



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
APLICADAS A PRODUTOS PARA SAÚDE**

DANIELLE COELHO DA CRUZ

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES
TÓXICA, CITOTÓXICA E ANTIBACTERIANA DE *Tibouchina*
papyrus (POHL) TOLEDO (MELASTOMATACEAE)**

**Anápolis
2022**

DANIELLE COELHO DA CRUZ

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES
TÓXICA, CITOTÓXICA E ANTIBACTERIANA DE *Tibouchina*
papyrus (POHL) TOLEDO (MELASTOMATACEAE)**

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências Aplicadas a
Produtos para Saúde da
Universidade Estadual de Goiás
para obtenção do Título de Mestre
em Ciências Aplicadas a Produtos
para Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos
Severo Menezes

**Anápolis
2022**

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

- C
D185p Coelho da Cruz, Danielle
Prospecção fitoquímica, avaliação das atividades
tóxica, citotóxica e antibacteriana de *Tibouchina
papyrus* (Pohl) Toledo (Melastomataceae) / Danielle
Coelho da Cruz; orientador Antônio Carlos Severo
Menezes. -- Anápolis, 2022.
149 p.
- Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
Mestrado Acadêmico em Ciências Aplicadas a Produtos
para Saúde) -- Câmpus Central - Sede: Anápolis - CET,
Universidade Estadual de Goiás, 2022.
1. Avaliação da atividade tóxica. 2. Avaliação da
atividade citotóxica. 3. Avaliação da atividade
antibacteriana. 4. Prospecção fitoquímica . 5. Estudo
da espécie *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo
(Melastomataceae). I. Carlos Severo Menezes, Antônio ,
orient. II. Título.



Centro
Análise de Ciências
Exatas e Tecnológicas
Henrique Santillo



Universidade
Estadual de Goiás



ESTADO
DE GOIÁS

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL (BDTD)

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Estadual de Goiás a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UEG), regulamentada pela Resolução, CsA n.1087/2019 sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

Dados do autor (a)

Nome Completo Danielle Colho da Cruz

E-mail colhoda Cruz 2012@hotmail.com

Dados do trabalho

Título Prospecção fitoquímica, avaliação das atividades tóxica, citotóxica e antibacteriana de *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (Melastomataceae).

Tipo

() Tese (X) Dissertação

Curso/Programa Ciências Aplicadas e Produtos para Saúde

Concorda com a liberação documento [X] SIM

[] NÃO¹

Corumbápolis 15/07/22
Local Data

Danielle Colho da Cruz
Assinatura do autor (a)

Antônio S. M. Cruz
Assinatura do orientador (a)

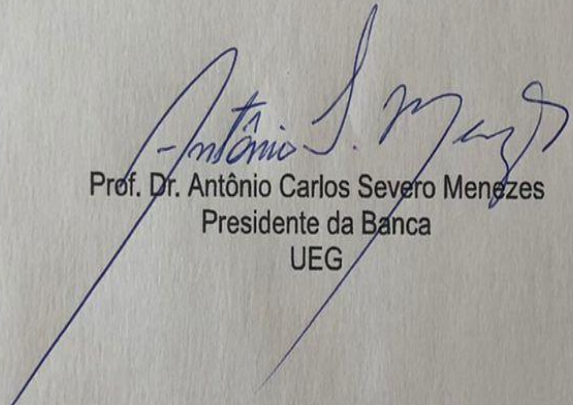
¹ Casos de impedimento:

- Período de embargo é de um ano a partir da data de defesa
- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Danielle Coelho da Cruz

**"Prospecção fitoquímica, avaliação das atividades tóxica, citotóxica e antibacteriana de
Tibouchina papyrus (Pohl) Toledo (Metastomataceae)"**

Dissertação defendida no Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde da Universidade Estadual de Goiás, para a obtenção do título de Mestre, aprovada em 21 de junho de 2022, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



Prof. Dr. Antônio Carlos Severo Menezes
Presidente da Banca
UEG

Gracielle Oliveira Sabbag Cunha
Profa. Dra. Gracielle Oliveira Sabbag Cunha
Membro externo
IFG

Luciana Machado Ramos
Profa. Dra. Luciana Machado Ramos
Membro externo
UEG

***À minha família e às mães que se
dedicam à pesquisa.***

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me permitir concluir meu sonho e voltar todos os dias em segurança para casa.

Aos meus filhos, pela paciência e por suportar minha ausência em diversos momentos.

Ao meu orientador, Dr. Antônio Carlos Severo Menezes pela confiança depositada, também por todo suporte dado para desenvolver a pesquisa, ensinamentos compartilhados, compreensão... o senhor foi o “sim” que permitiu que tudo começasse.

À professora doutora Gracielle Sabbag, por sua amizade, paciência, colaboração e liderança. Obrigada por estar presente em todas as etapas dessa pesquisa!

Ao Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará (UFC), na pessoa do Prof. Dr. Manoel Odorico e à MSc. Celina de Jesus Guimarães, pela realização dos ensaios de citotoxicidade in vitro, colaborando com essa pesquisa.

Ao Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Instituto de Química (IQ) da Universidade Federal de Goiás (UFG).

À Amanda dos Reis, pela amizade e parceria, obrigada por compartilhar sua experiência e estar em todas as etapas desse trabalho colaborando e ampliando a compreensão interdisciplinar do estudo.

A Adamiane Schwaickardt e Amanda Schmaltz, pela amizade, companheirismo e conhecimentos compartilhados.

Ao Osvaldo, pela amizade, colaboração e conhecimentos compartilhados.

À Leila, nossa ex-secretária do PPG CAPS, que me acolheu tão bem quando no meu ingresso ao programa e sempre foi luz em minha vida.

À minha mãe, Dona Valéria, que zelou dos meus filhos, orou por mim e me permitiu realizar meu sonho, e em todos os momentos de dificuldades nunca me deixou desistir.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE ANEXOS	XIV
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS	XV
RESUMO	XVIII
ABSTRACT	XX
1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1 O CERRADO E SUA UTILIZAÇÃO NA MEDICINA POPULAR	23
2.2 A FAMÍLIA MELASTOMATACEAE	23
2.3 ESTUDOS FITOQUÍMICOS E DE (BIO)ATIVIDADE DO GÊNERO <i>TIBOUCHINA</i>	24
2.4 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE <i>TIBOUCHINA PAPYRUS</i>	53
2.5 TRIAGEM DE TOXICIDADE EM EXTRATOS DE PLANTAS	56
2.6 ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA <i>IN VITRO</i>	57
2.7 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i>	58
3. OBJETIVOS	61
3.1 OBJETIVO GERAL	61
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	61
4. MATERIAIS E MÉTODO	62
4.1 MATERIAIS E REAGENTES	62
4.1.1 PREPARO DA REVELADOR DE VANILINA	63
4.1.2 PREPARO DA SOLUÇÃO FISIOLÓGICA ESTÉRIL 0,9%	64
4.1.3 PREPARO DO MEIO DE CULTURA MÜLLER HINTON (CALDO OU ÁGAR)	64
4.1.4 PREPARO DA SOLUÇÃO DE RESAZURINA	64
4.1.5 PREPARO DO CONTROLE DE CLORANFENICOL	64
4.1.6 PREPARO DO CONTROLE DE GENTAMICINA	65
4.2 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	65
4.3 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	65

4.4 PREPARO DOS EXTRATOS	66
4.5 ENSAIO DE TOXICIDADE PRELIMINAR	68
4.5.1 PREPARO DO ARTEMILHEIRO	68
4.5.2 DILUIÇÃO DOS EXTRATOS	69
4.5.3 DISTRIBUIÇÃO DOS EXTRATOS E CONTROLES E CÁLCULO DA CL ₅₀	69
4.6 ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	70
4.6.1 REATIVAÇÃO DAS CULTURAS BACTERIANAS.....	70
4.6.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI)	71
4.6.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA BACTERICIDA (CMB).....	73
4.7 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i>	73
4.8 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA PRELIMINAR.....	75
4.9 ISOLAMENTO DE CONSTITUINTES QUÍMICOS	75
4.9.1 ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO TPGA	76
4.9.2 ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO TPFA	78
4.10 ELUCIDAÇÃO DAS ESTRUTURAS DOS COMPOSTOS ISOLADOS	86
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	88
5.1 RENDIMENTO DOS EXTRATOS	88
5.2 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA PRELIMINAR.....	89
5.3 TOXICIDADE FRENTE À <i>ARTEMIA SALINA</i>	93
5.4 CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i>	94
5.5 DETERMINAÇÃO DA CMI E CMB	99
5.6 ELUCIDAÇÃO DOS COMPOSTOS ISOLADOS.....	101
5.6.1 ELUCIDAÇÃO DA SUBSTÂNCIA E1 e E2	102
5.6.2 ELUCIDAÇÃO DA SUBSTÂNCIA E3 e E4	112
5.6.3 ELUCIDAÇÃO DA SUBSTÂNCIA E5	115
6. CONCLUSÕES	128
7. PERSPECTIVAS.....	130
REFERÊNCIAS.....	131
ANEXOS	144

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Relação dos estudos biológicos realizados em plantas do gênero <i>Tibouchina</i>	26
Tabela 2.	Relação das substâncias isoladas no gênero <i>Tibouchina</i>	38
Tabela 3.	Relação dos reagentes utilizados.....	62
Tabela 4.	Relação de equipamentos utilizados.....	63
Tabela 5.	Linhagens celulares utilizadas no ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> pelo método MTT.....	63
Tabela 6.	Bactérias e seus códigos ATCC, utilizadas no bioensaio de atividade antibacteriana.....	63
Tabela 7.	Coordenadas das coletas das partes aéreas de <i>Tibouchina papyrus</i> na Serra dos Pirineus, Pirenópolis, Goiás.....	65
Tabela 8.	Rendimento dos extratos obtidos através do processo de maceração seriada exaustiva à frio.....	89
Tabela 9.	Relação entre a polaridade do solvente e grupos de metabólitos extraídos.....	90
Tabela 10.	Resultados obtidos nos ensaios de prospecção fitoquímica preliminar, realizada com o pó das folhas e galhos da <i>T. papyrus</i>	91
Tabela 11.	Avaliação da toxicidade frente à náuplios de <i>A. salina</i> (CL ₅₀) dos extratos de <i>Tibouchina papyrus</i> e seus intervalos de confiança.....	93
Tabela 12.	Porcentagem de Inibição Celular de extratos das folhas, galhos e cascas do caule de <i>Tibouchina papyrus</i> frente às linhagens celulares em concentração única de 100 µg.µL ⁻¹	96
Tabela 13.	Resultado do ensaio de atividade antibacteriana frente aos extratos de <i>Tibouchina papyrus</i> em µg.mL ⁻¹	99
Tabela 14.	Dados de RMN de ¹³ C e ¹ H (CDCl ₃ , 125 MHz) das substâncias E1 em comparação com os dados de RMN (CDCl ₃ , 75 MHz/50 MHz) do triterpenoide α-amirina presente na literatura.....	103
Tabela 15.	Dados de RMN de ¹³ C e ¹ H (CDCl ₃ , 125 MHz) da substância E2 em comparação com os dados de RMN da β-amirina presente na literatura.....	104
Tabela 16.	Dados de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz), ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) e HMBC da mistura de E1 e E2	105
Tabela 17.	Dados de RMN de ¹³ C e ¹ H (CDCl ₃ , 125 MHz) da substância E5 em comparação com os dados de RMN presentes na literatura.....	115

Tabela 18.	Dados de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz), ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) e HMBC da mistura de E5	117
-------------------	--	-----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Gráfico da distribuição, de acordo com a origem, de novas drogas aprovadas nos últimos.....	21
Figura 2.	Gráfico da distribuição dos principais metabólitos encontrados em plantas do gênero <i>Tibouchina</i>	37
Figura 3.	Estruturas químicas dos flavonoides isolados em espécies de <i>Tibouchina</i>	41
Figura 4.	Estruturas químicas dos triterpenos isolados no gênero <i>Tibouchina</i>	44
Figura 5.	Estruturas químicas de esteroides encontrados no gênero <i>Tibouchina</i>	45
Figura 6.	Estruturas químicas de taninos encontrados no gênero <i>Tibouchina</i>	46
Figura 7.	Estruturas químicas de outras substâncias químicas encontradas no gênero <i>Tibouchina</i>	52
Figura 8.	Espécie em floração e em estado vegetativo, em decorrência da caducifolia, no mesmo período (floração assíncrona), Serra dos Pirineus, Goiás, Brasil.....	54
Figura 9.	Distribuição da espécie em território brasileiro.....	55
Figura 10.	Aspectos gerais das inflorescências de <i>T. papyrus</i>	56
Figura 11.	Reação de redução do MTT a formazan a partir da ação das enzimas mitocondriais.....	59
Figura 12.	Esquema da obtenção dos extratos de <i>Tibouchina papyrus</i> (Pohl) Toledo por maceração seriada exaustiva à frio.....	67
Figura 13.	Relação dos possíveis metabólitos presentes no processo de maceração seriada.....	68
Figura 14.	Esquema do sistema de incubação dos cistos de <i>Artemia salina</i>	69
Figura 15.	Esquema de microdiluição dos extratos de <i>Tibouchina papyrus</i> no ensaio antibacteriano.....	71
Figura 16.	Esquema da realização do ensaio de atividade antibacteriana pelo método de microdiluição em caldo para os extratos de <i>T. papyrus</i>	72
Figura 17.	Esquema do teste MTT para avaliação da citotoxicidade dos extratos de <i>Tibouchina papyrus</i>	75
Figura 18.	Esquema de metabólitos a serem investigados na prospecção fitoquímica.....	76
Figura 19.	Esquema do fracionamento do extrato TPGA, primeiro processo, em coluna de vidro com sílica gel.....	77

Figura 20.	Esquema do refractionamento, com a segunda coluna, com a fração TPGA-C1-6 e 7 A.....	78
Figura 21.	Esquema de refractionamento da fração TPGA-C2A-3B com isolamento da substância E1 e E2	78
Figura 22.	Fluxograma do processo de separação que resultou na identificação da mistura das substâncias E1 e E2	79
Figura 23.	Esquema de fracionamento do extrato TPFA-C1, em coluna de vidro com fase estacionária em Sílica gel.....	80
Figura 24.	Esquema de refractionamento da fração TPFA-C1-8A, em coluna de vidro com fase estacionária em Sílica gel.....	80
Figura 25.	Esquema do refractionamento da fração TPFA-C2-2B que resultou no isolamento do composto E3 e E4	81
Figura 26.	Fluxograma do isolamento da substâncias E3 e E4	82
Figura 27.	Esquema do refractionamento da fração TPFA-C1-7A, que resultou no isolamento do composto E5	83
Figura 28.	Fluxograma do processo de isolamento da substância E5	83
Figura 29.	Esquema do refractionamento da fração TPFA-C1-6A.....	84
Figura 30.	Esquema do refractionamento da fração TPFA-C2-4B que resultou no isolamento dos cristais E6	85
Figura 31.	Fluxograma do processo de obtenção dos cristais E6	85
Figura 32.	Fluxograma do processo de obtenção dos cristais E7	87
Figura 33.	Gráficos de inibição em concentração única dos extratos de <i>T. papyrus</i> em seis linhagens celulares.....	97
Figura 34.	Estruturas das substâncias isoladas com os dados sobre o processo de isolamento e identificação.....	100
Figura 35.	Estrutura química da substância E1 (α-amirina) identificada em mistura com E2	102
Figura 36.	Estrutura química da substância E2 (β-amirina) identificada em mistura com E1	102
Figura 37.	Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) das substâncias E1 e E2 , referente à mistura dos triterpenos pentacíclicos α e β -amirina.....	106
Figura 38.	Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) das substâncias E1 e E2 , referente à mistura dos triterpenos pentacíclicos α e β -amirina.....	107
Figura 39.	Ampliação do espectro de RMN em 2D, de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HSQC, (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz) para E1 e E2	108
Figura 40.	Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz) da mistura das substâncias E1 e E2	109

	Ampliação do espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HMBC, (CDCl ₃ , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz) da mistura das substâncias E1 e E2	110
Figura 41.		
Figura 42.	Espectro de RMN de ^1H (CDCl ₃ , 500 MHz) das substâncias E3 e E4 , referente à mistura dos triterpenos pentacíclicos α e β -amirina.....	112
Figura 43.	Espectro de RMN de ^1H (CDCl ₃ , 500 MHz) das substâncias E3 e E4 , referente à mistura dos triterpenos pentacíclicos α e β -amirina.....	113
Figura 44.	Estrutura química do etil feoforbídeo A, substância E5	115
Figura 45.	Espectro de RMN de ^1H (CDCl ₃ , 500 MHz) da substância E5 , referente ao etil feoforbídeo A.....	119
Figura 46.	Detalhamento do espectro de RMN de ^1H (CDCl ₃ , 500 MHz) da substância E5	120
Figura 47.	Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl ₃ , 500 MHz) da substância E5 , etil feoforbídeo A.....	121
Figura 48.	Ampliação do espectro de RMN em 2D de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC (CDCl ₃ , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz) para E5	122
Figura 49.	Ampliação do espectro de RMN em 2D de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HSQC, (CDCl ₃ , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz) na faixa δH 10,0 – 7,5, para E5	123
Figura 50.	Ampliação do espectro de RMN em 2D de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HSQC, (CDCl ₃ , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz), na faixa de δH 8,0 a -2,0, para E5	124
Figura 51.	Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HMBC, da substância E5 (CDCl ₃ , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	125
Figura 52.	Ampliação do espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HMBC, da substância E5 (CDCl ₃ , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	126

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1.	Publicação do Artigo de revisão de gênero <i>Miconia</i> (Qualis - A2) no ano de 2019.....	144
Anexo 2.	Capítulo do livro publicado.....	145
Anexo 3.	Artigo publicado na Revista Movimenta.....	146
Anexo 4.	CEPE 2020 – Publicações de resumos nos Anais do Congresso.....	147
Anexo 5.	CEPE 2021 – Publicação de resumo nos Anais do Congresso.....	148

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
AcOEt	Acetato de etila
BHI	<i>Brain Heart Infusion Broth</i>
CCDA	Cromatografia Camada Delgada Analítica
CL ₅₀	Concentração Letal média
CLSI	<i>Clinical & Laboratory Standards Institute</i>
CMB	Concentração Mínima Bactericida
CMI	Concentração Mínima Inibitória
d	dubleto
dd	duplo dubleto
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	dimetil sulfóxido
DP	desvio padrão
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
dt	duplo tripleto
FRAP	poder de redução do íon ferro
h	altura
HCT-116	Linhagem celular de câncer de cólon humano

Hex	Hexano
HL60	Linhagem celular promielocítica derivada da leucemia humana
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
HUEG	herbário da Universidade Estadual de Goiás
IC%	percentual de inibição de crescimento celular
IC ₅₀	Inibição celular média
IDSA	<i>Infectious Diseases Society of America</i>
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
L	litro
MCF-7	Linhagem celular de câncer de mama isolada de uma mulher branca (<i>Michigan Cancer Foundation-7</i>)
MeOH	Metanol
m	multiplete
mg	miligrama
min	minuto
mL	mililitro
MH	Müller Hinton (ágar ou caldo)
MHz	Mega Hertz
MTT	Brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio

nm	nanômetro
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORAC	Capacidade de absorção pelo radical de oxigênio
ϕ	Diâmetro
PC3	Linhagem celular de câncer de próstata humano
ppm	partes por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear (^1H e ^{13}C)
s	singleto
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SNB-19	Linhagem celular de glioblastoma multiforme humano
t	Tripleto
TPFA	<i>Tibouchina papyrus</i> folhas Acetato de Etila
TPFH	<i>Tibouchina papyrus</i> folhas Hexano
TPFM	<i>Tibouchina papyrus</i> folhas Metanol
TPGA	<i>Tibouchina papyrus</i> galhos Acetato de Etila
TPGH	<i>Tibouchina papyrus</i> galhos Hexano
TPGM	<i>Tibouchina papyrus</i> galhos Metanol
UEG	Universidade Estadual de Goiás
UFC	unidade formadora de colônia

UFG	Universidade Federal de Goiás
UV	Ultravioleta
δ	Deslocamento químico (em ppm)
μg	micrograma
μL	microlitro
2D	Duas dimensões

A crescente busca por novos compostos bioativos ampliaram as investigações em plantas do Cerrado brasileiro. A espécie *Tibouchina papyrus* pertence à família Melastomataceae, que apresenta algumas representantes com atividade biológica. Para ampliar o conhecimento sobre o gênero *Tibouchina*, o objetivo desse estudo foi investigar o potencial bioativo da espécie *T. papyrus*. A obtenção dos extratos se deu a partir da maceração seriada sucessiva à frio, de galhos e folhas secos e pulverizados, com os solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, acetato de etila e metanol. Foram realizados ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina*; atividade antibacteriana, pelo método de microdiluição em caldo, frente às bactérias Gram positivas: *Staphylococcus epidermidis* (25923), *Staphylococcus aureus* (12228) e Gram negativas: *Escherichia coli* (25312) e *Pseudomonas aeruginosa* (27853); atividade citotóxica *in vitro* utilizando método colorimétrico frente às linhagens celulares de leucemia promielocítica (HL60), carcinoma de cólon humano (HCT-116), carcinoma de mama (MCF-7), carcinoma de próstata (PC3), astrocitoma (SNB-19) e células não tumorais (L929). Também foi realizada prospecção fitoquímica para detecção das principais classes de metabólitos secundários presentes nos extratos. A triagem fitoquímica indicou presença dos grupos metabólitos: flavonoides, triterpenos, esteroides e taninos. O processo de purificação resultou na identificação dos triterpenos α e β -amirina (em mistura) e do etil feoforbídeo A. Todos os extratos foram considerados atóxicos frente à *A. salina*. Os extratos metanólicos de galhos e folhas apresentaram atividade antibacteriana moderada: *S. aureus* (500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, ambas as partes), *S. epidermidis* (250 e 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente) e *P. aeruginosa* (250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, apenas para folhas). Os extratos brutos hexânico (galhos) e acetato de etila (galhos e folhas) apresentaram alta atividade citotóxica frente a linhagem celular HL60 com valores de inibição celular respectivamente iguais a 93,31% ($\pm 1,85$), 80,43% ($\pm 3,64$) e 83,42% ($\pm 2,07$).

