interação do ligante SC03 com os aminoácidos do sítio ativo da Apo-mannanase 26 A. O ligante desenhado apresentou as seguintes interações moleculares: ASP197(H); TYR132; TYR415

**Figura 7:** Interação do ligante SC03 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.



**Fonte:** O autor (2024)

O ligante SC03 apresentou uma ligação de Hidrogênio favorecida pela hidroxila do ligante com o aminoácido ASP197 e interação do tipo  $\pi$ -álquil com os aminoácidos TYR132 e TYR415, sendo que o carbono da extremidade (CH3) apresentou maior especificidade com os aminoácidos TYR132 e TYR415 e as dupla ligação apresentou maior afinidade com o aminoácido TYR132, isso pode estar associado à questão da hibridização do tipo  $sp^2$  que confere estabilidade molecular.

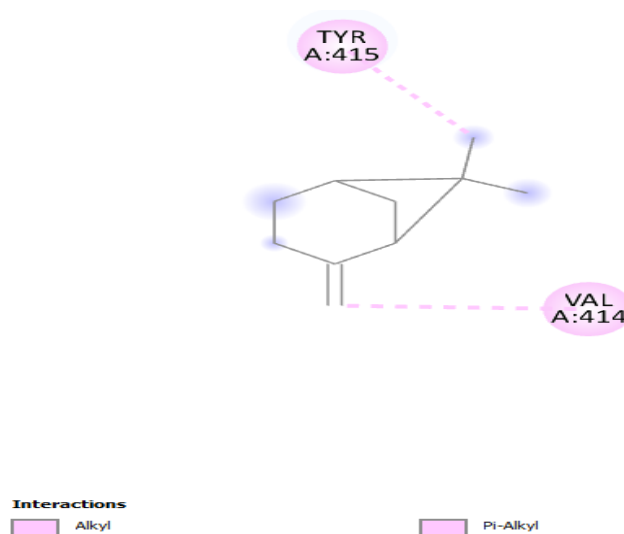
Em termos de docking molecular a estrutura do alfa terpineol é alvo de diversas análises, pois pelo fato de ser um composto aromático, pode participar também do reconhecimento de outros ligantes e de novos receptores através de ligações eletrostáticas de empilhamento (Barreiro.,2008; De, Martino *et al.*,2010).

Em estudos de docking molecular a ligação de hidrogênio é a ligação mais importante pelo fato de estar presente em vários sistemas biológicos e ser essencial para a determinação da estrutura de proteínas e ácidos nucleicos, além de ser um importante determinante de especificidade em catálise

enzimática e transferência de informação biológica, taxa da reação enzimáticas, e entre outras funções (Fersht *et al.*, 1985). As ligações de hidrogênio do alfa terpineol são estáveis e podem ser mediadas entre átomos aceptores e doadores de elétrons para estabilizar sistemas de complexos enzima-ligante, conferindo estabilidade molecular.

A figura 8 apresenta a interação do ligante SC04 com os aminoácidos do sítio ativo da Apo-mannanase 26 A.

**Figura 8:** Interação do ligante SC04 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.



**Fonte:** O autor (2024)

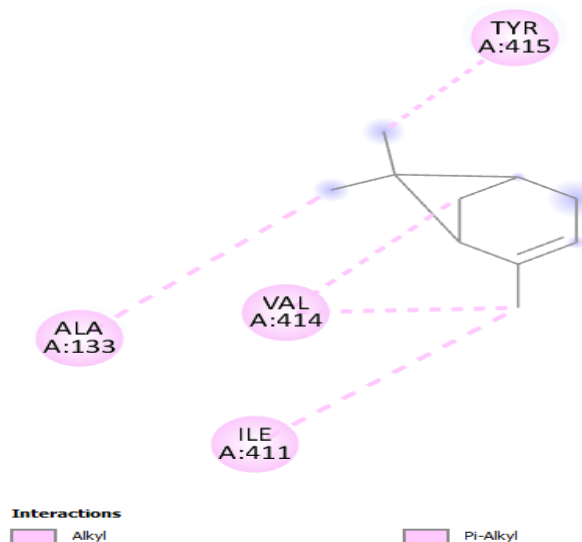
O ligante SC04 apresentou afinidade com os aminoácidos TYR415; VAL414 sendo que a dupla ligação do ligante apresentou maior afinidade com o aminoácido VAL414 e o carbono da extremidade (CH3) apresentou alta especificidade com o aminoácido TYR415 sendo estas ligações favorecidas por interações do tipo alquil e  $\pi$ -alquil sendo estabilizadas pela hibridização do tipo (sp<sup>2</sup>) com a dupla ligação do ligante SC04 e (sp<sup>3</sup>) da extremidade deste ligante (Barreiro.,2008).