Palavras-chave: Produto Natural. Antitumorais. Derivados clorofílicos.

The increasing search for new bioactive compounds has broadened the investigations on plants from the Brazilian Cerrado. The species *Tibouchina papyrus* belongs to the Melastomataceae family, which presents some species with biological activity. With the intention of increasing the knowledge of this family, the objective of this study was to investigate the bioactive potential of the species *T. papyrus*. The extracts were obtained from successive serial cold maceration of dried twigs and leaves pulverized with hexane, ethyl acetate and methanol solvents. Toxicity tests were performed against *Artemia salina*; antibacterial activity, by the broth microdilution method, against Gram-positive bacteria: *Staphylococcus epidermidis* (25923), *Staphylococcus aureus* (12228) e Gram negatives: *Escherichia coli* (25312) e *Pseudomonas aeruginosa* (27853); *in vitro* cytotoxic activity using colorimetric method against the cell lines of promyelocytic leukemia (HL60), human colon carcinoma (HCT-116), breast carcinoma (MCF-7), prostate carcinoma (PC3), astrocytoma (SNB-19) and non-tumor cells (L929). Phytochemical prospection was also performed to detect the main classes of secondary metabolites present in the extracts. The phytochemical screening indicated the presence of the metabolite groups: flavonoids, triterpenes, steroids and tannins. The purification process resulted in the identification of the triterpenes, α - and β -amyrin (still in mixture) and the ethyl pheophorbide A. All extracts were found to be non-toxic against *A. salina*. The branch and leaf methanolic extracts showed moderate antibacterial activity against *S. aureus* (500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, both parts), *S. epidermidis* (250 and 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectively) and *P. aeruginosa* (250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, leaves only). The crude hexanic (twigs) and ethyl acetate (twigs and leaves) extracts showed high cytotoxic activity against HL60 cell line with cell inhibition values respectively equal to 93.31% (± 1.85), 80.43% (± 3.64) and 83.42% (± 2.07).

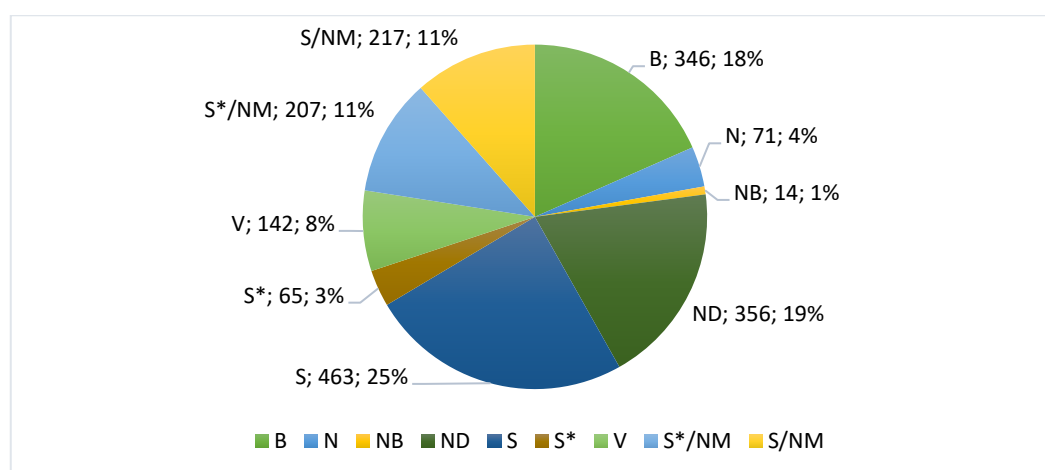
Keywords: Natural product. Antitumor. Chlorophyll derivatives.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta vasta diversidade de plantas com potencial medicinal, algumas já utilizadas na medicina popular e inúmeras outras que ainda não foram estudadas do ponto de vista biológico ou químico. A utilização de plantas como agentes terapêuticos, ou modelo para novos medicamentos sintéticos, ou ainda como base para a semi-síntese de moléculas ou fármacos tem sido objeto de pesquisa em diversos estudos de bioprospecção e/ou acesso ao patrimônio genético (BRUSCHI *et al.*, 2000).

Dos novos medicamentos obtidos nos últimos 38 anos (1981 a 2019, dados relativos à busca realizada), um total de 1881 novas drogas foram aprovadas. As drogas sintéticas equivalem a 24,3% (463), seguida de 18,9% (356) relativo à derivados de produtos naturais, 18,4% (346) a macromoléculas biológicas e apenas 14 novas drogas são de origem exclusivamente botânica, um equivalente a 0,8% do total. Esse número baixo de aprovações para drogas botânicas deve-se ao fato que apenas recentemente estas começaram a ser aprovadas (NEWMAN e CRAGG, 2020).

Figura 1- Gráfico da distribuição, de acordo com a origem, de novas drogas aprovadas nos últimos.



Legenda: B – Biológica, N - Produto Natural, NB - Produto Natural Botânico, ND - Derivado de produto natural, S - Droga totalmente sintética, S*- Droga sintética com origem em produto natural, V – vacina, S*/NM - Imitação de droga sintética com origem em produto natural, S/NM - Imitação de droga totalmente sintética. Fonte: Adaptada de Newman e Cragg (2020). .

A família Melastomataceae é encontrada por todo território brasileiro, sendo a quinta família de angiosperma com mais espécies no Brasil. Esta família apresenta-se distribuída em 170 gêneros e cerca de 5000 espécies, muitas ainda não estudadas. No Cerrado, a família apresenta cerca de 470 espécies com maior diversidade em formações rupestres, e para o Estado de Goiás estão listadas 161 espécies (GOLDENBERG *et al.*, 2012; VERSIANE *et al.*, 2016).

O gênero *Tibouchina* apresenta espécies com valores ornamentais, sendo algumas utilizadas na Medicina Popular como a *T. asperior*, com atividade diurética, depurativa (VARGAS *et al.*, 1991), *T. ciliaris*, controle da “gota” (COLORADO *et al.*, 2007), *T. grandiflora*, melhora da cicatrização de feridas (KUSTER *et al.*, 2009; SCIO *et al.*, 2012), *T. granulosa*, ação antinociceptiva (BARNABY *et al.*, 2016; SOBRINHO *et al.*, 2017; MOREIRA, 2013; SCIO *et al.*, 2012), *T. kingii*, atividade anti-inflamatória (RAMIREZ-ATEHÓRTUA *et al.*, 2018); JIMENEZ *et al.*, 2015), *T. pereirae*, tratamento de doenças renais (DIAS *et al.*, 2016) e *T. semidecandra*, usada para tratar sintomas de dor de cabeça e ação cicatrizante (NAKASHIMA *et al.*, 1992; SIRAT *et al.*, 2010; REZALI, 2008).

A espécie *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo é uma espécie de Melastomataceae sobre a qual, até o presente momento, não há relatos de investigações de sua bioatividade e constituintes químicos isolados. Apresenta como característica ritidoma escamiforme de consistência papirácea, com flores em panícula. Sua distribuição no território brasileiro é bastante restrita, sendo encontrada principalmente na Serra dos Pirineus (Goiás), Serra Dourada (Goiás), Serra Negra (Goiás), Serra da Natividade (Tocantins) e Parque Bacabá (Mato Grosso) (MARACAHIPES *et al.*, 2012; VERSIANE *et al.*, 2016).

Visando contribuir com a ampliação de estudos de prospecção realizados com espécies do Cerrado, de plantas pertencentes à família Melastomataceae, sobre a qual muitas espécies ainda não foram estudadas do ponto de vista de fitoquímico e atividade biológica, este trabalho buscou avaliar o potencial tóxico, citotóxico, antibacteriano e realizar estudo fitoquímico com a espécie *Tibouchina papyrus*.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O CERRADO E SUA UTILIZAÇÃO NA MEDICINA POPULAR

O Cerrado brasileiro apresenta grande variedade de plantas, porém poucos estudos direcionados para sua utilização na Medicina Popular. A busca por novos compostos químicos permite ampliar o número de pesquisas voltadas para identificar o potencial de utilização dessas plantas como precursoras de novos recursos terapêuticos. As espécies nativas do Cerrado apresentam grande variabilidade de compostos bioativos, porém, em pequenas quantidades quando comparadas às presentes na Floresta Amazônica, que possuem poucas substâncias, mas em grandes quantidades (NETO e MORAIS, 2003).

Estima-se uma perda de 40% desse bioma e apenas uma pequena parte da extensão territorial do Cerrado possui proteção por lei, o que deixa essa vegetação em risco. Torna-se necessário orientar estudos para ampliar o conhecimento desses potenciais, uma vez que se a vegetação for extinta estarão indisponíveis para as futuras gerações. Estudos químicos e/ou farmacológicos possibilitam a comprovação dos efeitos medicinais e toxicológicos das espécies do Cerrado para que assim sejam desenvolvidos produtos que beneficiem a população com um menor custo, poucas contraindicações e efeitos colaterais (NETO e MORAIS, 2003 ; KAPLAN *et al.*, 1994).

2.2 A FAMÍLIA MELASTOMATACEAE

A família Melastomataceae está entre as cinco maiores famílias de angiospermas presentes no Brasil, presente em diversos biomas, inclusive no Cerrado. Apesar de apresentar grande variedade de espécies, poucos

estudos do ponto de vista químico e/ou biológico foram realizados com essa família botânica.

Pertencente ao reino Plantae, filo Tracheophyta, da classe Magnoliopsida e da ordem Myrtales, a família Melastomataceae é típica da flora neotropical, suas espécies abrangem cerca de nove tribos, dentre elas as mais representativas para o Brasil são a Melastomeae, a Miconiae e a Microlicieae. Estando presente em uma grande diversidade de *habitats*, a família pode ser encontrada desde a região Amazônica até o Rio Grande do Sul (CRUZ e KAPLAN, 2004).

Estima-se que no Brasil ocorram cerca de 67 gêneros e 1.371 espécies de Melastomataceae, dentre as quais 470 ocorrem no Cerrado com maior diversidade em formações rupestres. Para o Estado de Goiás são relacionadas 161 espécies de Melastomataceae. Na Serra dos Pirineus a família está representada por 77 espécies, com distribuição em 20 gêneros, sendo os mais diversos: *Miconia* Ruiz & Pav. com 19 espécies, *Tibouchina* Aubl. com 13 espécies e *Microlicia* D. Don com 11 espécies (VERSIANE *et al.*, 2016).

A tribo Melastomeae é a maior em número de gêneros e a segunda em número de espécies, e por não ser um grupo filético, suas espécies subdividem-se em três clados: “Rhexieae”, “Marcetia Alliance” e “Core Melastomeae”. As espécies da tribo “Core Melastomeae” são representadas principalmente pelos gêneros *Desmoscelis*, *Pterolepis* e *Tibouchina*, sendo o último com maior quantidade de espécies (MICHELANGELI *et al.*, 2013).

2.3 ESTUDOS FITOQUÍMICOS E DE (BIO)ATIVIDADE DO GÊNERO *Tibouchina*

Existem relatos da utilização de plantas do gênero *Tibouchina* na medicina popular, podendo-se citar *Tibouchina asperior* (“margarita”) com atividade calmante para a tosse e sedativa; *T. clavata* (“orelha-de-gato”) para dores de garganta; *T. semidecandra* (“quaresmeira”) para dores de cabeça;

T. urvillena (Bucopan) para dores em geral (CRUZ e KAPLAN, 2004). Estudos realizados com as espécies: *T. granulosa*, *T. grossa*, *T. kingii*, *T. mutabilis*, *T. pereirae*, *T. semidecandra* confirmam a alta presença de compostos fenólicos e forte atividade antioxidante. Para as espécies *T. granulosa* e *T. pereira*, ensaios *in vitro* e *in vivo* realizados com os extratos permitiram observar a potencial ação anti-inflamatória e de alívio de dores (SCIO *et al.*, 2012; BARNABY *et al.*, 2016; Dias *et al.*, 2016; SOBRINHO *et al.*, 2017).

Ao todo, 14 espécies do gênero *Tibouchina* tiveram suas atividades estudadas. O levantamento realizado relaciona estudos até o ano de 2020 e na Tabela 1 encontram-se relacionados os resultados obtidos para as espécies: *T. asperior*, *T. candolleana*, *T. ciliaris*, *T. grandiflora*, *T. granulosa*, *T. grossa*, *T. kingii*, *T. mutabilis*, *T. paratropica*, *T. pereirae*, *T. pulchra*, *T. scrobiculata*, *T. semidecandra* e *T. stenocarpa*.

Tabela 1- Relação dos estudos realizados em espécies de plantas do gênero *Tibouchina*.

Espécie	Características do estudo	Parte estudada	Uso popular	Resultados obtidos	Referências
<i>T. asperior</i>	Atividade mutagênica com o Teste de Ames em cepas TA 98 e TA 100 de <i>Salmonella typhimurium</i> .	Folhas e hastes	Atividade diurética, depurativa	Resultado negativo para atividade mutagênica com os extratos. TA 98 (folhas 45 ± 4 ; hastes 26 ± 7); TA 100 (folhas 145 ± 4 ; hastes 136 ± 7)	VARGAS <i>et al.</i> , 1991.
<i>T. candolleana</i>	Atividade antibacteriana pelo método de microdiluição em caldo frente a: <i>Bacteroides fragilis</i> (ATCC 25285), <i>Actinomyces naeslundii</i> (ATCC 19039), <i>Porphyromonas gingivalis</i> (ATCC 33277), <i>Prevotella nigrescens</i> (ATCC 33563), <i>Fusobacterium nucleatum</i> (ATCC 49256), <i>Bacteriodes thetaiotaomicron</i> (ATCC 29741) e <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (ATCC 27337).	Partes aéreas	Nenhuma utilização reportada	Ácido ursólico: 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para <i>A. naeslundii</i> e <i>P. gingivalis</i> , 80 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para <i>B. fragilis</i> e 90 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para <i>P. nigrescens</i> . Ácido oleanólico: <i>A. naeslundii</i> 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e <i>P. gingivalis</i> 40 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. A mistura foi mais ativa que o ácido ursólico puro 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, indicando um efeito sinérgico frente a <i>Bacteroides fragilis</i> e <i>A. naeslundii</i> e para <i>P. gingivalis</i> 40 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	SANTOS <i>et al.</i> , 2012.
<i>T. ciliaris</i>	Atividade antimicrobiana (CMI) pelo método de microdiluição em caldo frente a <i>Escherichia coli</i> .	Folhas	Controle da "gota"	Fração isopropanol/água (65:35) originou o canferol que foi testado frente a <i>E. coli</i> com CMI de 512 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	COLORADO <i>et al.</i> , 2007.
	Atividade inibitória da xantina oxidase (XO), enzima que catalisa a oxidação da hipoxantina e xantina a ácido úrico.			Fração isopropanol/água 70:30 e 1:1 com porcentagem de inibição >30%	ISAZA <i>et al.</i> , 2007.

Continuação da Tabela 1

Espécie	Características do estudo	Parte estudada	Uso popular	Resultados obtidos	Referências
	Atividade antifúngica realizada frente a <i>Cladosporium cucumerinum</i> segundo método proposto por Gottstein <i>et al.</i> (1984).		Utilizado como cataplasma para melhorar a cicatrização de feridas	Para o extrato acetato de etila a inibição ocorreu em concentração de 200 µg.	KUSTER <i>et al.</i> , 2009.
<i>T. grandiflora</i>	Atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo frente a: <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 15442), <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium (ATCC 13311), <i>Shigella sonnei</i> (ATCC 11060), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13866), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536), <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 11778) e as leveduras <i>Candida albicans</i> (ATCC 18804) e <i>Cryptococcus neoformans</i> (ATCC 32608). Utilizou-se metodologia de Bouzada <i>et al.</i> (2009) (bactérias) e NCCLS (2002) (leveduras).	Folhas	Utilizado como cataplasma para melhorar a cicatrização de feridas	Extrato metanólico apresentou atividade frente à <i>S.aureus</i> : 5µg.mL ⁻¹ ; <i>S. enterica</i> serovar Typhimurium: 300 µg.mL ⁻¹	SCIO <i>et al.</i> , 2012.

Continuação da Tabela 1

Espécie	Características do estudo	Parte estudada	Uso popular	Resultados obtidos	Referências
<i>T. granulosa</i>	Atividade antioxidante segundo método DPPH.	Flores		Extrato hexânico: 10,76±0,92 (mg ácido gálico/g)	BARNABY <i>et al.</i> , 2016.
	Fenóis totais pelo método Folin-Ciocalteu.			Extrato hexânico: 96,35±2,88 (mg ácido gálico/g)	BARNABY <i>et al.</i> , 2016.
	Atividade de eliminação de radicais livres		Ação antinociceptiva	Extrato hexânico: 85,84 ± 5,64 %	BARNABY <i>et al.</i> , 2016.
	Atividade anti-inflamatória, avaliada pela dose-resposta em ratos com dosagens 1, 3, 10, 30 ou 100 mg/kg, pela resposta de lambertura induzida por formalina.	Folhas		Reduziu em 71,4%, 70,1%, 75,9%, 80,4% e 87,4% níveis de NO (óxido nítrico)	SOBRINHO <i>et al.</i> , 2017.

Continuação da Tabela 1

Espécie	Características do estudo	Parte estudada	Uso popular	Resultados obtidos	Referências
	Atividade antioxidante, realizou-se a medição da inibição do material volátil compostos orgânicos e os hidroperóxidos de dienos conjugados decorrentes da oxidação do ácido linoleico, utilizando uma mistura de beta caroteno e ácido linoleico.			Os extratos metanólicos apresentaram atividade antioxidante: I = 62,37± 3,17% (β-caroteno/ácido linoleico)	SCIO <i>et al.</i> , 2012.
<i>T. granulosa</i>	Atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo frente a: <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 15442), <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium (ATCC 13311), <i>Shigella sonnei</i> (ATCC 11060), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13866), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536), <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 11778) e as leveduras <i>Candida albicans</i> (ATCC 18804) e <i>Cryptococcus neoformans</i> (ATCC 32608). Utilizou-se metodologia de Bouzada <i>et al.</i> (2009) (bactérias) e NCCLS (2002) (leveduras).	Folhas	Ação antinociceptiva	Os extratos metanólicos apresentaram CMI: <i>P. aeruginosa</i> - 39µg.mL ⁻¹ <i>B. cereus</i> - 39 µg.mL ⁻¹ <i>S. sonnei</i> - µg.mL ⁻¹	SCIO <i>et al.</i> , 2012.

Continuação da Tabela 1

Espécie	Características do estudo	Parte estudada	Uso popular	Resultados obtidos	Referências
<i>T. grossa</i>	Atividade antioxidante, usando o ensaio de captação de radical livre de 1,1 difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) segundo Brand-Williams <i>et al.</i> (1995).	Partes aéreas	Nenhuma utilização reportada	Extrato metanólico apresentou atividade antioxidante de 47%.	MOSQUERA <i>et al.</i> , 2009.
	Método de difusão em ágar, segundo Rios <i>et al.</i> (1988). Microorganismos utilizados no ensaio: <i>Aspergillus fumigatus</i> (ATCC 1022), <i>Candida albicans</i> (ATCC 18804) e <i>Fusarium solani</i> (ATCC 11712). Extratos testados nas concentrações 10.000, 5.000, 2.500, 1.250 e 625 ppm. O Cetoconazol foi utilizado como controle positivo.			O extrato metanólico apresentou forte atividade inibitória frente a <i>A. fumigatus</i> , <i>C. albicans</i> e <i>F. solani</i> .	NIÑO <i>et al.</i> , 2003.
<i>T. kingii</i>	Atividade antioxidante pelo potencial de redução do ferro (FRAP).	Partes aéreas	Atividade anti-inflamatória em processos agudos ou crônicos	Extrato hidroetanólico apresentou atividade com valor FRAP= 4097,58 ± 2,89 µmol ET/g	RAMÍREZ-ATEHORTÚA <i>et al.</i> , 2018.
	Atividade antioxidante pela capacidade de absorção de radical de oxigênio (ORAC).			Extrato hidroetanólico - ORAC= 6494,26 ± 2,86 µmol ET/g	RAMÍREZ-ATEHORTÚA <i>et al.</i> , 2018.
	Fenóis totais pelo método Folin-Ciocalteu.			Extrato hidroetanólico - 386,77 ± 2,41 mg GAE/g	RAMÍREZ-ATEHORTÚA <i>et al.</i> , 2018.

Continuação da Tabela 1

Espécie	Características do estudo	Parte estudada	Uso popular	Resultados obtidos	Referências
<i>T. kingii</i>	Fenóis totais pelo método Folin-Ciocalteu, com algumas modificações.	Partes aéreas	Atividade anti-inflamatória em processos de dores agudas ou crônicas	Extrato aquoso: 383 ± 0,7 mg GAE/g	JIMENEZ <i>et al.</i> , 2015.
	Atividade antioxidante pelo método DPPH proposto por Sharma e Bhat, (2009).			Extrato aquoso: 2.290 ± 17,0 µmol TE/g	JIMENEZ <i>et al.</i> , 2015.
	Atividade antioxidante pelo potencial de redução do ferro (FRAP) segundo método proposto por Benzie e Szeto (1999).			Extrato aquoso: 2.040 ± 23,0 µmol TE/g	JIMENEZ <i>et al.</i> , 2015.
	Atividade antioxidante pela capacidade antioxidante equivalente Trolox (TEAC).			Extrato aquoso: 3.590 ± 48,0 µmol TE/g	JIMENEZ <i>et al.</i> , 2015.
	Atividade antioxidante pela capacidade de absorção de radical de oxigênio (ORAC).			Extrato aquoso: 2.050 ± 53,0 µmol TE/g	JIMENEZ <i>et al.</i> , 2015.

Continuação da Tabela 1

Espécie	Características do estudo	Parte estudada	Uso popular	Resultados obtidos	Referências
<i>T. mutabilis</i>	Atividade oxidante pelo método DPPH.	Folhas	Nenhuma utilização reportada	Extrato metanólico com atividade de IC ₅₀ = 1,56 ± 0,24 µg.mL ⁻¹	SCIO <i>et al.</i> , 2012.
	Potencial redutor determinado pelo método de Oyazu (1986), baseado nas reações de Fe (II) e Fe (III).			Extrato metanólico com atividade de EC ₅₀ = 5,54 ± 0,10 µg.mL ⁻¹	SCIO <i>et al.</i> , 2012.
	Atividade antioxidante, pela medição da inibição do material volátil compostos orgânicos e os hidroperóxidos de dienos conjugados decorrentes da oxidação do ácido linoleico.			Extrato metanólico com atividade de I = 69,05 ± 8,60 %	SCIO <i>et al.</i> , 2012.
<i>T. paratropica</i>	Atividade antimicrobiana segundo Cruz Paredes <i>et al.</i> (2013), frente a: <i>Acinetobacter baumannii</i> (ATCC BAA-747), <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212) e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 14210); Gram-positivas: <i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923 e 700698). Também foram testadas <i>Mycobacterium smegmatis</i> (ATCC 700084). Fungos: <i>Aspergillus fumigatus</i> (ATCC 1022), <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> H99 e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (ATCC 9533).	Partes aéreas	Nenhuma utilização reportada	O composto isolado 2,8-dihidroxi-7H-furo[2,3-f]chrome-7-ona inibiu crescimento de <i>P. aeruginosa</i> e <i>E. faecalis</i> na concentração de 250 e 125 µg.mL ⁻¹ , respectivamente, e atividade antifúngica frente a <i>C. albicans</i> e <i>T. mentagrophytes</i> a 250 e 62,5 µg.mL ⁻¹ . O composto 2-(3,4-d-hidroxifenil)-3,5,7-tri-hidroxi-4H-1-benzopiran-4-ona (isoquercitrina) inibiu o crescimento de <i>E. faecalis</i> a 500 µg.mL ⁻¹ e apresentou atividade antifúngica frente a <i>C. neoformans</i> (500 µg.mL ⁻¹), <i>T. mentagrophytes</i> (500 µg.mL ⁻¹) e para <i>C. albicans</i> (125 µg.mL ⁻¹)	TRACANNA <i>et al.</i> , 2015.

Continuação da Tabela 1

Espécie	Características do estudo	Parte estudada	Uso popular	Resultados obtidos	Referências
<i>T. paratropica</i>	Atividade anti-Leishmaniose, frente a <i>Leshmania donovani</i> pelo ensaio Alamar Blue proposto por Mikus e Steverding (2000).	Partes aéreas	Nenhuma utilização reportada	Um decréscimo de 97% no número de parasitas foi observado quando expostos a uma concentração de 1,25µg/mL do composto isolado 2,8-dihidroxi-7H-furo[2,3-f]chromen-7-ona após 24h e atividade anti-leishmaniose foi calculada em IC ₅₀ = 0,809 µg.mL ⁻¹ .	TRACANNA <i>et al.</i> , 2015.
	Atividade anti-inflamatória de compostos determinada através da medição da secreção de IL-6 pró-inflamatória e anti-inflamatória IL-10 usando células THP-1 de monócitos derivadas de humanos (ATCC 202).			O composto isolado 2,8-dihidroxi-7H-furo[2,3-f]chrome-7-ona reduziu cerca de 85% da interleucina-6 (IL-6) quando os macrófagos foram expostos à concentração maior que 500 µg.mL ⁻¹ antes do LPS desafiador	TRACANNA <i>et al.</i> , 2015.
	Atividade citotóxica realizado de acordo com Protocolos publicados por Bach <i>et al.</i> (2011).			Nenhum efeito citotóxico foi observado com o extrato n-hexânico testado no estudo.	TRACANNA <i>et al.</i> , 2015.
<i>T. pereirae</i>	Atividade antinociceptiva por redução de contrações induzidas por ácido acético e lambedura induzida por formalina.	Partes aéreas	Tratamento de doenças renais	Extrato n-hexânico apresentou: redução de 90% das contrações induzidas por ácido acético; redução de 83% na lambedura induzida por formalina.	DIAS <i>et al.</i> , 2016.
	Atividade antioxidante pelo método DPPH.			Extrato n-hexânico apresentou EC ₅₀ = 15,33 ± 0,01 µg.mL ⁻¹	DIAS <i>et al.</i> , 2016.

Continuação da Tabela 1

Espécie	Características do estudo	Parte estudada	Uso popular	Resultados obtidos	Referências
<i>T. pulchra</i>	Atividade citotóxica em cultura de linhagem celular KB.	Cascas do caule	Nenhuma utilização reportada	Fração aquosa ED ₅₀ = 5,5 µg.mL ⁻¹ Fração metanólica ED ₅₀ = 37 µg.mL ⁻¹ Fração clorofórmio ED ₅₀ = 2,6 µg.mL ⁻¹ 2,6-dimetóxi benzoquinona ED ₅₀ = 3,1 µg.mL ⁻¹	JONES <i>et al.</i> , 1980.
	Atividade moluscicida frente a <i>Biomphalaria glabrata</i> .	Flores e Folhas		O extrato aquoso das flores (decocção) apresentou atividade frente a caramujos adultos nas concentração de 100 e 1000 ppm.	MENDES <i>et al.</i> , 1986.
<i>T. scrobiculata</i>			Nenhuma utilização reportada	Os resultados obtidos para o extrato etanólico para o intervalo de experimento de 24 h, nas concentrações de 100, 10 e 1 ppm, respectivamente foram: 23,0 ± 1,7; 29,3 ± 0,6; 29,7 ± 0,6.	CONSOLI <i>et al.</i> , 1988.
	Atividade larvicida frente a <i>Aedes fluviatilis</i> .	Folhas		Para o intervalo de tempo de 48 h os resultados para as mesmas concentrações em ppm foram, respectivamente: 21,7 ± 2,5; 28,3 ± 2,1; 29,3 ± 0,6.	
<i>T. semidecandra</i>	Screening de atividade anti-Leishmaniose frente a <i>Leishmania dovani</i> (HOM/IN/80/Dd8) pelo método proposto por Bhatnagar <i>et al.</i> (1989) e Guru <i>et al.</i> (1989), com dose de 1g/kg/dia x5 oralmente em hamsters dourados.	Planta inteira	Utilizada para dores de cabeça e ação cicatrizante	Inibição após 7 dias de tratamento 77,74 ± 5,85%; após 28 dias de tratamento 74,87 ± 4,95%. Após repetição do experimento obteve-se 78,68 ± 4,18 (7dias) e 73,76 ± 4,74 (28 dias).	SINGHA <i>et al.</i> , 1992.

Continuação da Tabela 1

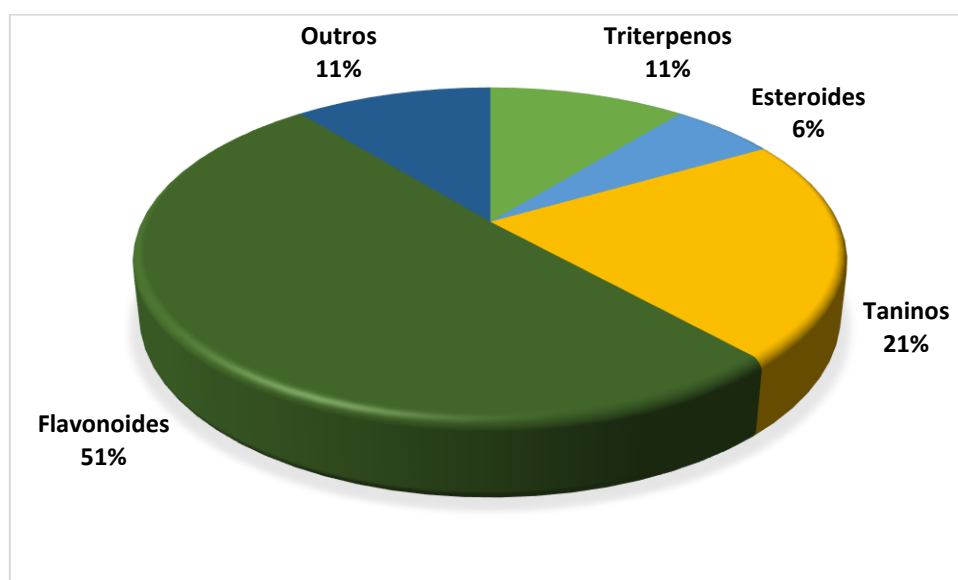
Espécie	Características do estudo	Parte estudada	Uso popular	Resultados obtidos	Referências
<i>T. semidecandra</i>	Os efeitos dos compostos de teste na ligação de partículas de HIV-1 a MT-4 as células foram determinadas por imuno-fluorescência indireta e fluxo de laser análise citométrica (Schols <i>et al.</i> , 1989). Foram testados os seguintes compostos isolados da espécie: Nobotanino A-C e F.	Compostos isolados da planta		Resultados obtidos sobre os efeitos citopáticos induzidos pela infecção por HIV: Nobotanino A: CC ₅₀ = 33,6; EC ₅₀ = 7, µg.mL ⁻¹ Nobotanino B: CC ₅₀ = 33,7; EC ₅₀ = 2,4 µg.mL ⁻¹ Nobotanino C: CC ₅₀ = 32,7; EC ₅₀ = 3.1 µg.mL ⁻¹ Nobotanino F: CC ₅₀ = 34,8; EC ₅₀ = 4,5 µg.mL ⁻¹ Resultados do efeito inibitório (>50%) da ligação do HIV-1 às células MT-4: Nobotanino B: Concentração de 6,25 µg.mL ⁻¹ inibição de 88,5%.	NAKASHIMA <i>et al.</i> , 1992.
	Atividade antioxidante pelo método de espectrofotometria de luz UV, segundo método descrito por Tagashira <i>et al.</i> (1998). E o método espectrométrico.	Folhas	Utilizada para dores de cabeça e ação cicatrizante	Dentre os compostos isolados a quercetina foi considerada o eliminador de radicais mais ativo nos métodos DPPH-UV e ESR com valores de SC ₅₀ de 0,7 ±1,4 µM e 0,7 ±0,6 µM, respectivamente.	SIRAT <i>et al.</i> , 2010.
	Atividade antitirosinase, pelo método de enzima tirosinase descrito por Isao Kubo <i>et al.</i> (1999), com modificações.	Folhas		Para o extrato metanólico a substância quercetina exibiu forte atividade antitirosinase com uma inibição percentual de 95,0%.	SIRAT <i>et al.</i> , 2010.
	Atividade antimicrobiana pelo método de disco de difusão com os extratos brutos e compostos puros isolados frente as bactérias Gram-positivas <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> e as bactérias Gram-negativas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Escherichia coli</i> .	Cascas do caule		Nenhum resultado significativo foi observado.	REZALI, 2008.

Continuação da Tabela 1

Espécie	Características do estudo	Parte estudada	Uso popular	Resultados obtidos	Referências
<i>T. stenocarpa</i>	Atividade tripanocida, usando sangue coletado por punção cardíaca de camundongos albinos suíços no pico parasitêmico (7º dia) após a infecção com o cepa Y de <i>Trypanossoma cruzi</i> .	Partes aéreas	Nenhuma utilização reportada	Fração etanólica IC ₅₀ = 67,5 µg.mL ⁻¹ Fração n-hexânica IC ₅₀ = 23,6 µg.mL ⁻¹ Fração cloreto de metileno IC ₅₀ = 51,5 µg.mL ⁻¹	CUNHA <i>et al.</i> , 2009.

Estudos fitoquímicos com plantas do gênero *Tibouchina* (Figura 2) destacam a incidência, principalmente, de grupos metabólitos como flavonoides (51%), taninos (21%), triterpenos (11%) e esteroides (6%). Os principais compostos químicos isolados no gênero (Tabela 2), ao todo 120 substâncias, são provenientes do estudo fitoquímico realizado com 12 espécies de *Tibouchina*: *T. ciliaris*, *T. candolleana*, *T. grandiflora* (*grandifolia* ou *heteromalla*), *T. granulosa*, *T. lepidota*, *T. multiflora*, *T. paratropica*, *T. pereirae*, *T. pulchra*, *T. stenocarpa*, *T. urvilleana* e *T. semidecandra*.

Figura 2- Gráfico da distribuição dos principais metabólitos encontrados em plantas do gênero *Tibouchina*.



* Em outros metabólitos pode-se listar: benzoquinona, alcaloide, sal inorgânico, derivados fenólicos, ácido carboxílico, hidrocarboneto e éster de ácido graxo. Fonte: a autora.

Tabela 2- Relação das substâncias isoladas no gênero *Tibouchina*.

Espécies	Compostos isolados	Grupos Metabólitos	Referências
<i>T. ciliaris</i>	ácido elágico (109), canferol (1), 3'-O-β-D-ramnopiranosil quercetina (24), quercetina-3'-O-ramnosídeo (22), estigmasterol-4-en-3-ona (80), sitosterol (79), nonacosano (117), hentriacontano (116), tritriacontano (118).	Polifenol, flavonoide, esteroide, hidrocarboneto	COLORADO <i>et al.</i> , 2007; ISAZA <i>et al.</i> , 2007.
<i>T. candolleana</i>	ácido ursólico (67), ácido oleanólico (63), genisteína (14), luteolina (40), α-amirina (66), β-amirina (62), β-sitosterol (77).	Triterpeno, flavonoide, esteroide	SANTOS <i>et al.</i> , 2012.
<i>T. grandiflora</i> / <i>grandifolia</i> / <i>heteromalla</i>	malvidina-3-(p-coumaroil) sambubosídeo-5-glicosídeo (48), malvidina-3,5-diglicosídeo (49), peonidina-3-soforosídeo (56), ácido gálico (110), ácido protocatéquico (111), quercetina (15), quercetina-3-O-α-L-ramnopiranosídeo (24), quercetina-3-O-β-D-(6"-E-p-coumaroil)-glicopiranosídeo (25), quercetina-3-O-β-D-galactopiranosídeo (26), quercetina-3-O-β-D-glicopiranosídeo (27), quercetina-3-O-β-D-glicuronídeo (28), quercetina-3-O-β-L-arabinopiranosídeo (29).	Flavonoide, ácido carboxílico	BOBBIO <i>et al.</i> , 1985; KUSTER <i>et al.</i> , 2009.
<i>T. granulosa</i>	ácido oleico (113), pelargonidina (54), petunidina (57), rutina, isorhamnetina-3-O-glicuronídeo (39), hispidulina-7-O-glicosídeo (36), isorhamnetina-3-O-rutinosídeo (37), quercetina-3-(O-galoil)-hexosídeo (19), malvidina-3-(di-p-coumaroil xilosídeo)-5-glicosídeo (46), malvidina-3-(p-coumaroil xilosídeo)-5-glicosídeo (47).	Ácido graxo, flavonoide	OKUMURA <i>et al.</i> , 2002; SOBRINHO <i>et al.</i> , 2017; FRANCIS, 1982
<i>T. lepidota</i>	ácido 2,3,5-trihidroxibenzóico (112), ácido gálico (110), avicularina (32), isorhamnetina 3-rutinosídeo (37), malvidina-3-(coumaroilglicosídeo)-5-(acetilxilosídeo) (45), quercetina (15), quercetina 3-glicosídeo (16).	Ácido carboxílico, flavonoide	HENDRA e KELLER, 2016.
<i>T. multiflora</i>	Casuarinina (89), Nobotanino A (101), B (96), C (97), D (103), F (102), G (107), J (105), M (99), O (95), P (106), medinillina B (90), stachyurina (88), casuarictina (85), pedunculagina (84).	Taninos	YOSHIDA <i>et al.</i> , 1999 (a).

Continuação da Tabela 2

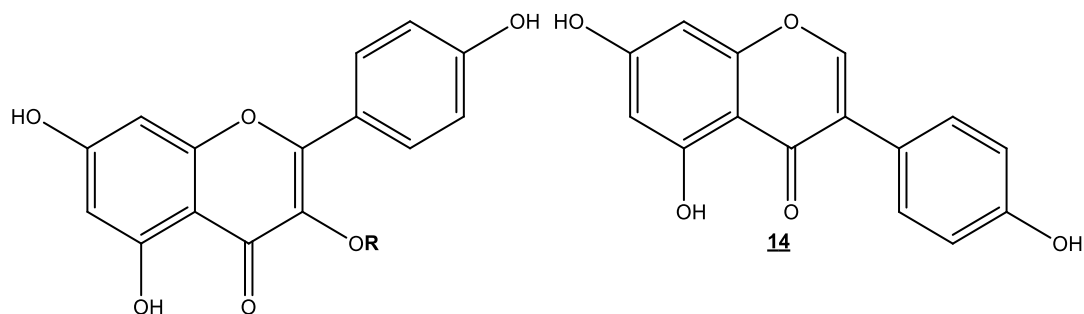
Espécies	Compostos isolados	Grupos Metabólitos	Referências
<i>T. paratropica</i>	2,8-dihidroxi-7H-furo[2,3-f]chromen-7-ona (120), isoquercitrina (27).	Derivado fenólico, flavonoide	TRACANNA <i>et al.</i> , 2015
<i>T. pereirae</i>	canferol 3-O-rutinosídeo (8), isoramnetina 3-O-(galoil)-glicosídeo (35), isoramnetina 3-O-glicosídeo (36), isoramnetina 3-O-rutinosídeo (37), quercetina 3-O-(galoil)-glicosídeo (19), quercetina 3-O-rutinosídeo (20).	Flavonoide	DIAS, 2013.
<i>T. pulchra</i>	2,6-dimetóxi-benzoquinona (108), canferol(1), canferol 3-O-galactosídeo (5), canferol 3-O-glicosídeo(6), luteolina (40), miricetina-3-O-glicosídeo (53), miricetina 3-O-galactosídeo (51), miricetina (50), ácido gálico (110), quercetina(15), canferol 3-O- β-D-glicopiranosídeo (2), canferol 3-O-(6"-O-galoil)-β-D-glicopiranosídeo (3), canferol 3-O-(6"-O-p-coumaroil)- β-D-glicopiranosídeo (4), canferol 3-O-glicuronídeo-6"-O-metilester (7), canferol-3-O-(galoil)-hexosídeo (9), canferol-3-(p-coumaroil)-hexosídeo (11), canferol-(2"-O-metil)-4'-O-α-D-glicopiranosídeo (13), malvidina-p-coumaroil-hexosídeo-5-acetilpentosídeo (45), miricetina galactosídeo (52), miricetina-3-O-glicosídeo (53), petunidina p-coumaroil-hexosídeo (58), quercetina 3-O-(6"-O-p-coumaroil)- β-D-glicopiranosídeo (18).	Ácido fenólico, benzoquinona, flavonoide	JONES <i>et al.</i> , 1980; MOTTA <i>et al.</i> , 2005; REZENDE <i>et al.</i> , 2019.
<i>T. stenocarpa</i>	ácido ursólico (67), ácido oleanólico (63), solasonina (114), solamargina (115), campesterol (78), estigmasterol (75), friedelina (70), lupeol (72), α-amirina (66), β-amirina (62), β-friedelanol (74), β-sitosterol (76).	Triterpeno, alcaloide, esteroide	CUNHA <i>et al.</i> , 2009.