O alfa pineno é muito estudado em análises de modelagem molecular pelo fato de ser uma molécula versátil e de fácil interação com alvos terapêuticos. A estrutura do ligante possui tensão molecular estável o que confere acoplamento com sítios específicos de diferentes enzimas. Bonfim de Barros *et al.*, (2023) relataram o potencial biológico e mecanismo de ação do alfa pineno por docking molecular frente *Candida albicans* e a alta toxicidade do composto o que pode

ser um indicativo para que nos testes *in vitro* a atividade alelopática seja evidenciada.

Na figura 9 é possível analisarmos a interação do ligante SC05 com os aminoácidos do sítio ativo da Apo-mannanase 26 A.

**Figura 9:** Interação do ligante SC05 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.



**Fonte:** O autor (2024)

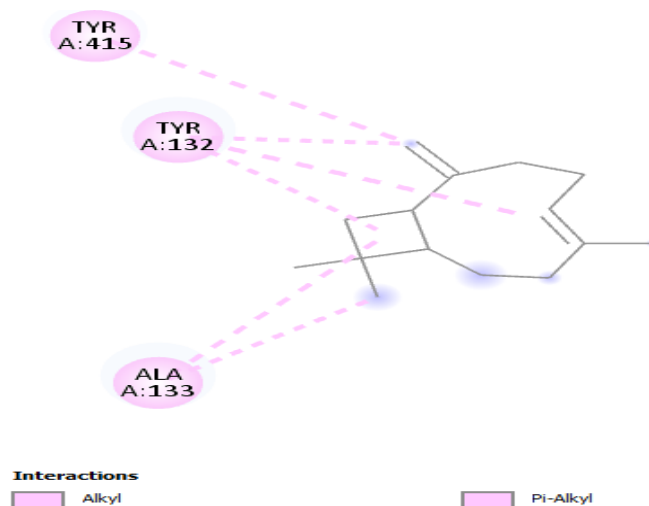
O ligante SC05 apresentou afinidade com os aminoácidos ILE411:ALA133:TYR132; TYR415 sendo estes mantidos por meio de ligações do tipo alquil e  $\pi$ -alquil. No docking é possível notar que os átomos de carbono das extremidades apresentaram interação com os aminoácidos ALA133, TYR415 VAL414 e ILE411 sendo que os aminoácidos do ligante original da enzima são: ALA133; TYR132.

As interações alquil e  $\pi$ -alquil em estudos de docking são eficazes para análise do acoplamento proteína-ligante, assim quando existe a presença de interações deste tipo de ligação é possível afirmar que existe uma interação da nuvem de elétrons pi- sobre um grupo aromático e grupo de elétrons de qualquer grupo alquil que necessita de um doador de estabilidade para o docking molecular (Barreiro.,2008).

Sempre que o ligante interage com a proteína, em nível atômico, são os elétrons que estão sendo envolvidos na formação de ligações covalentes ou não covalentes, isto pode ser aplicado para as ligações alquil e  $\pi$ -alquil (Cerqueira.,2015).

Na figura 10 é apresentada a interação do ligante SC06 os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.

**Figura 10:** Interação do ligante SC06 com os aminoácidos do sítio ativo da enzima Apo-mannanase 26 A.



**Fonte:** O autor (2024)

O ligante SC06 apresenta afinidade com os aminoácidos ALA133; TYR415; TYR132 presentes no sítio ativo da enzima. O ligante desenvolvido apresenta ligações do tipo alquil e  $\pi$ -alquil sendo este um sesquiterpeno, no qual as duplas ligações apresentaram interação com os aminoácidos TYR132 e TYR415 e o ciclobutano da estrutura apresentou especificidade com o aminoácido ALA133 assim como o carbono da extremidade (CH3) apresentou afinidade com o aminoácido ALA133.

#### 5.4 Atividade alelopática *in vitro*

O Bioensaio de germinação *in vitro* foi realizado afim de avaliar o efeito alelopático do óleo essencial de *S. cumini* frente à alface tomate e pimenta-biquinho.

A resistência ou até mesmo a tolerância frente ao uso de aleloquímicos pode variar de uma espécie de planta para outra, por conta disto a escolha das espécies *L. sativa* (alface), *Solanum lycopersicum* (tomate) e *Capsicum chinense* (pimenta biquinho) se deve ao fato de estas serem hortaliças consideradas sensíveis à compostos químicos voláteis como os óleos essenciais e por essa razão são frequentemente empregadas em diversos bioensaios em laboratório. (Alves et al., 2004).

O óleo essencial de *S. cumini* influenciou na Porcentagem de Germinação, no Tempo Médio de Germinação, Velocidade Média de Germinação, no Vigor pelo Índice de velocidade de germinação e Comprimento Médio Radicular das cultivares estudadas. A intensidade destes efeitos variou principalmente em função da concentração avaliada e das variáveis analisadas conforme visto nas tabelas 3,4 e 5 a seguir.

**Tabela 3:** Efeito alelopático do óleo essencial de *S. cumini* sobre sementes de Alface (*Lactuca sativa*).

Tratamentos	Germinação	TMG	IVG	VG	CMR
T0	93,75 a	1,77 a	14,49 c	0,58 b	32,5ad
T1	85 a	3,74 ab	6,85 b	0,11 a	29,7ad
T2	26,25 b	5,02 ab	1,20 a	0,13 a	7,89ac
T3	26,25 b	3,16 ab	2,52 a	0,32 ab	7,42ac
T4	23,75 b	2,57 ab	2,12 a	0,25 ab	6,75ac
T5	11,25 b	5,68 b	0,88 a	0,26 ab	4,89ac
%G	16,74	4,74	2,94	3,76	3,21

Fonte: O autor (2024)

**Legenda:** T0= água, T1= Tween 80+água (Polissorbato), T2=1%, T3=0,1%, T4=0,01%, T5=0,001%. TMG= Tempo médio de germinação, IVG=Índice de velocidade de germinação, VG=velocidade da germinação. %G= porcentagem de germinação. CRM: Comprimento Médio Radicular.

**Tabela 4:** Efeito alelopático do óleo essencial de *S. cumini* sobre sementes de Tomate (*Solanum lycopersicum*)

Tratamentos	Germinação	TMG	IVG	VG	CMR
T0	85,0a	6,47 a	2,71 c	0,15a	29,5ad
T1	86,25a	6,31 a	2,73 b	0,16a	21,7ad
T2	15,00b	5,97 ab	0,52 a	0,16a	4,89ac
T3	23,75 b	5,63ab	0,98 a	0,16a	4,42ac
T4	21,25 b	6,01b	0,79a	0,17a	4,75ac
T5	20,00b	5,98 ab	0,90 a	0,17a	3,89ac
%G	18,72	6,06	2,17	0,32	1,64

Fonte: O autor (2024)

**Legenda:** T0= água, T1= Tween 80+água (Polissorbato), T2=1%, T3=0,1%, T4=0,01%, T5=0,001%. TMG= Tempo médio de germinação, IVG=Índice de velocidade de germinação, VG=velocidade da germinação. %G= porcentagem de germinação. CRM: Comprimento Médio Radicular.



**Tabela 5:** Efeito alelopático do óleo essencial de *S. cumini* sobre sementes de Pimenta biquinho *Capsicum chinense*

Tratamentos	Germinação	TMG	IVG	VG	CMR
T0	75,0a	8,15ab	1,88 b	0,12a	24,5ad
T1	76,25a	7,33 ab	1,85 b	0,13a	22,7ad
T2	26,25b	7,16 ab	0,65 a	0,14a	5,89ac
T3	30,00b	7,09 ab	0,74 a	0,14a	4,72ac
T4	23 ,75 b	9,14 b	0,59 a	0,11a	4,95ac
T5	20,00b	8,46 ab	0,43 a	0,11a	5,89ac
%(G)	42,08	7,89	1,47	0,98	5,12

**Fonte:** O autor (2024)

**Legenda:** T0= água, T1= Tween 80+água (Polissorbato), T2=1%, T3=0,1%, T4=0,01%, T5=0,001%. TMG= Tempo médio de germinação, IVG=Índice de velocidade de germinação, VG=velocidade da germinação. %G= porcentagem de germinação. CRM: Comprimento Médio Radicular.

Os tratamentos controle (H<sub>2</sub>O e Tween 1%) não inibiram a germinação das sementes de alface, tomate e pimenta biquinho. Contudo, quando estas foram submetidas à concentração de 1% de óleo essencial de *S. cumini* em todos os testes a germinação foi afetada pelo fato de se apresentarem sensíveis aos tratamentos contendo o óleo essencial.

No teste de 1% no tratamento para a alface o óleo essencial promoveu uma redução de aproximadamente 83% na porcentagem de germinação e tal redução também foi observada frente à germinação de sementes de tomate que foi de 81%, e a de pimenta biquinho que foi de 58% podendo afirmar que em todas as concentrações o óleo essencial reduziu a porcentagem de germinação das sementes. Além disto tais concentrações não diferiram estatisticamente entre si.

O tempo médio germinação (TMG) corresponde ao tempo nos quais as sementes levaram para germinar em função das concentrações dos óleos essenciais aos quais foram expostas. Neste sentido é possível afirmar que todos os tratamentos contendo o óleo essencial para a alface apresentaram-se estatisticamente significativos entre si. A concentração de 0,001% apresentou maior tempo médio de germinação devido ao fato de o óleo essencial estar em menor quantidade na solução. O tempo médio da germinação não foi afetado nos ensaios para as sementes de tomate, diferindo apenas no teste para pimenta

biquinho onde o tratamento à 0,01% diferiu parcialmente das outras já analisadas.

A velocidade média de germinação (VG) das sementes também foi avaliada e esta análise trata-se de um parâmetro inversamente proporcional ao tempo médio de germinação. Neste sentido foi possível analisar que para as sementes de alface, tomate e pimenta biquinho os tratamentos contendo o óleo essencial reduziu drasticamente a velocidade média de germinação para aproximadamente metade dos valores observados nos tratamentos utilizados no experimento.