Continuação da Tabela 2

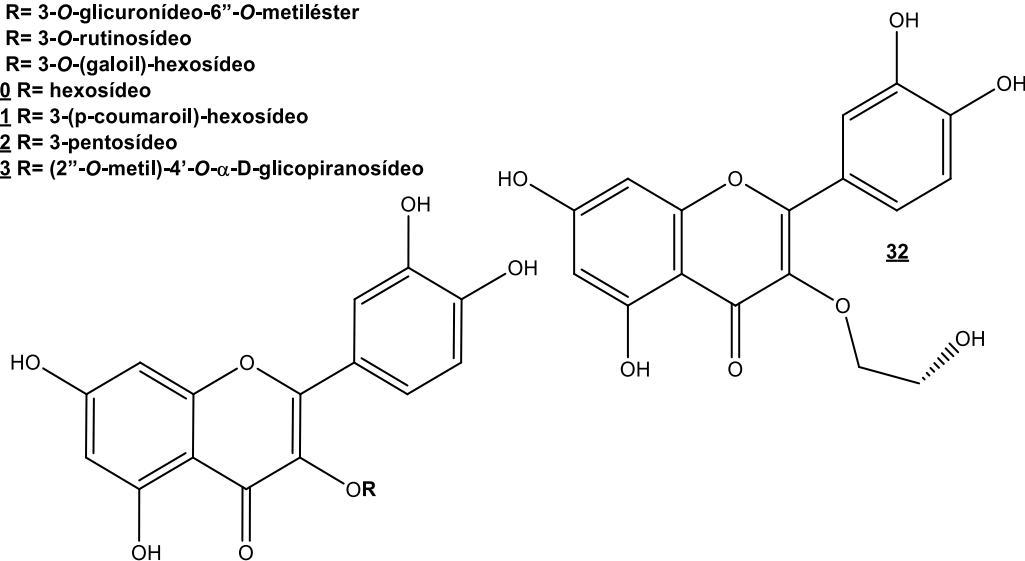
Espécies	Compostos isolados	Grupos Metabólitos	Referências
<i>T. urvilleana</i>	malvidina 3-O-[6-O-(E)-p-coumaril-β-D-glicopiranosil]-5-O-(2-O-acetil-β-D-xilopiranosil) (43), malvidina 3-(p-coumaroil)glicosídeo)-5-acetilxilosídeo (45), ácido asiático (69) e arjunólico (65), ácido ursólico (67), ácido oleanólico (63), glutinol (71), NH ₄ Cl (119), avicularina (32), hispidulina-7-O-β-D-glicopiranosídeo (33), taraxerol (73), α e β-amirina (66 e 62), β-sitosterol-β-D-glicopiranosídeo (77), β-sitosterol (76).	Flavonoide, triterpeno, sal inorgânico, esteroide	TERAHARA <i>et al.</i> , 1993; CASTORENA-PÉREZ, 2014.
<i>T. semidecandra</i>	malvidina-3,5-diglicosídeo (49), Nobotaninos: A (101), C (97), D (103), F(102), E (104), L (98), M (99), N (100), 1,2,3,6-tetra-O-galoil-β-D-glicose (91), 2,3-O-(S)-hexahidroxidifenoil-D-glicose (92), castalagina (83), casuarictina (85), casuarinina (89), vescalagina (87), pedunculagina (84), praecoxin A (82) e B (86), 6-O-galoil-2,3-O-(S)-hexahidroxidifenoil-D-glicose (93), quercetina 3-O-(6"-O-galoilgalactosídeo) (17), quercetina 3-O-α-L-arabinofuranosídeo (23), quercetina (15), avicularina (32), quercetina-3-O-α-L-(2"-O-acetil) arabinofuranosídeo (23), quercetina-3-O-α-L-ramnopiranosídeo (24), 23-etil-cholest-5-en-3-ol (81), ácido oleico (113), 3,3'-O-dimetil ácido elágico 4-O-α-L-rhamnopiranosídeo (94), quercetina-3-O-α-L-(2"-O-acetil) arabinofuranosídeo (23), β-sitosterol-O-β-D-glicopiranosídeo (77), malvidina 3-(p-coumaroil-glicosídeo)-5-glicosídeo (42).	Flavonoide, tanino, esteroide, ácido graxo, éster de ácido graxo.	HARBONE, 1964; YOSHIDA <i>et al.</i> , 1999 (b); YOSHIDA <i>et al.</i> , 1991; SIRAT <i>et al.</i> , 2010; REZALI, 2008.

Nas Figuras 3, 4, 5, 6 e 7 a seguir, estão apresentadas as estruturas químicas dos compostos químicos encontrados em espécies do gênero *Tibouchina*.

Figura 3- Estruturas químicas dos flavonoides isolados em espécies de *Tibouchina*.



- 1** R= H
2 R= 3-O- β -D-glicopiranosídeo
3 R= 3-O-(6''-O-galoil)- β -D-glicopiranosídeo
4 R= 3-O-(6''-O-p-coumaroil)- β -D-glicopiranosídeo
5 R= 3-O-galactosídeo
6 R= 3-O-glicosídeo
7 R= 3-O-glicuronídeo-6''-O-metiléster
8 R= 3-O-rutinosídeo
9 R= 3-O-(galoil)-hexosídeo
10 R= hexosídeo
11 R= 3-(p-coumaroil)-hexosídeo
12 R= 3-pentosídeo
13 R= (2''-O-metil)-4'-O- α -D-glicopiranosídeo

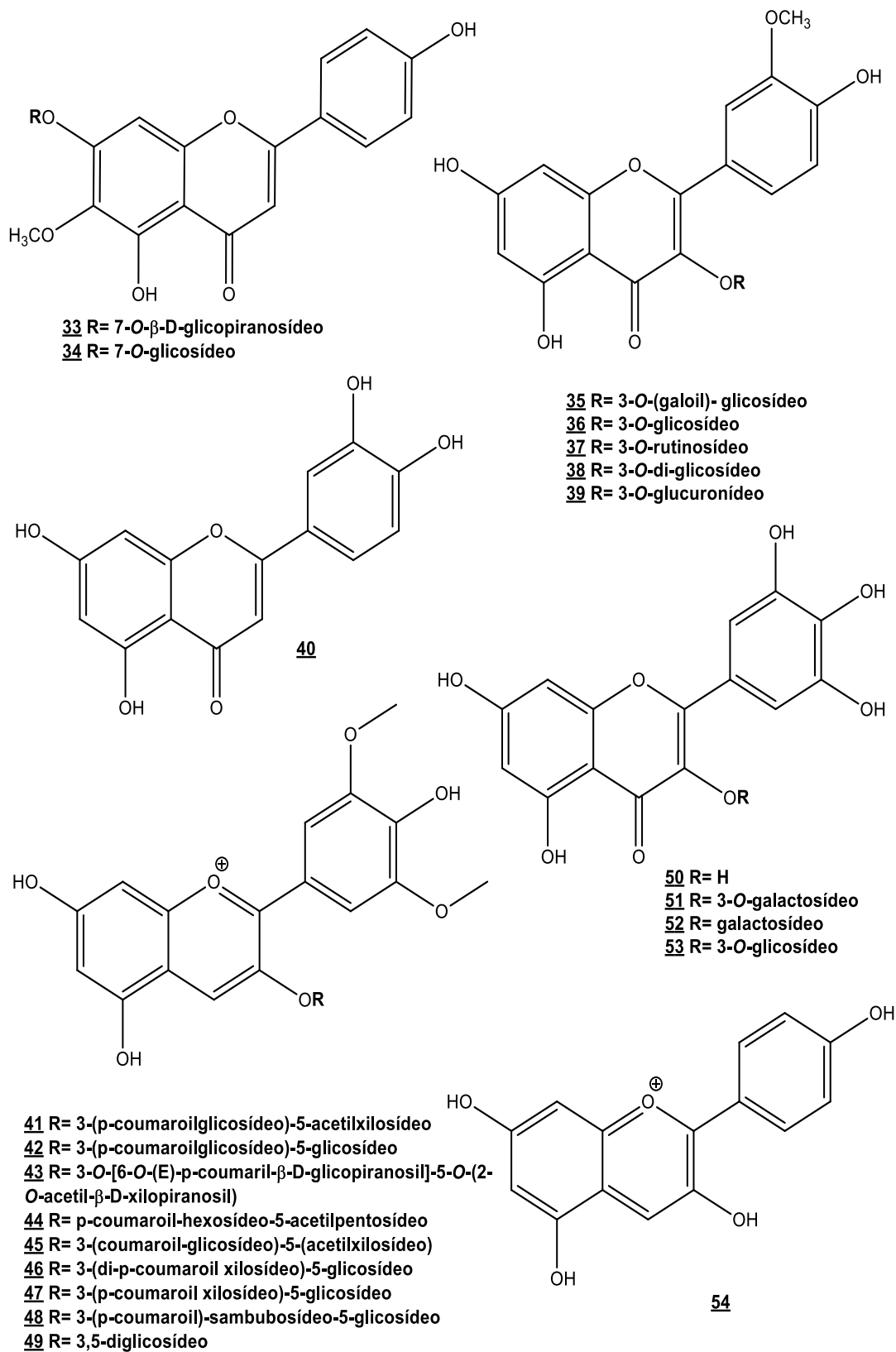


- 15** R= H
16 R= 3-glicosídeo
17 R= 3-O-(6''-O-galoil)-galactosídeo
18 R= 3-O-(6''-O-p-coumaroil)- β -D-glicopiranosídeo
19 R= 3-O-(galoil)- glicosídeo
20 R= 3-O-rutinosídeo
21 R= 3-O- α -L-arabinofuranosídeo
22 R= 3'-O-ramnosídeo
23 R= 3-O- α -L-(2''-O-acetil) arabinofuranosídeo
24 R= 3-O- α -L-ramnopiranosídeo
25 R= 3-O- β -D-(6''-E-p-coumaroil)-glicopiranosídeo

- 26** R= 3-O- β -D-galactopiranosídeo
27 R= 3-O- β -D-glicopiranosídeo
28 R= 3-O- β -D-glicuronídeo
29 R= 3-O- β -L-arabinopiranosídeo
30 R= 3-(O-galoil)-hexosídeo
31 R= 3-(O-galoil)-galactosídeo

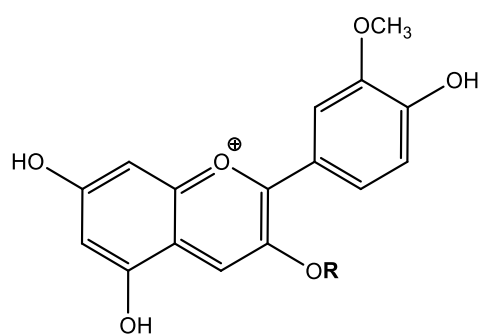
Legenda: **1** canferol; **2** a **13** canferol glicosilado; **14** genisteína; **15** quercetina; **16** a **31** quercetina glicosilada; **32** avicularina.

Continuação da Figura 3

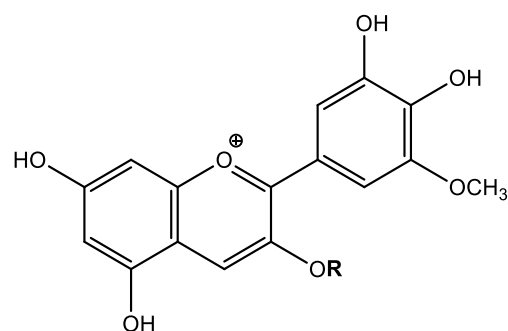


Legenda: **33** e **34** hispidulina glicosilada; **35** a **39** isoramnetina glicosilada; **40** luteolina; **41** a **49** malvidina glicosilada; **50** miricetina; **51** a **53** miricetina glicosilada; **54** pelargonidina.

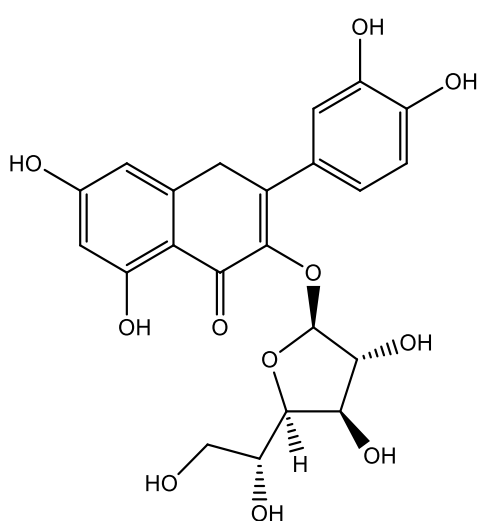
Continuação da Figura 3



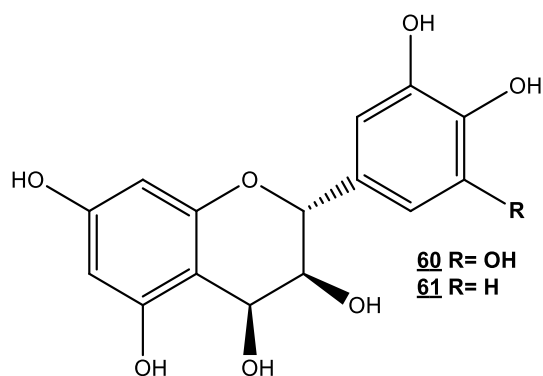
55 R= 3-sambubiosídeo
56 R= 3-soforosídeo



57 R= H
58 R= p-coumaroil-hexosídeo acetilpentosídeo



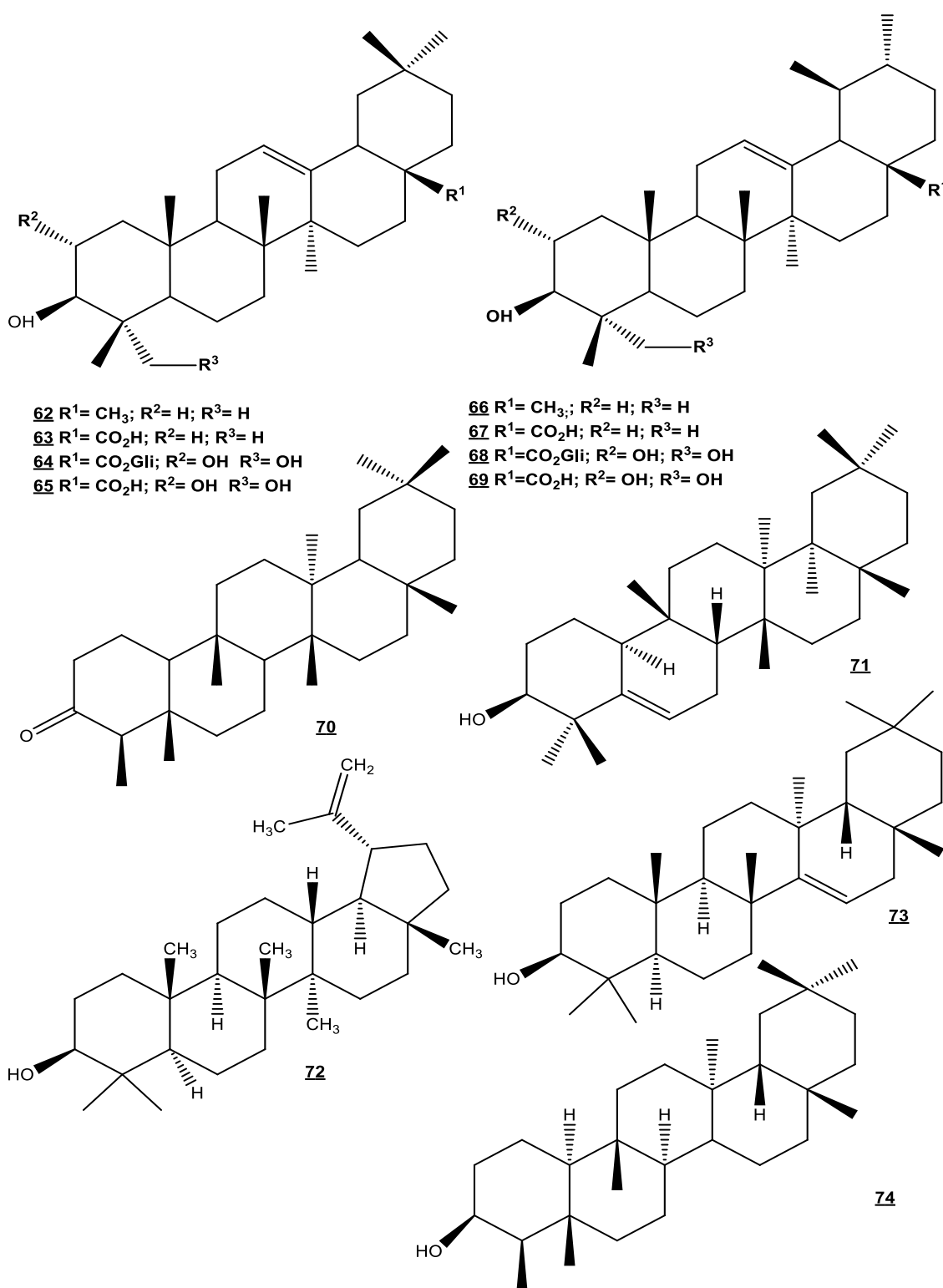
59



60 R= OH
61 R= H

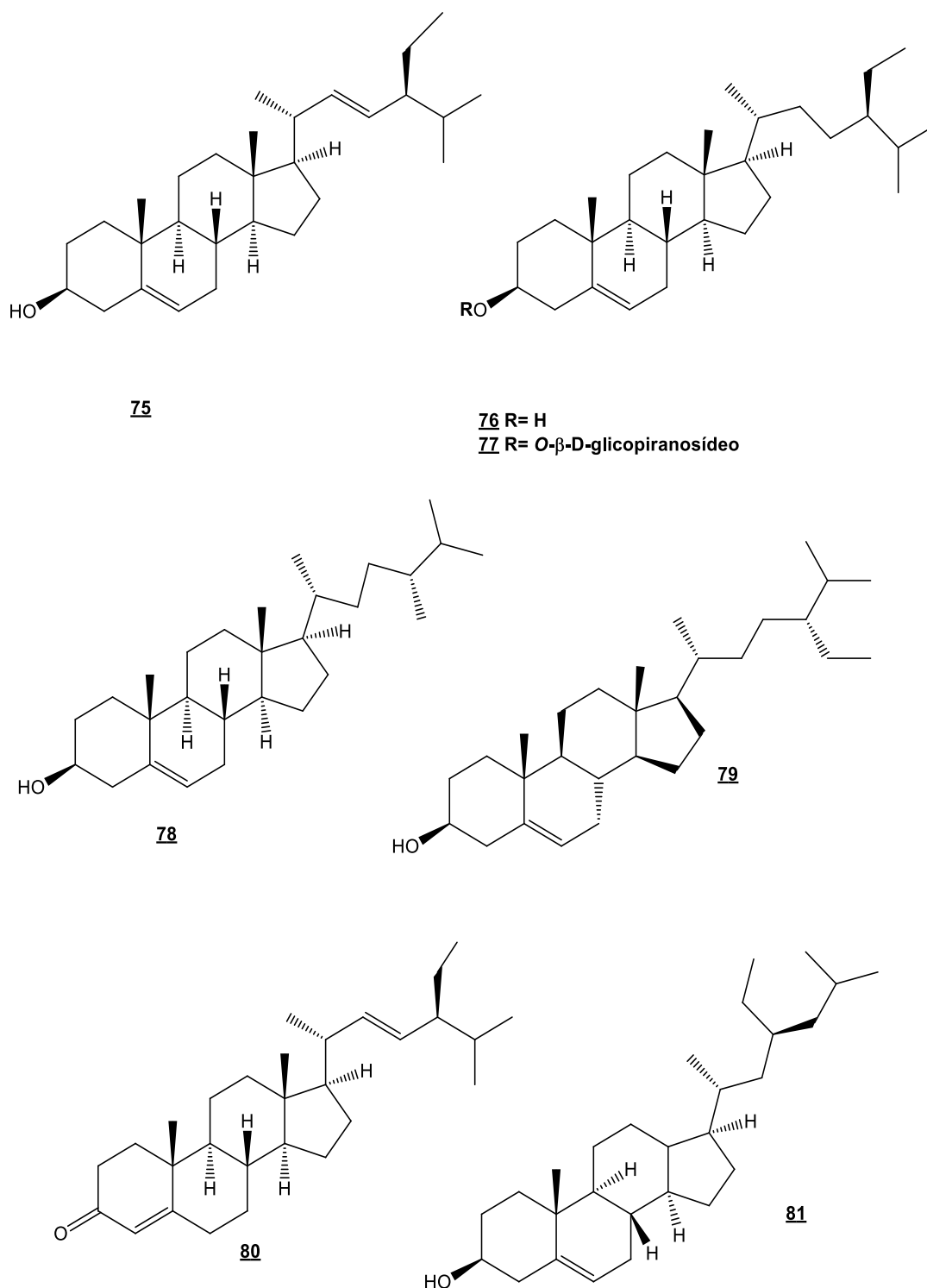
Legenda: **55** e **56** peonidina glicosilada; **57** petunidina; **58** petunidina glicosilada; **59** isoquercitrina; **60** leucodelphinidina; **61** leucocianidina.

Figura 4- Estruturas químicas dos triterpenos isolados no gênero *Tibouchina*.