O vigor das sementes foi determinado por meio do índice de velocidade de germinação (IVG). A redução no valor dessa variável em relação às testemunhas indica menor vigor das sementes. Dessa forma, os tratamentos com o óleo essencial em todas as concentrações testadas reduziram significativamente o vigor das sementes de alface sendo as concentrações 1%, 0,1% e 0,01% as que se apresentaram eficazes frente a redução do (IVG). O mesmo também foi observado frente as sementes de tomate no qual ocorreu uma redução do (IVG) frente aos tratamentos de 1%, 0,1%, 0,01% e 0,001%. No bioensaio para as sementes de pimenta biquinho foi observada uma redução no (IVG) frente aos tratamentos 1% e 0,1 %. Isto pode ser explicado pelo fato de a pimenta biquinho ser considerada uma semente de alta sensibilidade frente aos óleos essenciais e ser constituída majoritariamente por compostos como a capsaicina que pode competir frente os terpenos contra a atividade destes compostos químicos.

Alves et al., (2004) analisaram o efeito do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L sobre a germinação das sementes de alface e a inibição ocorreu com a concentração de 1,0%, diferente do resultado obtido para o óleo essencial de *S. cumini*, que inibiu a germinação das sementes em mais de 70% em todas as concentrações analisadas.

A atividade do óleo essencial de *S. cumini* foi superior aos resultados obtidos por Garbim et al., (2015) que ao utilizarem o óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) apresentou germinação inibida na concentração de 0,3% enquanto que neste projeto na concentração de 0,1% houve uma elevada inibição na germinação das sementes de alface.

Almeida *et al.*, (2019) analisaram a influência do óleo essencial das folhas de *Psidium guajava* sobre o IVG do tomateiro e o percentual de germinação (%) os quais foram atrasados a partir da concentração de 0,75% diferente dos resultados apresentados nesse trabalho onde o óleo essencial de *S. cumini* reduziu a velocidade de germinação e o percentual de germinação partir da concentração de 1%.

A inibição de germinação das sementes pelos óleos essenciais pode estar associada à presença dos terpenoides, visto que eles podem alterar o processo de permeabilidade da membrana celular o que confere uma redução da atividade enzimática e tende a interferir nos processos de transcrição de DNA e tradução de RNA e acaba prejudicando a germinação de sementes e no crescimento de plântulas (El-Shora; Abd El-Gawad *et al.*, 2014; Marco *et al.*,2012).

Miranda *et al.*, (2014) constatou-se que os óleos essenciais possuem classes de substâncias com potencial alelopático dentre estes: Os monoterpenos, capazes de realizar modificações morfológicas e fisiológicas tais como a inibição da cadeia respiratória nas mitocôndrias diminuindo o processo de produção de energia, inibição da mitose impedido a duplicação de células, peroxidação lipídica, danos à estrutura dos microtúbulos, alterações na integridade das membranas das células, deterioração das ceras cuticulares.

O processo de interferência na respiração celular causada pelos óleos essenciais reduz altamente a atividade fotossintética e permite a inibição do crescimento radicular e conseqüentemente a germinação das sementes (Batish *et al.*, 2004). Diferentes monoterpenos já foram descritos na literatura sendo apontados como agentes aleloquímicos dentre os quais também foram identificados no óleo essencial de *S. cumini*: limoneno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno (Ismail *et al.*, 2013),  $\alpha$ -terpineol (De, Martino *et al.*,2010).

De acordo com Saharkhiz *et al.*, (2010). a atividade de inibição alelopática frequentemente é caracterizada por ser uma consequência do efeito de um conjunto de aleloquímicos em sinergismo com alvos terapêuticos. Sendo assim, a bioatividade dos óleos essenciais de *S. cumini* sobre as sementes de alface, tomate e pimenta biquinho pode ser resultado do sinergismo entre os seus constituintes, incluindo as classes químicas identificadas, em especial a dos terpenóides.

## 6. CONCLUSÃO

O rendimento do óleo essencial extraído das folhas de *S. cumini* foi de 0,25%.

Os compostos majoritários do óleo essencial de folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels foram: cis- $\beta$ -ocimeno (22,4%),  $\beta$ -pineno (8,7%), limoneno (8,4%),  $\alpha$ -Terpineol (8,0%),  $\alpha$ -pineno (6,2%), trans-cariofileno (6,2%).

O teste de atividade alelopática *in silico* pôde ser confirmado por meio do cálculo do desvio quadrático médio (RMSD), cuja o valor apresentado foi de 0.36Å e função de pontuação ChemScore onde três ligantes se destacaram: SC02, SC03 e SC06 pelo fato de apresentarem ligações químicas como de hidrogênio com o sítio ativo da proteína investigada.

Quanto aos ligantes do teste *in silico* o ligante SC03 apresentou uma ligação de hidrogênios aconselha-se que estudos de modificação molecular sejam realizados visando estudar novos alvos terapêuticos e investigar o mecanismo de ação deste ligante para a atividade alelopática usando outras enzimas do processo de germinação.

Os óleos essenciais inibiram a germinação das sementes de alface, tomate e pimenta biquinho, além de ocasionarem o retardo no tempo de germinação e comprometerem o vigor das sementes.

A atividade alelopática pode ser devido à presença dos terpenos do óleo essencial de *Syzygium cumini*.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 2nd ed. **Allured Publ.**, Carol Stream, IL. 2007.
- ALMEIDA, L.; TEIXEIRA, M. C. S. A.; LEMOS, J. R.; LACERDA, M. N.; SILVA, T. C. Bioatividade de óleos essenciais na germinação e no vigor em sementes de tomate. **Biotemas**. v. 32, n. 2, p. 13-21, 2019.
- ALMEIDA-BEZERRA, J. W.; VIANA, J. W. M.; SILVA, V. B.; COSTA, A. R.; COSTA, M. H. N.; SANTOS, M. A. F.; MACEDO, G. F.; LIMA, E. E.; TORQUATO, I. H. S.; RODRIGUES, J. L. G. Alelopatia? Não sei! Nunca Vi! Eu só ouço falar! **Research, Society and Development**, v. 9, n. 12, 2020.
- ALVES, M. C. S.; MEDEIROS FILHO, S.; INNECCO, R.; TORRES, S. B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1083-1086, 2004.
- ANDRICOPULO, A. D.; SALUM, L. B.; ABRAHAM, D. J. Structure-based drug design strategies in medicinal chemistry. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 9, p. 771-790, 2009.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update 4. of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.161, n. 2, p. 105-21, out. 2009.
- AYYANAR, M.; SUBASH-BABU, P. Syzygium cumini (L.) Skeels: a review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pac J Trop Biomed.**, v. 2, p. 240-246, 2012.
- BADAWY, E.I.; ABDELGALEIL, S.A.M. Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. **Industrial Crops and Products.**, v.52, p.776– 782, 2014.
- BALBINOTT, Natalia et al. Perspectives in Myrtaceae evolution from plastomes and nuclear phylogenies. **Genetics and Molecular Biology**, v. 45, p. e20210191, 2022.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos**. 2 ed, Artmed. São Paulo, 2008.
- BASTING RT, NISHIJIMA CM, LOPES JA, SANTOS RC, PÉRICO LL, LAUFER S, Antinociceptive, anti-inflammatory and gastroprotective effects of a hydroalcoholic extract from the leaves of *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**. v.157p. 257-67 2014.
- BATISH, D. R.; SETIA, N.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K. Phytotoxicity of Lemonscented eucalypt oil and its potential use as a bioherbicide. **Crop Protection**, v. 23, p. 1209–1214, 2004.

BATISTA, A.G.; SILVA, J.K.; CAZARIN, C.B.B.; BIASOTO, A.C.T.; SAWAYA, A.C.H.F.; PRADO, M.A.; MARÓSTICA-JÚNIOR, M.R. Red-jambo (*Syzygium malaccense*): Bioactive compound in fruits and leaves. **LWT- Food Science and Technology**. v. 76, p.1-8, 2016.

BATOOL, MARIA; AHMAD, BILAL; CHOI, SANGDUN. A structure-based drug discovery para digm. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 11, p. 2783, 2019.

BFG - THE BRAZIL FLORA GROUP (2015) **Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil**. *Rodriguésia* v.66, p.1085-1113.

BOLAM, D. N., HUGHES, N., VIRDEN, R., LAKEY, J. H., HAZLEWOOD, G. P., HENRISSAT, B., AND GILBERT, H. J. **Biochemistry** v. 35, p.16195–16204. 1996.

BOMFIM DE BARROS D, DE OLIVEIRA E LIMA L, ALVES DA SILVA L, CAVALCANTE FONSECA M, FERREIRA RC, DINIZ NETO H, DA NÓBREGA ALVES D, DA SILVA ROCHA WP, SCOTTI L, DE OLIVEIRA LIMA E, VIEIRA SOBRAL M, CANÇADO CASTELLANO LR, MOURA-MENDES J, QUEIROGA SARMENTO GUERRA F, DA SILVA MV.  $\alpha$ -Pinene: Docking Study, Cytotoxicity, Mechanism of Action, and Anti-Biofilm Effect against *Candida albicans*. **Antibiotics** v.12, p.480 2023

BRAGA, R.C.; ALVES, V.M.; SILVA, M.F.B.; MURATOV, E.; FOURCHES, D.; LIAO, L.M.; TROPSHA, A.; ANDRADE, C.H. Pred-hERG: A novel web-accessible computational tool for predicting cardiac toxicity. **Mol. Inf.** v.34, p. 698-701, 2015.

BRAGA, R. C.; ALVES, V. M.; MURATOV, E. N.; STRICKLAND, J. KLEINSTREUER, N.; TROPSHA, A.; ANDRADE, C. H. J. Pred-Skin: A Fast and Reliable Web Application to Assess Skin Sensitization Effect of Chemicals. **Chem. Inf. Model.** v. 57, n. 5, p. 1013–1017, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Alimentos Regionais Brasileiros**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde. 486 p, 2015.