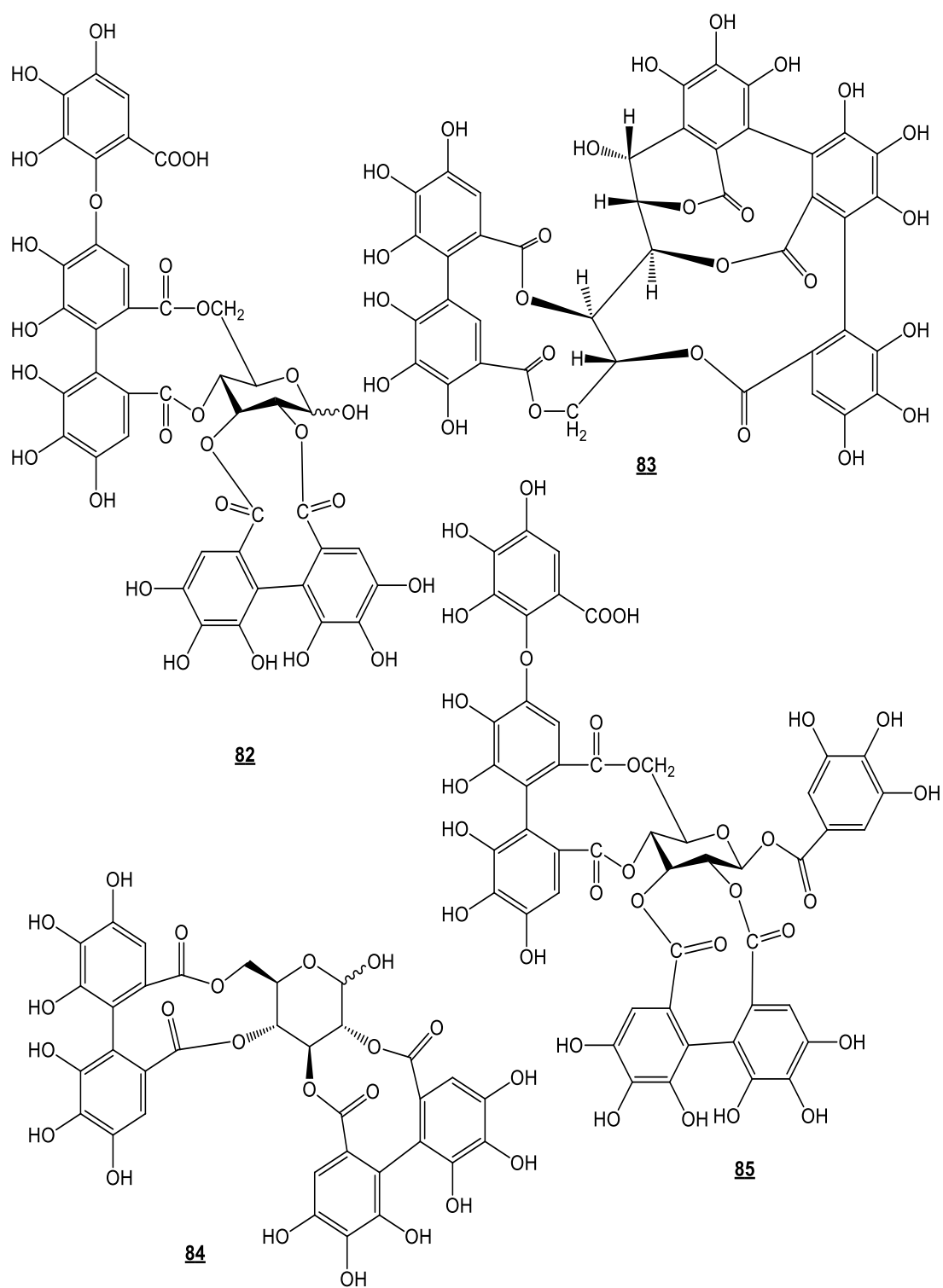
Legenda: **62** β -amirina; **63** ácido oleanólico; **64**; arjunglicosídeo II; **65** ácido arjunólico; **66** α -amirina; **67** ácido ursólico; **68** quadranosídeo IV; **69** ácido asiático; **70** friedelina; **71** glutinol; **72** lupeol; **73** taraxerol; **74** β -friedelanol.

Figura 5- Estruturas químicas de esteroides entrados no gênero *Tibouchina*.



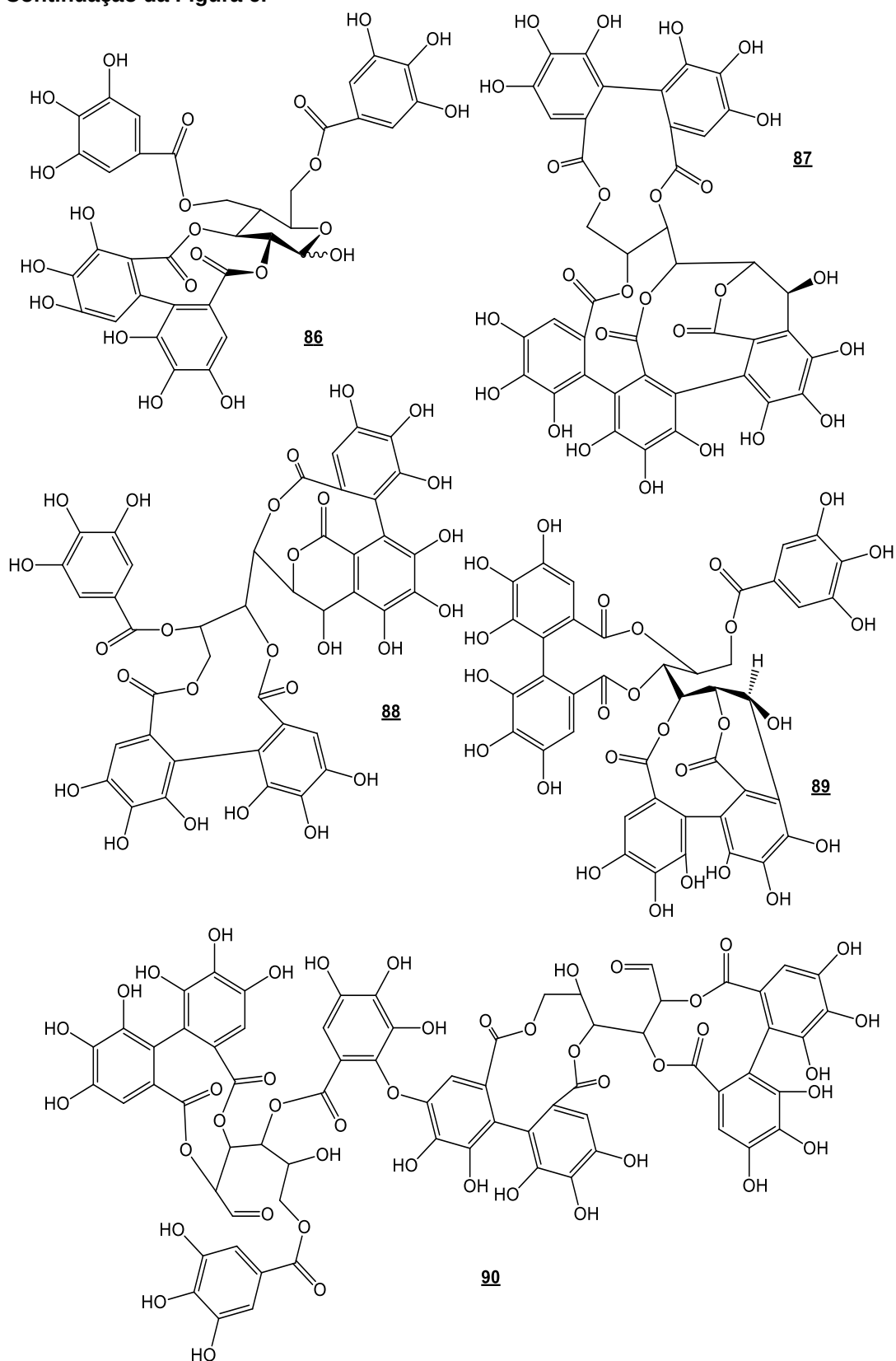
Legenda: **75** estigmasterol; **76** β-sitosterol; **77** β-sitosterol glicosilado; **78** campesterol; **79** sitosterol; **80** estigmaste-4-en-3-ona; **81** 23-etil-cholest-5-en-3-ol.

Figura 6- Estruturas químicas de taninos encontrados no gênero *Tibouchina*.



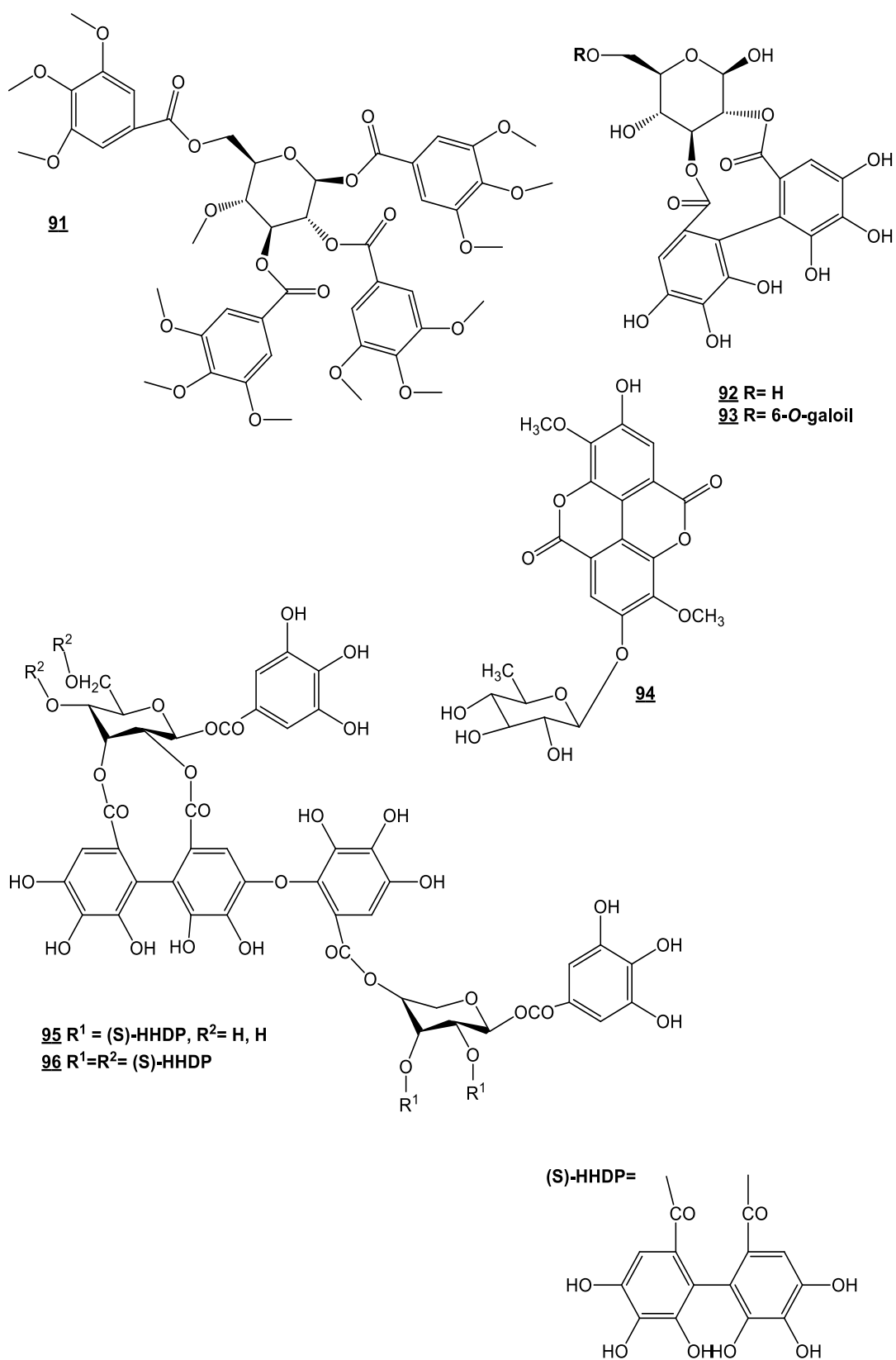
Legenda: **82** praecoxin A; **83** castalagina; **84** pedunculagina; **85** casuarictina.

Continuação da Figura 6.



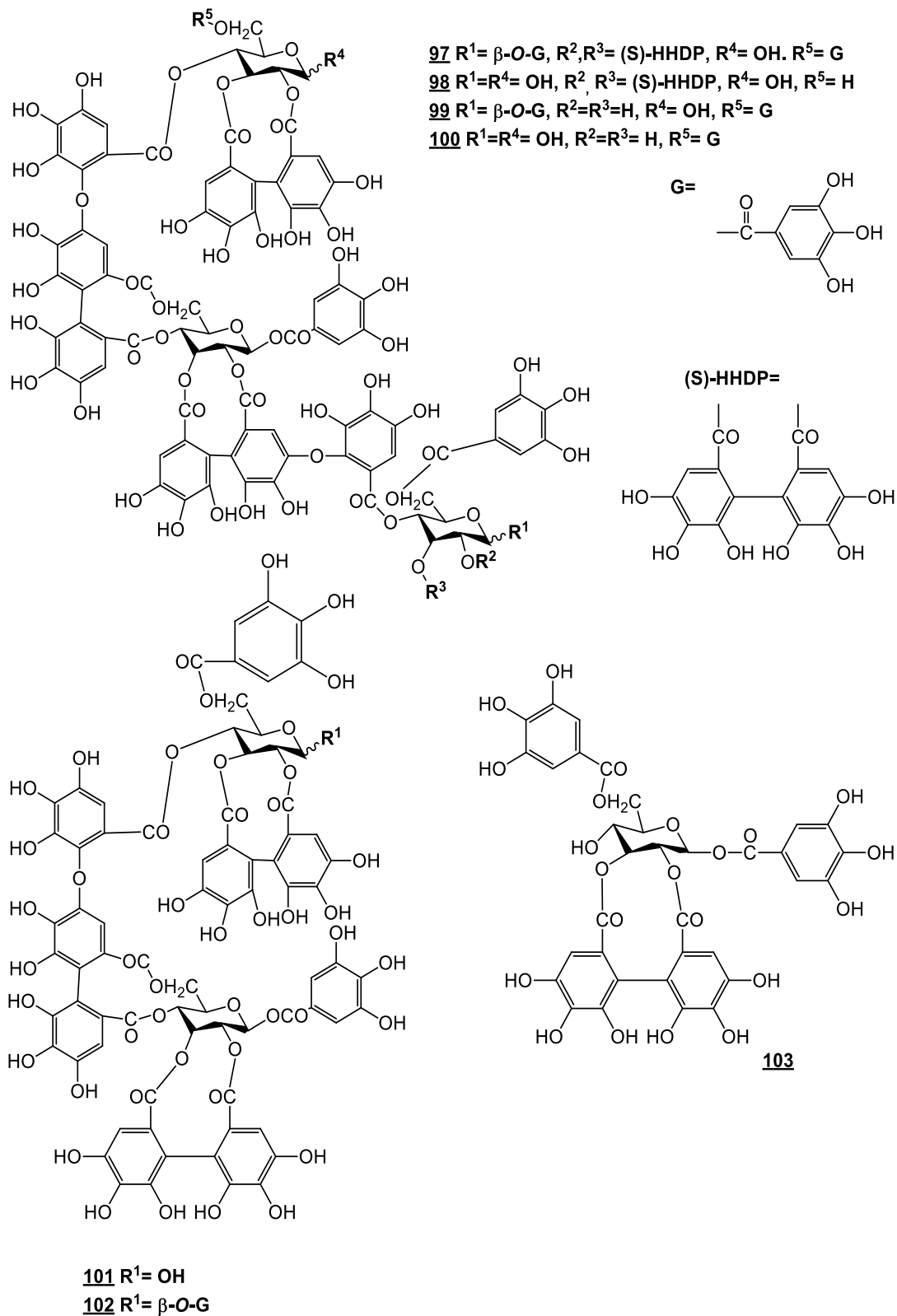
Legenda: **86** praecoxin B; **87** vescalagina; **88** stachyurina; **89** casuarinina; **90** medililina B;

Continuação da Figura 6.



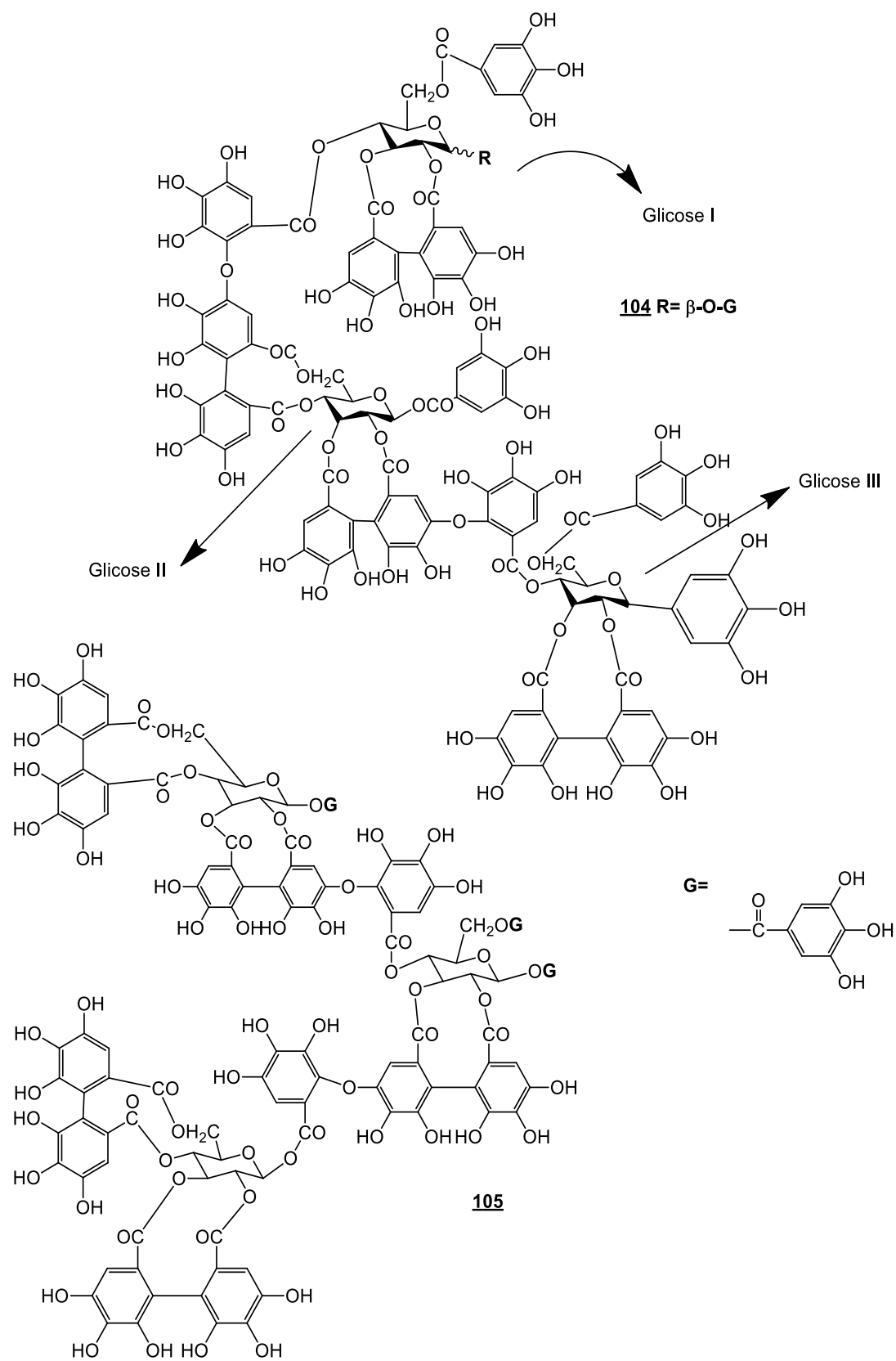
Legenda: **91** 1,2,3,6-tetra-O-galloyl-β-D-glicose; **92** 2,3-O-(S)-hexahidroxidifenol-D-glicose; **93** 6-O-galloyl-2,3-O-(S)-hexahidroxidifenol-D-glicose; **94** 3,3'-O-dimetil ácido elágico 4-O-α-L-ramnopiranosídeo; **95** nobotanino O; **96** nobotanino B.

Continuação da Figura 6.



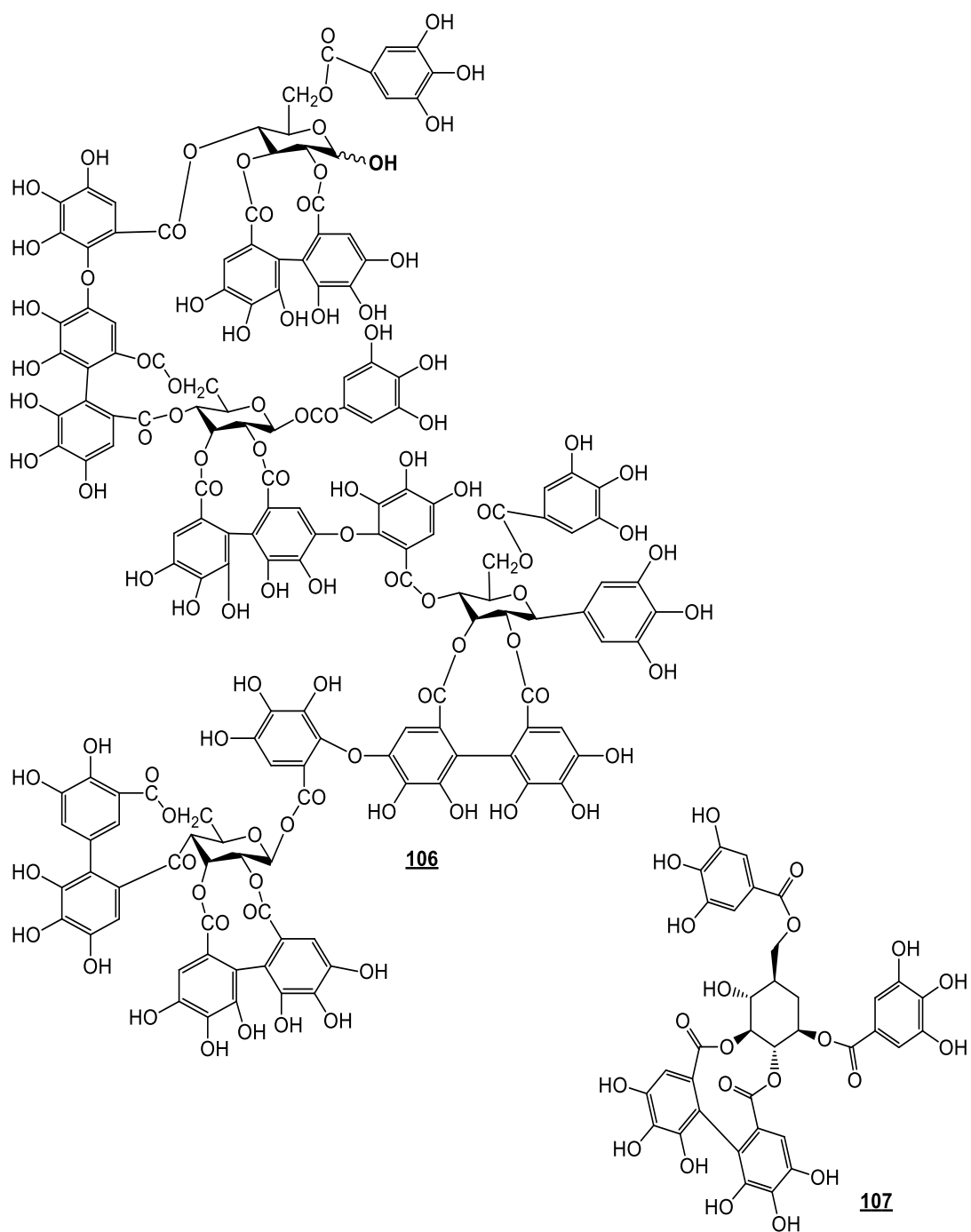
Legenda: **97** nobotanino C; **98** nobotanino L; **99** nobotanino M; **100** nobotanino N; **101** nobotanino A; **102** nobotanino F; **103** nobotanino D.

Continuação da Figura 6.



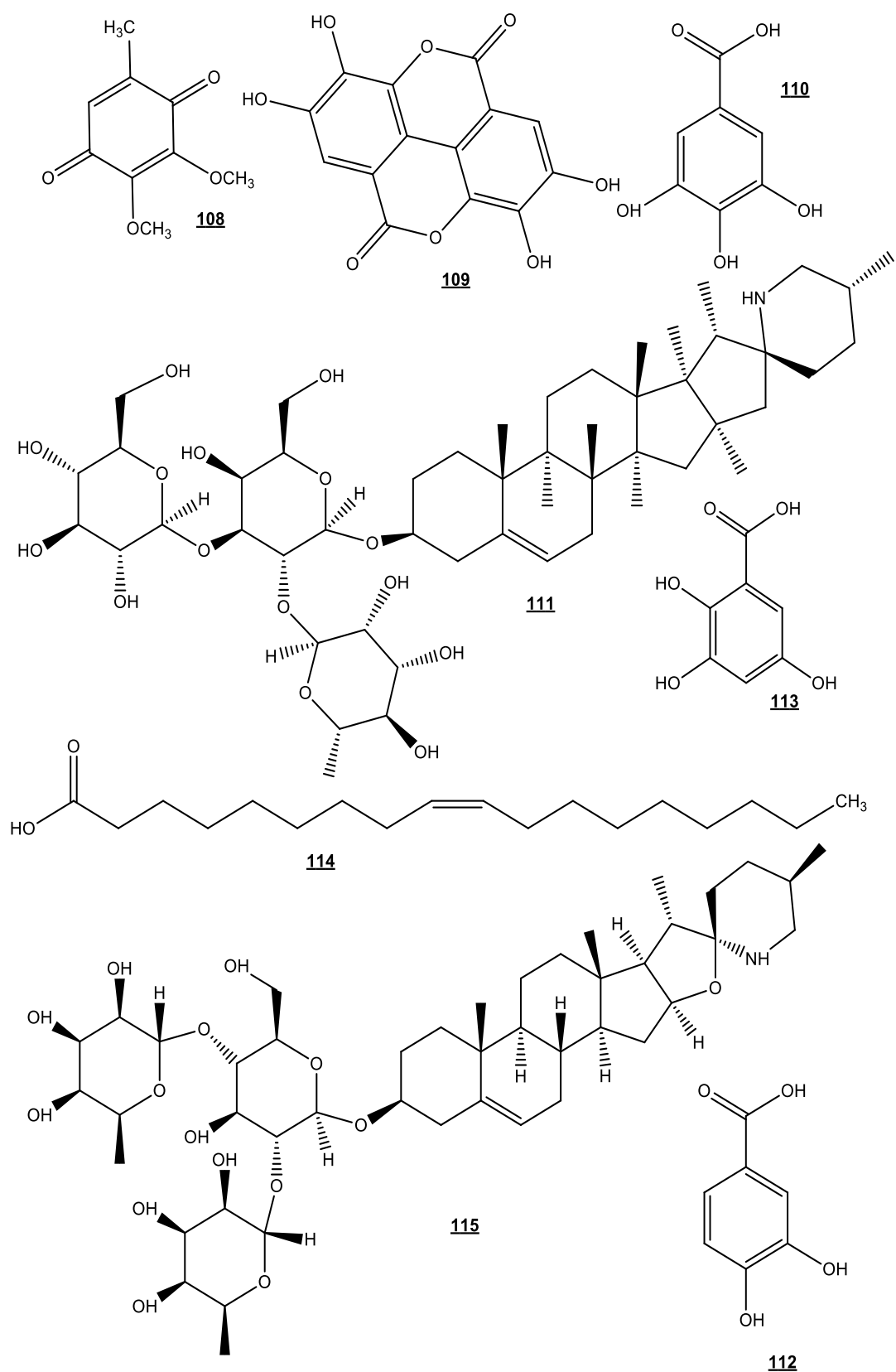
Legenda: **104** nobotanino E; **105** nobotanino J.

Continuação da Figura 6.



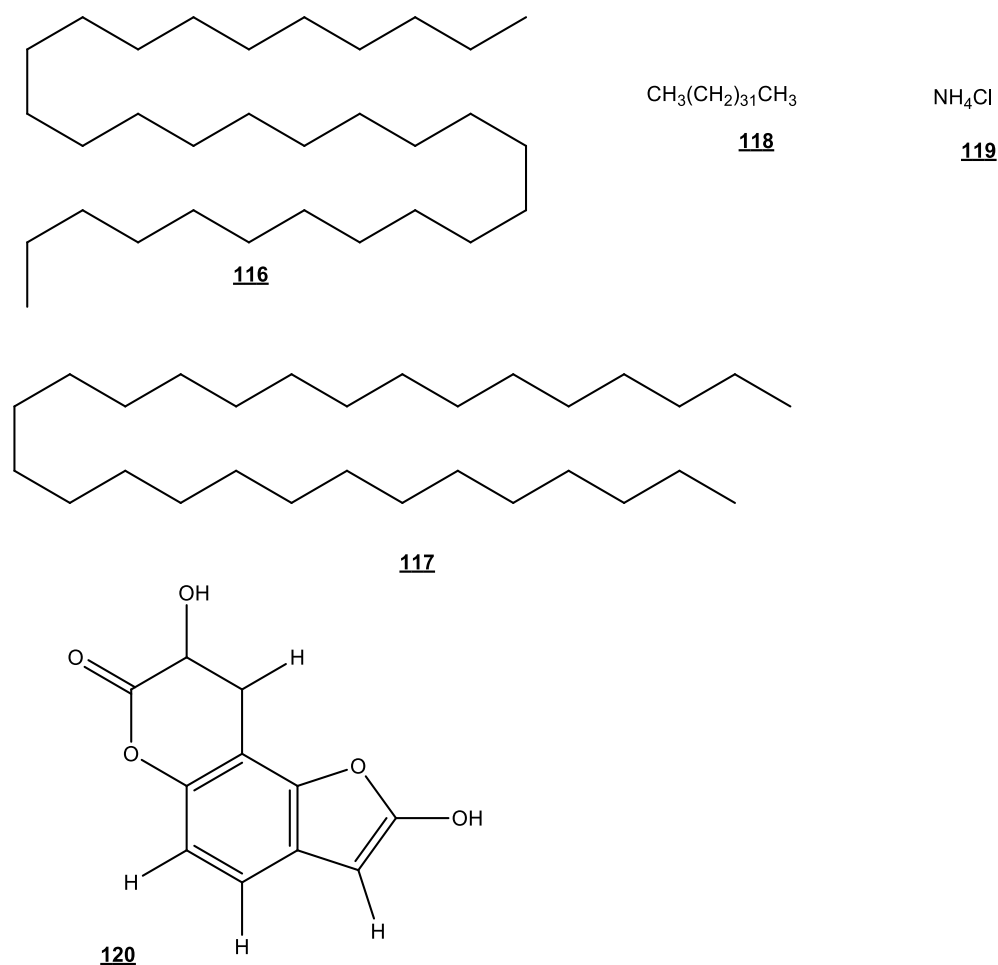
Legenda: **106** nobotanino P; **107** nobotanino G.

Figura 7- Estruturas químicas de outras substâncias químicas encontradas no gênero *Tibouchina*.



Legenda: Benzoquinona: **108** 2,6-dimetóxi benzoquinona. Ácidos carboxílicos: **109** ácido elágico; **110** ácido gálico; **111** ácido protocatéquico; **112** ácido 2,3,5-trihidróxibenzóico; **113** ácido oleico; Alcalóides: **114** solasonina; **115** solamargina.

Continuação da Figura 7.



Legenda: Hidrocarbonetos: **116** hentriacontano; **117** nonacosano; **118** tritriacontano; Sal inorgânico: **119** Cloreto de amônio; Derivado fenólico: **120** 2,8-dihidroxi-7H-furo[2,3-f]chromen-7-ona.

2.4 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE *Tibouchina papyrus*

Tibouchina papyrus (Pohl) Toledo (Melastomataceae) também conhecida como *Tibouchina papyrifera* Cogn., *Lasiandra papyrus* Pohl, e popularmente por “pau-papel” é uma espécie endêmica encontrada no Cerrado rupestre, em regiões rochosas do Bioma Cerrado. Devido seu endemismo natural e à especificidade do *habitat* é considerada uma espécie vulnerável. Suas pequenas sementes não são aladas, o que limita sua dispersão, por difusão ou em salto, e consequentemente a expansão das populações (COLLEVATI *et al.*, 2012; MARACAHIPES *et al.*, 2012).

A floração dessa espécie ocorre entre os meses de dezembro e junho, sendo o pico ao final da estação chuvosa (março a abril). As flores possuem coloração púrpura e a polinização ocorre principalmente por abelhas grandes do gênero *Xylocopa* spp., *Bombus* spp. e *Centris* spp. A frutificação estende-se de fevereiro a outubro, com o amadurecimento ocorrendo no período de seca. Uma característica da espécie é a ocorrência da caducifolia (Figura 8) entre os meses de maio e junho e a permanência do indivíduo em estado vegetativo até os meses de setembro e outubro (MONTORO e SANTOS, 2007).

Figura 8- Espécie em floração e em estado vegetativo, em decorrência da caducifolia, no mesmo período (floração assíncrona), Serra dos Pirineus, Goiás, Brasil.

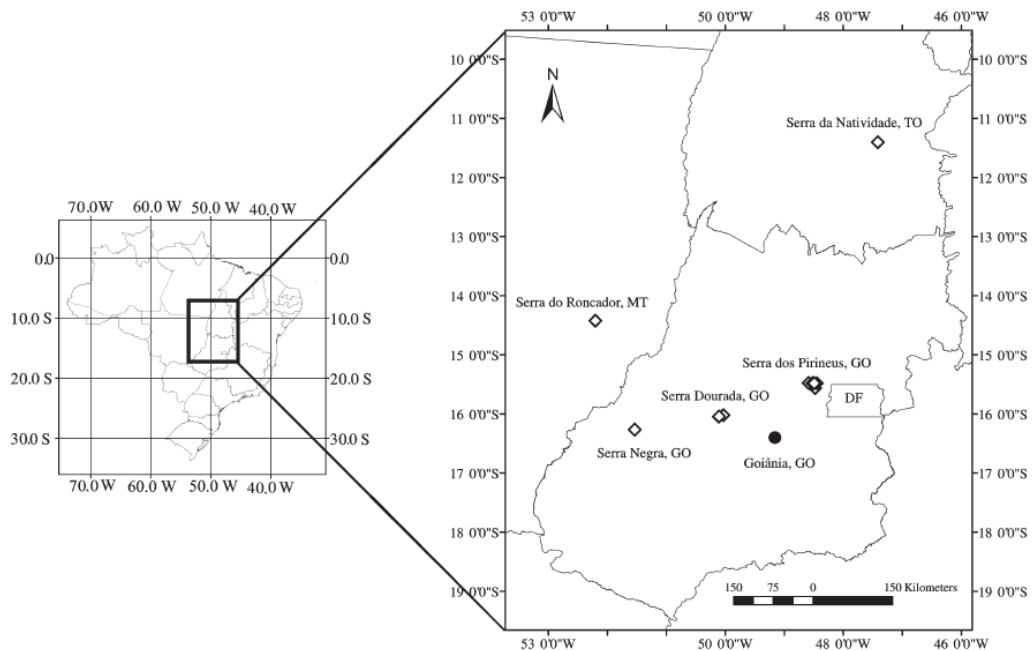


Fonte: a autora.

Há relatos de ocorrência da espécie nas seguintes localidades: Serra dos Pirineus (Pirenópolis e Cocalzinho de Goiás, GO), Serra Dourada (Mossâmedes, GO), Serra Negra (Piranhas, GO), Serra da Natividade (Natividade, TO) e Parque Bacaba (Nova Xavantina, MT), representadas na Figura 9. Apresentam-se como arvoretas de 2 a 3 m de altura, com caule rosado com ritidoma esfoliando-se em membranas papiráceas. Folhas

opostas, pecioladas com pecíolos de 0,5 - 1 cm. A floração é assíncrona, o que promove a movimentação dos polinizadores, comportamento que faz com que ocorra a polinização cruzada, também ocorre a autopolinização, essa variabilidade permite maior fluxo gênico para a espécie (MONTORO e SANTOS, 2007; MARACAHIPES *et al.*, 2012; VERSIANE *et al.*, 2016).

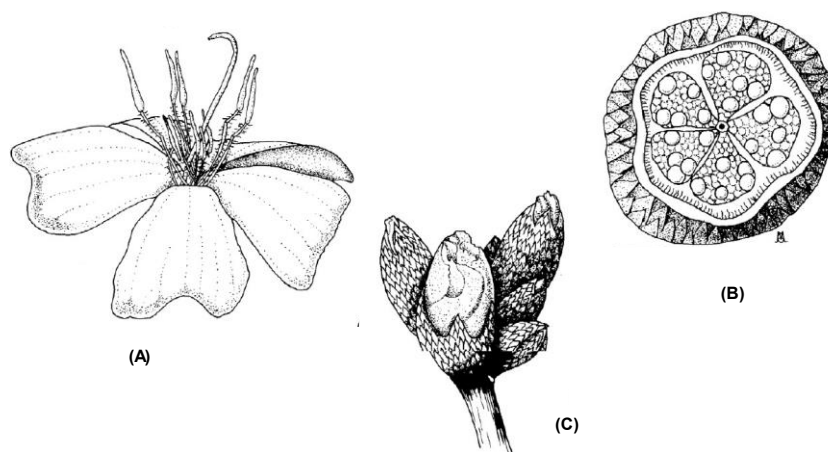
Figura 9- Distribuição da espécie em território brasileiro.



Fonte: Adaptado de Maracahipes *et al.* (2012).

Apresentando inflorescência com panícula, com cerca de 15 a 20 botões, a corola é violeta e dela partem 10 estames dimorfos que apresentam filetes alongados e pilosos (Figura 10). As anteras são poricidas e o ovário apresenta 5 lóculos com muitos óvulos por lóculo (MONTORO e SANTOS, 2007).

Figura 10- Aspectos gerais das inflorescências de *T. papyrus*.



Legenda: **(A)** Aspecto geral da flor; **(B)** Corte transversal do ovário; **(C)** Inserção dos botões florais em inflorescência panícula. Fonte: Adaptado de Montoro e Santos (2007).

2.5 TRIAGEM DE TOXICIDADE EM EXTRATOS DE PLANTAS

Dentre as diversas possibilidades de realizar um estudo toxicológico de plantas para comprovar a sua possível ação tóxica, algumas condições precisam ser levadas em consideração como: a dose, o tempo, a frequência e a via de administração. O emprego de organismos simples como *Artemia salina*, são mais comuns para ensaios de toxicidade preliminar. Estes ensaios são essenciais no estudo de compostos com potencial atividade biológica e para orientar o fracionamento em estudos fitoquímicos ou de produtos naturais (FERREIRA *et al.*, 2017).

O ensaio com *A. salina*, microcrustáceo da ordem Anostraca, geralmente é utilizado para rastrear substâncias tóxicas em produtos naturais. É empregado pela simplicidade de execução e pelo custo-benefício. Essa espécie marinha é um bioindicador, sendo seu grau de tolerância em relação a um fator ambiental reduzido e específico, apresentando resposta direta frente a pequenas variações no ambiente (MEYER *et al.*, 1982; CARVALHO *et al.*, 2009).

Ensaio de toxicidade em animais inferiores (invertebrados, micro-organismos, plantas ou algas) permitem a detecção de compostos presentes em pequenas quantidades nos extratos de plantas e sua avaliação se dá pelo cálculo da concentração letal média (CL₅₀) (MEYER *et al.*, 1982). O método *in vivo* apresenta resultados da dose e sua aplicação é classificada como estudo de toxicidade aguda, por realizar a leitura de uma dose única empregada no ensaio, por um período de análise de 24 h, proporcionando respostas a nível celular.

2.6 ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *in vitro*

Infecções causadas por bactérias resistentes à antibióticos como *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, têm sido fonte de pesquisas por causarem morbidade e mortalidade significativas. Essas e outras infecções resistentes impactam pacientes hospitalizados e não hospitalizados saudáveis em todo o mundo. A ausência de progresso no desenvolvimento da nova terapêutica para tratar infecções multirresistentes, incluindo as causadas por bactérias Gram negativas, tem preocupado a Sociedade Americana de Doenças Infecciosas (*Infectious Diseases Society of America* - IDSA) (BOUCHER *et al.*, 2013).

Estudos direcionam para a descoberta de novos agentes antibacterianos a partir de produtos naturais, com objetivo de encontrar compostos com atividade semelhante à de compostos tradicionalmente utilizados, porém com menor toxicidade, gerando menor impacto ambiental (DE BONA *et al.*, 2014).

Diferentes métodos podem ser utilizados para realizar bioensaios de atividade antibacteriana como: difusão em ágar por poço, disco-difusão e macro e microdiluição em caldo. Para a determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) e da Concentração Mínima Bactericida (CMB) com extratos vegetais, o método mais utilizado é o de microdiluição em caldo sendo preconizado pelo CLSI (DE BONA *et al.*, 2014).

O método de microdiluição em caldo é barato e possui reprodutibilidade, sendo mais sensível que outros métodos e requer pequena quantidade de amostra. Este considera a proporção de crescimento do micro-organismo testado no meio líquido e a concentração da substância ensaiada, sendo comparada frente ao padrão biológico de referência. Os controles positivos utilizados na técnica são agentes antimicrobianos, como por exemplo, a gentamicina e o cloranfenicol. A técnica ainda conta com um controle negativo: o meio de cultura com o DMSO 5% e a suspensão bacteriana (OSTROSKY *et al.*, 2008).

O Protocolo para realização deste bioensaio é recomendado pela *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI), em testes de susceptibilidade antimicrobiana por diluição de agentes antimicrobianos em caldo (CLSI, 2016). A CMI é a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano, visível a olho nu (ARAUJO e LONGO, 2017). Para as concentrações que apresentaram valores de CMI dentro faixas testadas, são analisados se estes valores de concentração também são bactericidas (CMB), o resultado se dá pelo crescimento ou não de novas colônias bacterianas em meio de cultura.

Os estudos biológicos com os extratos e frações direcionam os fracionamentos e conseqüentemente o isolamento de substâncias bioativas, seja por ação sinérgica ou individual.