CAMACHO-ROMERO, O.I, MELGAREJO-GÓMEZ, S. DE-LA-ROSA-TORRES, C. Extracción y evaluación de los metabolitos secundarios de extractos etéreos del fruto *Syzygium cumini* (Jambol). **Tecnologia em Marcha**. v.30, n. 1, p. 113-120, 2017.

CARTAXO-FURTADO, N.A.D.E.O.; SAMPAIO, T.O.; XAVIER, M.A.; MEDEIROS, A.D.D.E.; PEREIRA, J.V. Perfil fitoquímico e determinação da atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) frente a microrganismos bucais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 17, 4, 1091-1096, 2015.

CERQUEIRA NM, GESTO D, OLIVEIRA EF, SANTOS-MARTINS D, BRÁS NF, SOUSA SF, FERNANDES PA, RAMOS MJ. Receptor-based virtual screening protocol for drug discovery. **Arch Biochem Biophys**. v.15 n.582 p. 56-67. 2015.

CHELLAPPANDIAN M, VASANTHA-SRINIVASAN P, SENTHIL-NATHAN S, KARTHI S, THANIGAIVEL A, PONSANKAR A, KALAIVANI K, HUNTER WB. Botanical essential oils and uses as mosquitocides and repellents against dengue. **Environ Int**. v. 113, p. 214-230. 2018.

DA SILVA, V. P., ALVES, C. C. F., MIRANDA, M. L. D., BRETANHA, L. C., BALLESTE, M. P., MICKE, G. A. EGEEA, M. B. Chemical composition and in vitro leishmanicidal, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of the Myrtaceae family occurring in the Cerrado biome. **Industrial Crops and Products**, v.123, p. 638–645.2018.

DAY M., WITT A., WINSTON R. Controle biológico de ervas daninhas em países de baixa e média renda. *Curr. Opinião. Inseto Sci*. v.38, p.92-98, 2020.

DE MARTINO L., MANCINI E., ALMEIDA L.F.R., DE FEO V. The antigerminative activity of twenty-seven monoterpenes. **Molecules**. vol. 15, p.6630-6637.2010.

EL-SHORA, H. M.; ABD EL-GAWAD, A. M Evaluation of Allelopathic Potential of Rumex dentatus Root Extract and Allelochemicals on Cicer arietinum. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 10, p. 167-180, 2014.

FERSHT, A., SHI, JP., KNILL-JONES, J. Hydrogen bonding and biological specificity analysed by protein engineering. **Nature** v.314, p.235–238, 1985.

FRANCO CJP, FERREIRA OO, ANTÔNIO BARBOSA DE MORAES Â, VARELA ELP, NASCIMENTO LDD, PERCÁRIO S, DE OLIVEIRA MS, ANDRADE EHA. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from eugenia patrisii vahl, e. Punicifolia (kunth) dc., and myrcia tomentosa (aubl.) dc., leaf of family myrtaceae. **Molecules**, v. 26, n. 11, p. 3292, 2021.

GARBIM, T. H. S.; ROMANO, E. D. B.; CARNEIRO, S. M. T. P. G.; SOUZA, M. L. V. Efeito do óleo essencial de eucalipto sobre a germinação e o crescimento de rabanete e alface. **Revista Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v. 10, n. 1, p. 52-58, 2015

GOBBO-NETO L.; LOPES, P. N. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**. v. 30, n. 2. 2007.

GRAEBER, K.; NAKABAYASHI, K.; LEUBNER-METZGER, G. Development of Dormancy. p. 483–489. In: THOMAS, B.; MURRAY, B. G.; MURPHY, D. J. **Encyclopedia of Applied Plant Sciences**, 2a ed., v. 1, ISBN: 978-0-12-394808-3, 2017.

HOGG, D., WOO, E.-J., BOLAM, D. N., MCKIE, V. A., GILBERT, H. J., & PICKERSGILL, R. W. (2001). Crystal Structure of Mannanase 26A from Pseudomonas cellulosa and Analysis of Residues Involved in Substrate Binding. **Journal of Biological Chemistry**, v.276, n33, p. 31186–31192.

IQBAL J, RAUF HA, SHAH AN, SHAHZAD B, BUKHARI MA. Allelopathic Effects Of Rose Wood, Guava, Eucalyptus, Sacred Fig And Jaman Leaf Litter On Growth And Yield Of Wheat *Triticum aestivum* L. IN A WHEAT-BASED AGROFORESTRY SYSTEM. **Planta daninha** v.35, p: 1-10

ISMAIL, A.; LAMIA, H.; MOHSEN, H.; BASSEM, J. Reviews on Phytotoxic Effects of Essential Oils and Their Individual Components: News Approach for Weeds Management. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 4, n. 1, p. 96-114, 2013.

LABOURIAU, L. G.; VALADARES, M. E. B. On the germination of seeds *Calatropis procera* (Ait.). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.48, n.2, p.263-284, 1976.

LATIF, S.; CHIAPUSIO, G.; WESTON, L. A. Allelopathy and the Role of Allelochemicals in Plant Defence. **Advances in Botanical Research**, v. 82, p. 19-54, 2017.

MANAHARAN, T.; APPLETON, D. CHENG, H.M.; PALANISAMY, U.D. Flavonoids isolated from *Syzygium aqueum* leaf extract as potential antihyperglycaemic agents. **Food Chemistry**, v.132, p.1802–1807, 2012.

MARCO, C. A.; TEIXEIRA, E.; SIMPLÍCIO, A.; OLIVERIRA, C.; COSTA, J.; FEITOSA, J. Composição química e atividade alelopática do óleo essencial de *Lippia sidoides* cham. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, p. 157-160, 2012.

MARISELVAM, R., RANJITSINGH, A.J.A., MOSAE SELVAKUMAR. Eco friendly natural dyes from *Syzygium cumini* (L) (Jambolan) fruit seed endosperm and to preparation of antimicrobial fabric and their washing properties. **Fibers Polym** 18, 460–464 (2017).

MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; SILVA, A. S. L. DA; FERNANDES, M. M.; MARGALHO, L. F. **Noções morfológicas e taxonômicas para identificação botânica**. Embrapa Amazônia Oriental, 2014.

MATIAS, E. F.; ALVES, E. F.; SILVA, M. K.; CARVALHO, V. R.; FIGUEREDO, F. G.; FERREIRA, J. V.; COUTINHO, H. D. M.; SILVA, J. M. F. L.; FILHO, J. R.; COSTA, J. G. Seasonal variation, chemical composition and biological activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC (Boraginaceae) and the sabinene. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 45-53, 2016.

MELO, S. C.; SÁ, L. E. C.; OLIVEIRA, H. L. M.; TRETTEL, J. R.; SILVA, P. S.; GONÇALVES, J. E.; GAZIM, Z. C.; MAGALHÃES, H. M. Chemical constitution and allelopathic effects of *Curcuma zedoaria* essential oil on lettuce achenes and tomato seeds. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 7, p. 906-916, 2017.



MELO, P.R.R.; ARAÚJO, E.R.S; SILVA, A.A.L; RANDAU, K.P.; XIMENES, E.C.A. Características farmacobotânicas, químicas e biológicas de *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & M. **Revista Brasileira de Farmacognosia.**, v. 9, n.4, p.298-302, 2009.

MENG, X.-Y. et al. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. **Current Computer-Aided Drug Design**, v. 7, n. 2, p. 146–157, 2011.

MIGLIATO KF, BABY AR, ZAGUE V, VELASCO MVR, CORRÊA MA, Sacramento LVS et al. **Acta Farm Bonaerense.**v.25, p.310-4,2006.

MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. G.; CARVALHO, M. L. M.; FIGUEIREDO, A. C.S.; NELSON, D. L. N.; OLIVEIRA, C. M.; GOMES, M. S.; ANDRADE, J.; SOUZA, J. A.; ALBUQUERQUE, L. R. M. Chemical composition and allelopathic activity of *Parthenium hysterophorus* and *Ambrosia polystachya* weeds essential oils. **American Journal of Plant Sciences**, Irvine, v. 5, n. 9, p. 1248-1257, 2014.

MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. G.; CARVALHO, M. L. M.; MACHADO, S. M. F.; GOMES, M. S.; SANTIAGO, J. A.; TEIXEIRA, M. L. Atividade alelopática de óleos essenciais de plantas medicinais na germinação e vigor de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 1783- 1797, 2015.

MOURA, G. S.; JARDINETTI, V. A.; NOCCHI, P. T. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; FRANZENER, G. Potencial alelopático do óleo essencial de plantas medicinais sobre a germinação e desenvolvimento inicial de picão-preto e pimentão. **Revista Ensaios e Ciência**, v. 17, n. 2, 2013.

MUHAMMAD, U.H, ABDULLAH.I.H. NOSHEEN.A.; GHULAM, M.K. SHAHZAD.A.S.C. SHABNAM S.; MUHAMMAD.K, RIAZ.H. Chemical Composition and Bioactivities of Essential Oil from Leaves Of *Syzygium cumini* (L.) Skeels Native to Punjab, Pakistan. **Chemistry and Biodiversity** 2020, vol.17 p.2-6.

NACATA, GUILHERME. **Jambeiro: propagação, aspectos morfológicos e caracterização.** Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017.

NARANJO-MONTOYA OA, MARTINS LM, SILVA-FILHO LC DA, BATAGINETO A, LAVARDA FC. The Correlation Between Electronic Structure and Antimalarial Activity of Tetrahydropyridines. **J Braz Chem Soc** v.26, n 2, p.255-65,2015.

NATU KN; TAKE PA. **J Essent Oil Res.** v.31, n5, p.347-60, 2019.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v.27, n83, p.770-803, 2020.

NISHANDHINI, S.; SUDHA, V.; MALLAVARAPU, G.R.; MURUGAN, R. Chemical compositions,  $\alpha$ -amylase inhibitory and antioxidant activities of the essential oils from unripe fruit pulp and leaves of *Syzygium cumini*. **International Journal of Pharmaceutics** v.7, p-511-514, 2015.