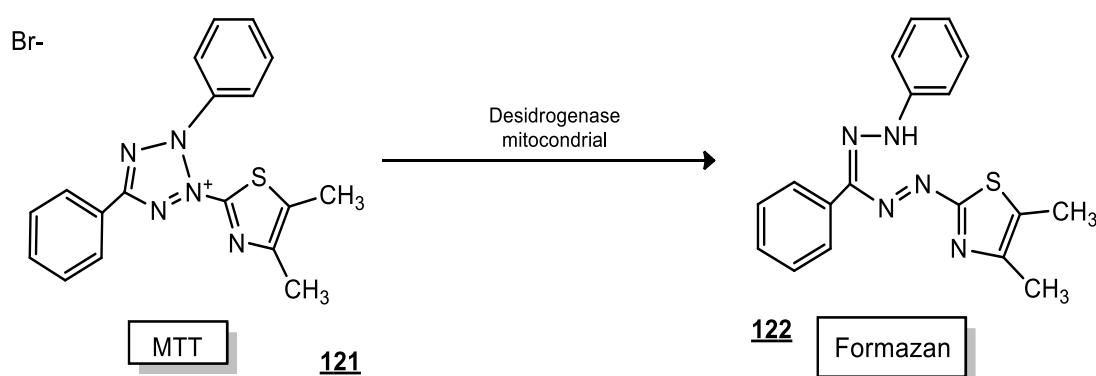
2.7 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE *in vitro*

Utilizados para triar moléculas que possuem efeitos na proliferação celular ou que são tóxicos e podem conduzir as células à morte, os ensaios de viabilidade celular avaliam qualitativamente e quantitativamente as células metabolicamente ativas em ensaio em placa de 96 poços, testando vários extratos ou substâncias ao mesmo tempo. Cada tipo de ensaio apresenta uma abordagem específica para detectar diferentes aspectos da viabilidade

celular, como integridade celular, proliferação de células e funções metabólicas (SCHRÖTEROVÁ *et al.*, 2009).

A avaliação metabólica celular serve como parâmetro para indicar a viabilidade ou proliferação celular na presença de um composto cuja atividade será verificada. A análise de citotoxicidade realizada pelo método do MTT foi descrita primeiramente por Mossman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É um método de análise colorimétrico baseado na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazólio (MTT, estrutura **121**) em formazan (estrutura **122**) (Figura 11), a partir de enzimas mitocondriais, como por exemplo a succinil-desidrogenase, presentes somente nas células metabolicamente ativas.

Figura 11: Reação de redução do MTT a formazan a partir da ação das enzimas mitocondriais.



Fonte: Adaptado de Magalhães, Thá e Leme (2018).

Apesar de existirem diversos testes colorimétricos para a determinação da citotoxicidade de agentes químicos, o teste do MTT é um dos mais utilizados devido à sua sensibilidade de detecção de citotóxicos e reprodutibilidade. O teste quantifica o dano induzido por um agente no metabolismo celular de glicídeos, pela avaliação da atividade de desidrogenases mitocondriais. A viabilidade mitocondrial e, conseqüentemente, a viabilidade celular, é então quantificada. Dessa forma, a intensidade da cor roxo/lilás, relativa aos cristais de formazan que foram exocitados das células, é diretamente proporcional à atividade mitocondrial e à viabilidade celular (MOSMANN, 1983).

Após a adição do DMSO, os cristais de formazan são solubilizados e a leitura da absorbância é realizada em espectrofotômetro de elisa, utilizando a faixa de comprimento de onda de 540 nm. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação, ou diferenciar entre efeitos citotóxicos e citostáticos (BERRIDGE *et al.*, 1996). Algumas substâncias apresentam potencial redutor com isso permitem um falso resultado negativo, deve-se levar em consideração também parâmetros como o pH do meio (DOLABELA, 1997).

Os resultados obtidos correlacionam o número de células viáveis com a absorbância produzida no processo de redução do MTT a formazan. A porcentagem de inibição celular é definida pela média das três repetições $\pm$ desvio padrão da média (DPM) (PIRES *et al.*, 2011). Sendo determinada também por:

$$\text{Inibição Celular(\%)} = \frac{\text{Absorbância do Tratamento}}{\text{Absorbância do controle negativo}} \times 100$$

A viabilidade celular é calculada com base nos dados de absorbância obtidos, como segue:

$$\text{Viabilidade(\%)} = \frac{(\text{absorbância amostra} - \text{absorbância branco})}{(\text{absorbância controle negativo} - \text{absorbância branco})} \times 100$$

Os valores da Concentração Inibitória média (CI₅₀) são obtidos através de regressão linear, usando softwares de análise estatística.

Os testes na linhagem de L929 são realizados com objetivo de obter dados para o cálculo do índice de seletividade (IS), que indica se uma substância é seletiva a um determinado composto entre uma linhagem neoplásica e uma normal. O resultado direciona o potencial da utilização deste composto em estudos futuros na respectiva linhagem neoplásica avaliada. O cálculo deste índice corresponde à divisão entre o valor da CI₅₀ de cada composto-teste na linhagem de células não tumorais (L929) e o valor da CI₅₀ de cada composto na linhagem de células neoplásicas:

$$\text{IS} = \frac{\text{CI}_{50} \text{ (L929)}}{\text{CI}_{50} \text{ (células neoplásicas)}}$$

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o perfil fitoquímico e o potencial biológico da espécie *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter os extratos hexânico, acetato de etila e metanólico das folhas e dos galhos de *T. papyrus*.
- Identificar as principais classes de metabólitos presentes na espécie através de ensaios de prospecção;
- Realizar *screening* de toxicidade com os extratos frente à *Artemia salina*;
- Determinar a Concentração Mínima Inibitória (CMI) dos extratos frente à *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*;
- Determinar a Concentração Mínima Bactericida (CMB) dos extratos;
- Investigar o potencial citotóxico dos extratos de *T. papyrus* em ensaio *in vitro* frente às linhagens celulares HL60, HCT-116, MCF-7, PC3, SNB-19 e L929;
- Isolar substâncias presentes nos extratos de *T. papyrus*;
- Elucidar as estruturas dos constituintes químicos isolados.

4. MATERIAIS E MÉTODO

4.1 MATERIAIS E REAGENTES

Tabela 3- Relação dos reagentes utilizados.

Reagente	Marca
Processo de extração e purificação	
Hexano	Anidrol, Synth e Neon
Metanol	Anidrol, Synth e Neon
Acetato de Etila	Anidrol, Synth e Neon
Clorofórmio	Anidrol, Synth e Neon
Diclorometano	Anidrol
Acetona	Anidrol, Synth e Neon
Sílica gel 70-230 Mesh	Neon
Sílica gel 230-400 Mesh	Neon
Metanol deuterado	Cambridge Isotope Laboratories
Clorofórmio deuterado	Cambridge Isotope Laboratories
Toxicidade preliminar	
Tween 80	Synth
DMSO	Neon
Sal marinho	---
Extrato de levedura	---
Dicromato de potássio	Vetec
Atividade antibacteriana	
Caldo Müller Hinton	HIMEDIA
Ágar Müller Hinton	KASVI
Cloranfenicol	Fisher bioagents
Sulfato de Gentamicina	Sigma
Resazurina	Vetec
Cloreto de sódio	Neon
Glicerina	Synth

Tabela 4- Relação de equipamentos utilizados.

Equipamento	Modelo/ marca
Evaporador rotativo	Quimis Q344B
Autoclave	-----
Câmara de fluxo	-----
Estufa com circulação de ar	Modelo MA035, marca Marconi
Moinho de facas	Modelo MA580, marca Marconi
Balança analítica	Mettler P163
Espectrômetro	Bruker Advanced III – 500 MHz/11,75 Tesla

Tabela 5- Linhagens celulares utilizadas no ensaio de citotoxicidade *in vitro* pelo método MTT.

Código	Linhagem celular
HL60	Leucemia promielocítica
HCT-116	Carcinoma de cólon humano
MCF-7	Carcinoma de mama
PC3	Carcinoma de próstata
SNB-19	Astrocitoma
L929	Fibroblasto murinho

Tabela 6- Bactérias e seus códigos ATCC, utilizadas no bioensaio de atividade antibacteriana.

Bactéria investigada	ATCC
Gram Positivas	
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228
Gram Negativas	
<i>Escherichia coli</i>	25312
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853

4.1.1 PREPARO DA REVELADOR DE VANILINA

Foram utilizados 3,0 g de vanilina, 30 mL de H₂SO₄, 135 mL de H₂O e 135 mL de metanol. Em um béquer adicionou-se a água, o metanol e a

vanilina, misturou-se e em banho de gelo, adicionou-se o ácido sulfúrico lentamente e em agitação constante.

4.1.2 PREPARO DA SOLUÇÃO FISIOLÓGICA ESTÉRIL 0,9%

Pesou-se 9 g de cloreto de sódio, dissolvendo-se em 1000 mL de água destilada. Levou-se a solução em autoclave por 15 min.

4.1.3 PREPARO DO MEIO DE CULTURA MÜLLER HINTON (CALDO OU ÁGAR)

Para o preparo do meio de cultura utilizou-se 21 g do meio de cultura (caldo ou ágar) Müller Hinton em 1000 mL de água destilada, manteve-se sob agitação até completa solubilização, levou-se para autoclave por 15 min. O ágar deve ser adicionado em placa de Petri e colocado para resfriar em estufa a 35 °C. O caldo MH deve ser mantido em geladeira até utilização. Manipulou-se todo o processo em câmara de fluxo.

4.1.4 PREPARO DA SOLUÇÃO DE RESAZURINA

Pesou-se 0,01 g de resazurina dissolvendo-a em 10 mL de solução fisiológica estéril, reservou-se essa solução-estoque. Para preparo da diluição necessária para a leitura da CMI retira-se 1 mL da solução-estoque e adiciona-se 9 mL de solução fisiológica estéril.

4.1.5 PREPARO DO CONTROLE DE CLORANFENICOL

Pesou-se 0,001 g de cloranfenicol dissolvendo-o em 10 mL de água destilada. Essa é a solução-estoque que será utilizada para realizar diluição seriada a fim de se obter as concentrações 64, 32, 16, 8, 4, 2 e 1 µg. mL⁻¹.

4.1.6 PREPARO DO CONTROLE DE GENTAMICINA

Pesou-se 0,001 g de gentamicina dissolvendo-a em 10 mL de água destilada, para o preparo da solução-estoque de concentração 100 µg. mL⁻¹. Partindo dessa concentração produziu-se soluções diluídas nas concentrações 8, 4, 2, 1 e 0,5 µg. mL⁻¹.

4.2 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

O levantamento bibliográfico ocorreu durante toda a pesquisa, em sítios de busca como *Science Direct*, *Web of Science*, portal de periódicos Capes, PubMed, Google Acadêmico e SciFinder.

4.3 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal foi coletado no dia 04 de junho de 2019, sob temperatura média de 24 °C, na Serra dos Pirineus em Pirenópolis, Goiás, Brasil. A identificação foi realizada *in loco* pela professora Dra. Mirley Luciene dos Santos. O cadastro de acesso ao Patrimônio Genético no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) foi realizado sob número A35C504. A preparação da exsicata se deu conforme o método proposto pelo Herbário da Universidade Estadual de Goiás (HUEG), sendo registrada sob o número de tombo HUEG 13.795. As coordenadas de localização dos espécimes coletados estão demonstradas na Tabela 7.

Tabela 7: Coordenadas das coletas das partes aéreas de *Tibouchina papyrus* na Serra dos Pirineus, Pirenópolis, Goiás.

Latitude	Longitude	Altitude
15° 47' 45" S	48° 49' 55" O	1340 m
15° 47' 45" S	48° 49' 55" O	1320 m
15° 47' 35" S	48° 50' 06" O	1320 m
15° 48' 12" S	48° 50' 16" O	1290 m
15° 48' 28" S	48° 48' 11" O	1280 m
15° 48' 12" S	48° 50' 16" O	1280 m

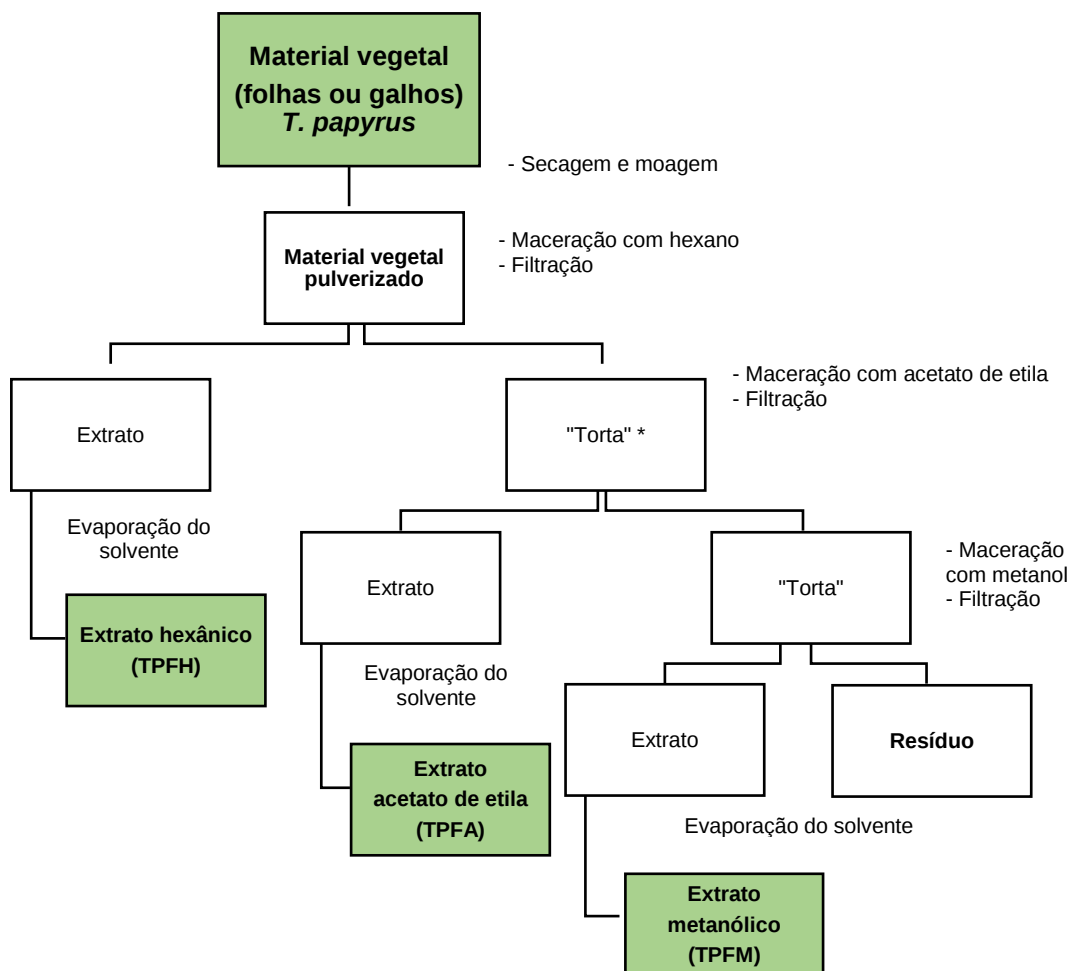
Fonte: a autora.

4.4 PREPARO DOS EXTRATOS

Folhas e galhos do material vegetal foram secos, separadamente, em estufa com circulação de ar, sob temperatura média de 40 °C por 48 horas. A pulverização ocorreu em moinho de facas do tipo Willey.

O processo extrativo utilizado foi a maceração seriada exaustiva à frio, utilizando-se solventes com ordem crescente de polaridade. O material vegetal pulverizado foi colocado em contato com o solvente durante 4 dias, com agitações ocasionais, sendo o processo repetido por 3 vezes, seguido da mudança do solvente. Os solventes utilizados foram, respectivamente, hexano, acetato de etila e metanol, obtendo-se os extratos: TPGH - *T. papyrus* galhos hexano, TPFH - *T. papyrus* folhas hexano, TPGA - *T. papyrus* galhos acetato de etila, TPFA - *T. papyrus* folhas acetato de etila, TPGM - *T. papyrus* galhos metanol, TPFM - *T. papyrus* folhas metanol. O volume foi reduzido em evaporador rotativo e a secagem finalizada em capela. A Figura 12 apresenta o esquema do processo utilizado para extração por maceração seriada sucessiva a frio até a obtenção dos extratos.

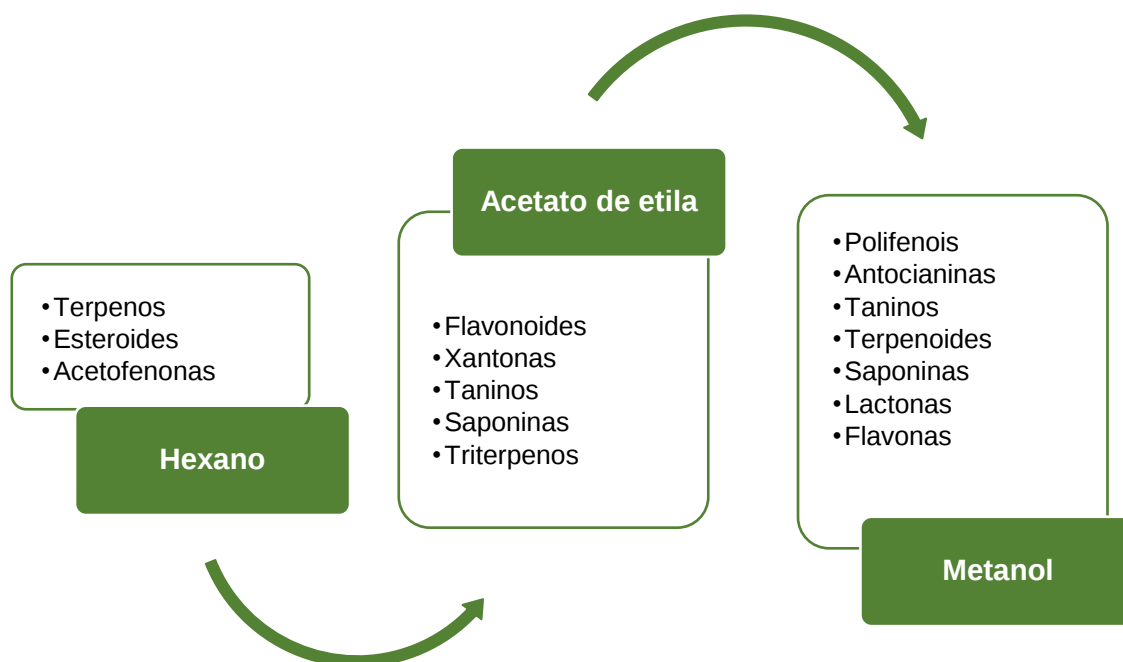
Figura 12- Esquema da obtenção dos extratos de *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo por maceração seriada exaustiva à frio.



Legenda: *Torta: material vegetal após o processo de maceração, quando este ainda passará por novo processo de maceração. Fonte: a autora.

De acordo com Matos (2009), a escolha do solvente hexano na primeira etapa da maceração se dá pelo potencial em retirar do material vegetal substâncias lipossolúveis, permitindo assim maior penetração dos solventes mais polares. Na Figura 13 estão relacionados possíveis metabólitos a serem extraídos de acordo com o solvente selecionado em ordem crescente de polaridade (OLIVEIRA, MAIOR e DRESCH, 2018).

Figura 13- Relação dos possíveis metabólitos presentes no processo de maceração seriada.



Fonte: Adaptado de Oliveira, Maior e Dresch (2018).

4.5 ENSAIO DE TOXICIDADE PRELIMINAR

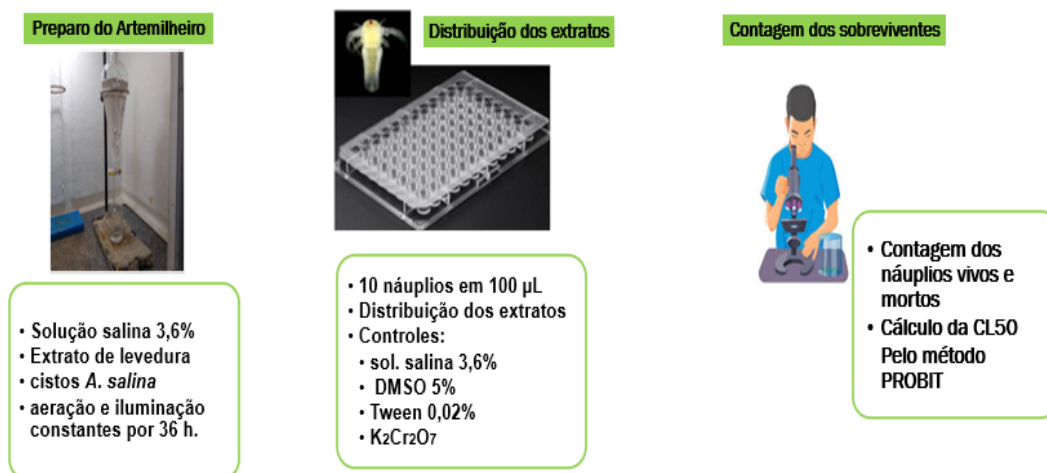
O ensaio de toxicidade foi realizado frente à náuplios de *Artemia salina*, segundo metodologia adaptada de Rehman *et al.* (2005), em triplicata e em três séries de repetições independentes.

4.5.1 PREPARO DO ARTEMILHEIRO

Para o preparo do artemilheiro pesou-se 36 g de sal marinho dissolvendo-o em 1 L de água destilada, suplementado a solução com extrato de levedura a 6 mg.L⁻¹. Esterilizou-se a solução em frasco próprio para autoclave.

Em funil de decantação foi adicionado um volume equivalente a 75% da capacidade do funil da solução salina preparada e então incubados 30 mg de cistos de *A. salina*, ficando o sistema sob aeração e iluminação constantes por 36 h, como o esquema representado na primeira etapa da Figura 14.