OLANDA, C. G. **Modelagem molecular de novos compostos derivados da ribavirina como candidatos a fármacos para o controle da dengue**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 59. 2016.

PAGADALA, N. S.; SYED, K.; TUSZYNSKI, J. Software for molecular docking: a review. **Biophysical Reviews**, v. 9, n. 2, p. 91–102, 2017.

PAOLI, S.; GIANI, T.S.; PRESTA, G. A; PEREIRA, M.O. FONSECA, A.S.; BRANDÃO NETO, J.; MEDEIROS, A.C.; SANTOS-FILHO, S.D. BERNARDO-FILHO, M. Effects of clove (*Caryophyllus aromaticus* L.) on the Labeling of blood constituents with technetium and on the morphology of red blood cells. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, p.175-82, 2007.

PAVELA R, BENELLI G. **Trends Plant Sci.** v 21, n.12, p.1000-7. 2016

PETRACHAIANAN, TIPSARA; CHAIYASIRISUWAN, SARAN; ATHIKOMKULCHAI, SIRIVAN; SAREEDENCHAI, VIPAPORN From Thai **Journal of Pharmaceutical Sciences** v 43, n 1, p.63-68, 2019.

PINHEIRO, PRICILA NASS; HORNES, MARCIO OLIVEIRA. Caracterização físico-química e sensorial de fermentado de jambolão (*Syzygium cumini*) produzido a partir do mosto da maceração da polpa e por extração a vapor. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 15, n. 2, 2021.

PIRES, D.E.; BLUNDELL, T.L.; ASCHER, D.B. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. **J. Med. Chem.** v. 58, p. 4066–4072. 2015.

RADHAKRISHNAN R., ALQARAWI AA, ABDALLAH EF Bioherbicidas: Conhecimento atual sobre mecanismo de controle de ervas daninhas. **Ecotoxicol. Meio Ambiente. Seguro.** v.158, p. 131–138.2018

RIM, K. T. In silico prediction of toxicity and its applications for chemicals at work [published online ahead of print. **Toxicol Environ Health Sci**, v.12, n.3, p.191-202,2020.

SÁNCHEZ-CHÁVEZ, E.; ZAMUDIO, S. **Flora del bajío y de regiones adyacentes: Myrtaceae**. Fascículo 197, Instituto de Ecología A.C., Centro Regional del Bajío, México, 2017.

SANTOS, M. F., FERNANDES FILHO, D. P., BLANCO, L. E. R. M., COSTA, F. N. DA, & CAPIBARIBE, V. C. C. (2023). Estudo Químico E Atividade Antidiabética De Plantas Do Gênero *Syzygium*: Uma Revisão De Literatura. **Revista Ibero-Americana De Humanidades, Ciências E Educação**, v.1, n.1, p.290–303.

SAHARKHIZ, M.J., ESMAEILI, S. AND MERIKHI, M. Essential oil analysis and phytotoxic activity of two ecotypes of *Zataria multiflora* Boiss. growing in Iran. **Natural Product Research**, v. 24, n. 17, p. 1598-1609, 2010.

SAROJ, A., PRAGADHEESH, V. S., PALANIVELU, YADAV, A., SINGH, S. C. SAMAD, A., NEGI, A. S., CHANOTIVA, C. S. Anti-phytopathogenic activity of *Syzygium cumini* essential oil, hydrocarbon fractions and its novel constituents. **Industrial Crops and Products**. v.74, p.327–335. 2015.

SIMÕES, C. M. O. SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 486 p. 2017

SOUZA, V. G. L.; RODRIGUES, C.; FERREIRA, L.; PIRES, J. R. A.; DUARTE, M. P.; COELHO, I.; FERNANDO, A. L. In vitro bioactivity of novel chitosan bionanocomposites incorporated with different essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 140, p. 1115-63, 2019.

TARIQ S, WANI S, RASOOL W, SHAFI K, BHAT MA, PRABHAKAR A et al. **Microb Pathogenesis**.2019;134:1-20.

VERDONK, M. L. et al. **Improved Protein–Ligand Docking Using GOLD**. v. 52, p. 609– 623, 2003.

XAVIER, D.L.; BINHARA, D.C.R.; FERREIRA. D.F.; Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Syzygium Cumini*. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v.7, n.5, p. 52380-52390. 2021.

WANG Y, LIU W, DONG B, WANG D, NIAN Y, ZHOU H. Isolation and Identification of Herbicidal Active Compounds from *Brassica oleracea* L. and Exploration of the Binding. Sites of Brassicanate A Sulfoxide. v.7, n.13, p-2576. **Plants**. 2023.

WILLIS, R. J. What is Allelopathy. Cap 1, p. 1-13. In: WILLIS, R. J. **The History of Allelopathy**, 1a ed., Springer, Dordrecht, ISBN: 978-1-4020-4092-4, 2007.