Figura 14- Esquema do sistema de incubação dos cistos de *Artemia salina*.



Fonte: a autora.

4.5.2 DILUIÇÃO DOS EXTRATOS

Para o preparo e diluição do extrato pesou-se 0,008 g do extrato, solubilizando-o em Dimetilsulfóxido (DMSO) 5% (100 µL) e Tween (80) 0,02% (1900 µL), ambas soluções e o controle de Dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) preparados com solução salina 3,6%. As soluções foram colocadas sob agitação magnética por 24 h e em vórtex por 30 s na tentativa de homogeneizá-las completamente.

Utilizou-se microtubos de 2 mL para realizar a diluição seriada partindo da concentração inicial de 4000 µg.mL⁻¹ seguindo para 2000, 1000, 500, 250, 125 e 62,5 µg.mL⁻¹.

4.5.3 DISTRIBUIÇÃO DOS EXTRATOS E CONTROLES E CÁLCULO DA CL₅₀

Em placa de 96 poços foram adicionados cerca de 10 náuplios em 100 µL de solução salina e 100 µL dos extratos nas respectivas diluições e os controles de viabilidade e da técnica, fazendo decair pela metade da concentração inicial. Os controles de viabilidade utilizados foram solução

salina 3,6%, DMSO 5% e Tween (80) 0,02% e o controle da técnica foi o dicromato de potássio nas diluições 100, 50, 25, 12,5 e 6,25 µg.mL⁻¹.

As placas foram mantidas em temperatura ambiente, iluminação constante e após 24 h realizou-se a contagem dos náuplios mortos e sobreviventes, os dados obtidos foram utilizados para o cálculo da concentração letal média (CL₅₀), sendo considerados apenas os experimentos onde em pelo menos uma das concentrações observou-se mortes (próximos a 50% ou superiores a 50%). O método PROBIT de análise estatística foi utilizado para o cálculo através do software STATISTICA®.

4.6 ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

O ensaio foi realizado pelo método de microdiluição em caldo, conforme o Protocolo recomendado pela *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI) para testes de susceptibilidade por diluição de agentes antimicrobianos em caldo (CLSI, 2016).

4.6.1 REATIVAÇÃO DAS CULTURAS BACTERIANAS

Foram utilizadas cepas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) que estavam mantidas no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Goiás (UEG) das espécies *Staphylococcus aureus* (25923), *Staphylococcus epidermidis* (12228), *Escherichia coli* (25312) e *Pseudomonas aeruginosa* (27853).

A manutenção das cepas foi realizada conforme descrito por Silva *et al.* (2017), com algumas adaptações. Foram realizados repiques das cepas em ágar Müeller Hinton (MH) pela técnica de esgotamento por estrias e as placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas, a fim de se obterem colônias isoladas.

Cerca de 3 a 5 colônias isoladas e típicas foram transferidas para um tubo com 10 mL de caldo BHI (*Brain Heart Infusion Broth*) e 20 % de glicerol, homogeneizado por 15 segundos em vórtex, sendo posteriormente incubados

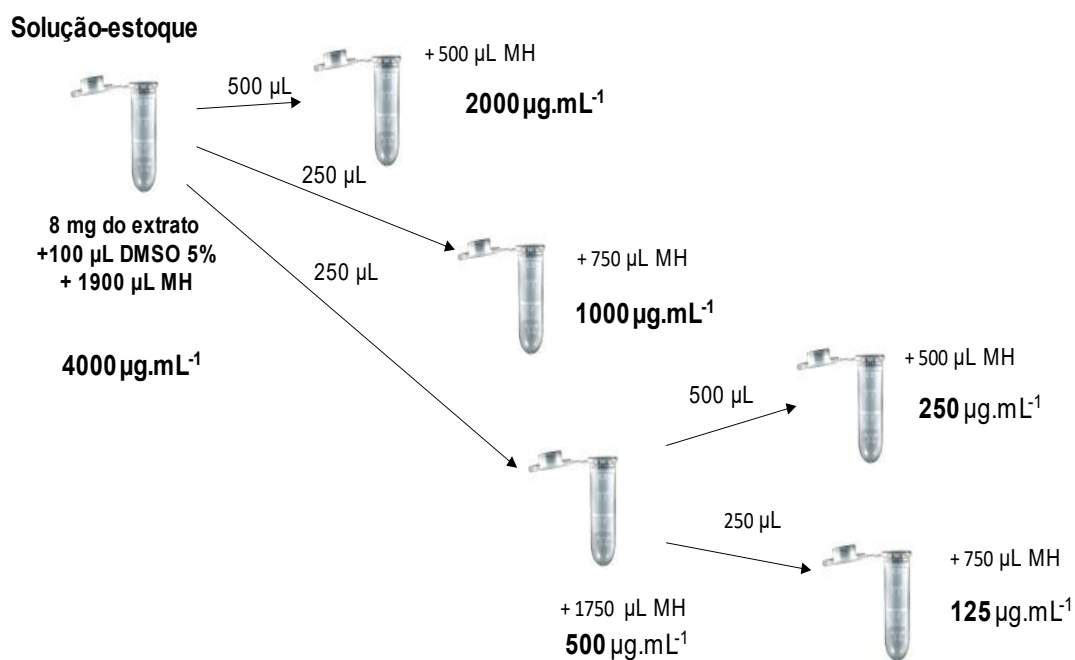
por 12 horas a 35°C. Em seguida, transferiu-se alíquotas de 1 mL para microtubos previamente esterilizados e devidamente identificados. As alíquotas foram armazenadas a 8° C por sete dias e congeladas em freezer a -20°C.

Antes da realização do ensaio, a fim de reativar as culturas bacterianas utilizadas no ensaio, os microtubos foram descongelados, sendo realizado repiques em ágar MH e incubação a 35 °C em estufas bacteriológicas por 24 horas.

4.6.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI)

Para a realização do experimento os extratos foram solubilizados em Dimetilsulfóxido (DMSO) a 5% e diluídos em caldo MH para obtenção de uma solução-estoque de concentração de 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo posteriormente diluída para as concentrações 2000, 1000, 500, 250 e 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ conforme Figura 15.

Figura 15- Esquema de microdiluição dos extratos de *Tibouchina papyrus* no ensaio antibacteriano.



Fonte: a autora.

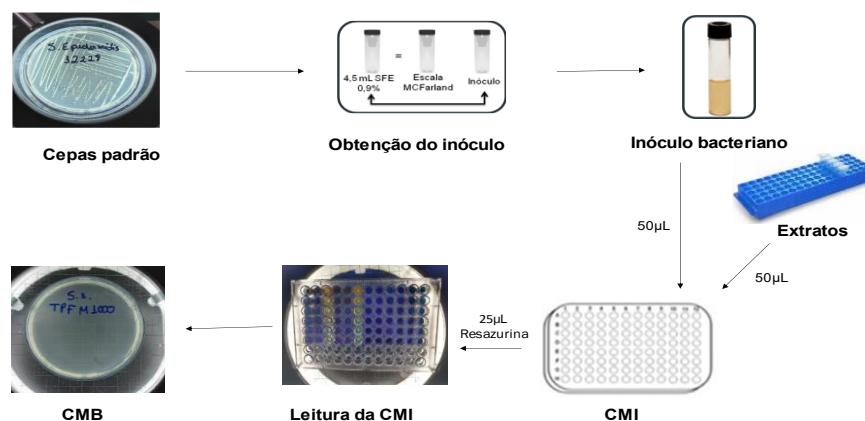
Os testes para os extratos TPGH, TPFH, TPGAE, TPFAE, TPGM e TPFM foram acompanhados de controle de viabilidade dos micro-organismos na ausência dos extratos (MH + inóculo bacteriano + DMSO 5%), controle de esterilidade (Extratos + MH e MH) e controle de técnica (antimicrobianos cloranfenicol e gentamicina).

O cloranfenicol, controle positivo para as cepas bacterianas Gram positivas, foi utilizado nas concentrações 64, 32, 16, 8, 4, 2 e 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Usou-se a gentamicina nas concentrações 8, 4, 2, 1 e 0,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para controle da técnica das bactérias Gram negativas (CLSI, 2016).

Os inóculos bacterianos foram preparados, em solução fisiológica estéril 0,9%, com a suspensão de colônias típicas e isoladas, após 24 horas de crescimento em ágar MH, com a turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland equivalente ao ajuste do inóculo à concentração de bactérias de 10^8 UFC.mL^{-1} . Em seguida, a suspensão foi diluída (0,1 mL em 9,9 mL de caldo MH) de forma a obter uma concentração de células de 10^6 UFC.mL^{-1} .

Em microplacas estéreis de 96 poços com fundo em “U”, foram colocados 50 μL do inóculo bacteriano a $1,5 \times 10^6 \text{ UFC.mL}^{-1}$ e 50 μL dos extratos diluídos e controles, fazendo a concentração no poço ser a metade da inicial. Estas foram incubadas por 24 horas, sob temperatura de 35 °C. A Figura 16 esquematiza as etapas do método utilizado para determinação da CMI e CMB.

Figura 16- Esquema da realização do ensaio de atividade antibacteriana pelo método de microdiluição em caldo para os extratos de *T. papyrus*.



Fonte: a autora.

A fim de facilitar a obtenção dos resultados acrescentou-se 25 µL de resazurina sódica a 0,01% em cada poço e após 30 minutos de incubação realizou-se a leitura visual, sendo o predomínio da cor azul indicativo de inibição do crescimento bacteriano e o vermelho rosáceo, atividade metabólica devido ao crescimento. O ensaio foi realizado em triplicata e em três séries de repetições independentes.

O critério de classificação da atividade antibacteriana utilizado é o sugerido por Holetz *et al.* (2002): para extratos que apresentaram CMI inferior a 100 µg.mL⁻¹, a atividade antimicrobiana foi considerada boa, de 100 a 500 µg.mL⁻¹ a atividade antimicrobiana é considerada moderada, de 500 a 1000 µg.mL⁻¹ a atividade antimicrobiana é fraca, mais de 1000 µg.mL⁻¹ o extrato foi considerado inativo.

4.6.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)

Para as concentrações que apresentaram valores de CMI dentro faixas testadas, foram analisadas se estas e as subsequentes eram concentrações bactericidas (CMB). Em placa de Petri contendo ágar MH foi depositado todo volume do poço da concentração analisada, realizando a semeadura e incubação em estufa a 35 °C por 24 h. O resultado se deu pelo crescimento ou não de novas colônias bacterianas.

4.7 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE *in vitro*

O ensaio de citotoxicidade *in vitro* foi realizado pelo Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará (UFC) sob a responsabilidade da MSc. Celina de Jesus Guimarães. Utilizou-se para as análises o método MTT, que é rápido, barato e vem sendo utilizado pelo Instituto Nacional do Câncer (*National Cancer Institute – NCI*) dos Estados Unidos.

As linhagens SNB-19 (Astrocitoma), HCT-116 (Carcinoma de cólon - humano), PC3 (Carcinoma de próstata), HL60 (Leucemia promielocítica),

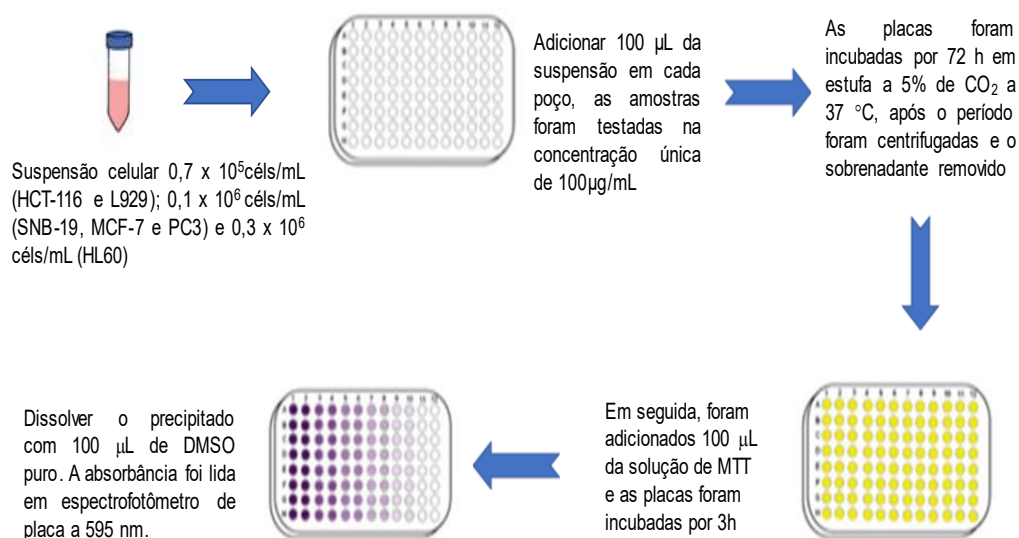
MCF-7 (Carcinoma de mama) foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), enquanto a linhagem L929 (Fibroblasto murinho) foi cedida pelo Banco de células do Rio de Janeiro (BCRJ). As linhagens foram cultivadas em meio RPMI 1640 e *Dulbecco's Modified Eagle Medium* - DMEM (L929), suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos (penicilina 100 U.mL⁻¹ e estreptomicina 100 µg.mL⁻¹), mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂. As amostras foram diluídas em DMSO (dimetilsufóxido) puro para concentrações de estoque de 20 mg.mL⁻¹.

Os procedimentos para solubilização em DMSO foram devidamente realizados, contudo nem todas as amostras se demonstraram solúveis. As amostras com os códigos TPGH, TPFH e TPFAE permaneceram parcialmente solúveis, mesmo após a submissão em banho de ultrassom por 15 min, seguido de agitação em vórtex.

As células foram plaqueadas nas concentrações de 0,7 x 10⁵ céls/mL (HCT-116 e L929); 0,1 x 10⁶ céls/mL (SNB-19, MCF-7 e PC3) e 0,3 x 10⁶ céls/mL (HL60). As amostras foram testadas na concentração única de 100 µg.mL⁻¹. Utilizou-se a doxorrubicina como controle positivo na concentração de 5 µg.mL⁻¹. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂, sob temperatura de 37 °C e ao término deste período, foram centrifugadas e o sobrenadante foi removido. Em seguida, adicionou-se 100 µL da solução de MTT e as placas foram incubadas novamente por 3h. A absorbância foi lida, após dissolução do precipitado com 100 µL de DMSO puro, em espectrofotômetro de placa a 595 nm. O esquema encontra-se ilustrado na Figura 17.

Foram calculadas médias ± desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular das três repetições, usando o programa *Graph Pad Prism* 6.01 (PIRES *et al.*, 2011).

Figura 17- Esquema do teste MTT para avaliação da citotoxicidade dos extratos de *Tibouchina papyrus*.



Fonte: Adaptado de Magalhães, Thá e Leme (2018).

4.8 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA PRELIMINAR

Os ensaios de prospecção fitoquímica preliminar foram realizados com o material vegetal seco e pulverizado, segundo metodologia adaptada de Matos (2009), Falkenberg, Santos e Simões (2003). Realizou-se os experimentos em três séries de repetições independentes.

4.9 ISOLAMENTO DE CONSTITUINTES QUÍMICOS

Mediantes os resultados obtidos na triagem fitoquímica observou-se a presença de compostos que orientaram para a separação e o isolamento dos constituintes químicos. Foram utilizados métodos cromatográficos como: cromatografia líquida em coluna de vidro com fase estacionária em Sílica gel de tamanhos e diâmetros variados, dependendo da massa a ser aplicada, e cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) utilizando-se cromatoplasas de sílica em alumínio. As fases móveis utilizadas foram misturas de solventes orgânicos em proporções variadas de acordo com a

melhor separação observada na CCDA, tanto em luz UV (254 e 365 nm) quanto na revelação em vanilina ácida seguida do aquecimento.

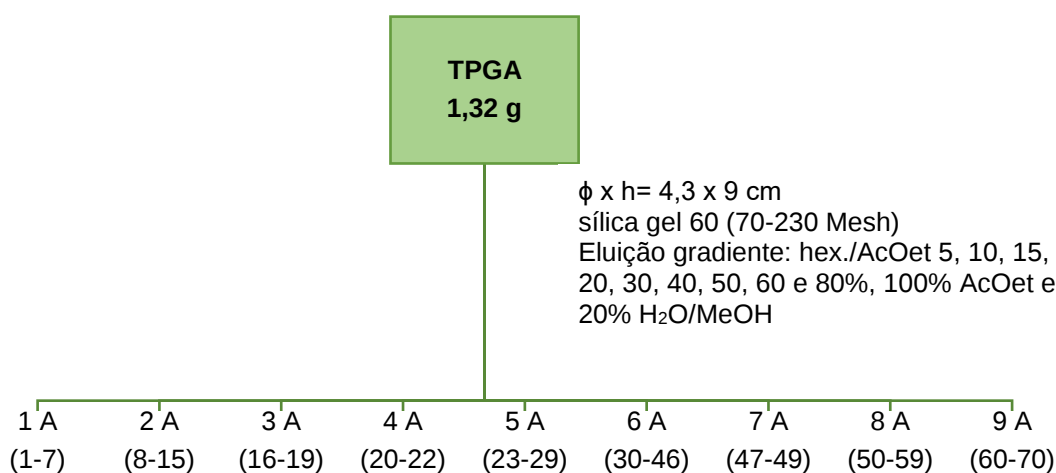
4.9.1 ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO TPGA

O estudo do extrato dos galhos – fração acetato de etila resultou no isolamento dos compostos **E1** e **E2**.

4.9.1.1 Isolamento das substâncias E1 e E2

Uma massa de 1,32 g do extrato TPGA foi submetida à cromatografia em coluna ($\phi \times h = 4,3 \times 9$ cm), utilizando como fase estacionária sílica gel 60 (70-230 Mesh) com eluição gradiente utilizando 100 mL de solução com os solventes acetato de etila/hexano nas concentrações 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60 e 80%, 100% acetato de etila, finalizando com 20% água/metanol resultando em 70 frações que foram reagrupadas em 9, o processo encontra-se esquematizado na Figura 18.

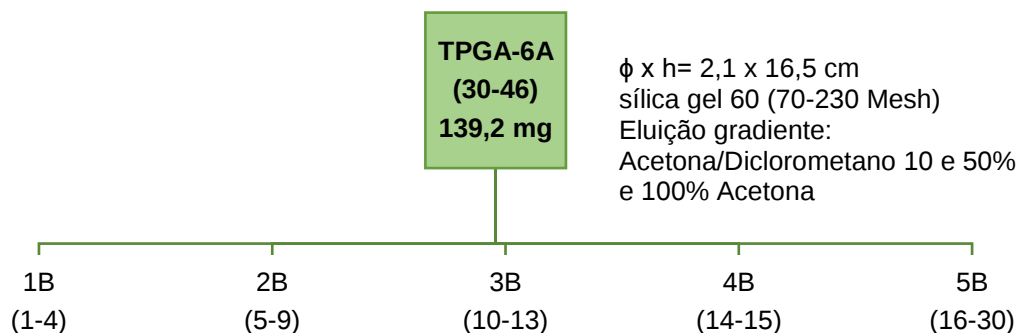
Figura 18 - Esquema do fracionamento do extrato TPGA, primeiro processo, em coluna de vidro com sílica gel.



Fonte: a autora.

Nova coluna foi realizada com as frações TPGA-6A, Figura 19, (m= 139,2 mg; $\phi \times h = 2,1 \times 16,5$ cm) com fase estacionária sílica gel 60 (200-400 Mesh) e eluição gradiente com a mistura solventes acetona/diclorometano 10 e 50%, finalizando com 100% acetona, resultou em 30 frações que foram reagrupadas em 5 novas frações.

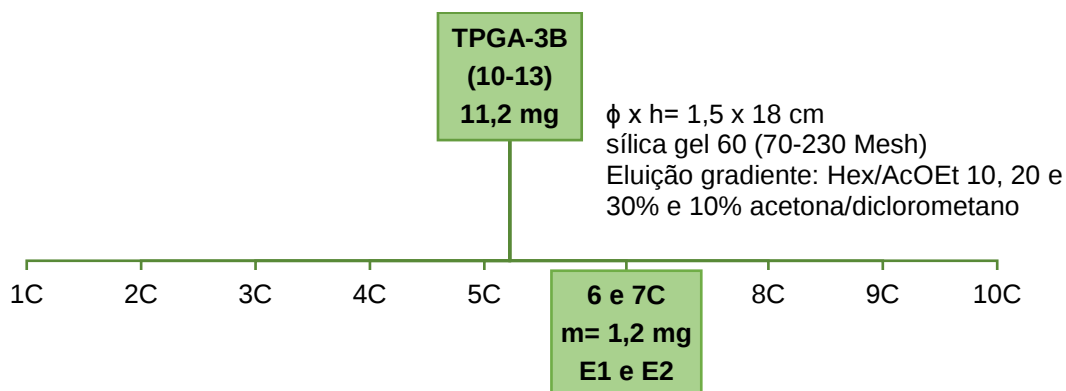
Figura 19- Esquema do refracionamento, da segunda coluna, com a fração TPGA-6A.



Fonte: a autora.

A fração TPGA-3B (11,2 mg) foi submetida a novo refracionamento, esquema representado na Figura 20, ($\phi \times h = 1,5 \times 18$ cm) com a mesma fase estacionária e eluição gradiente com misturas dos solventes Hex/AcOEt nas proporções 10, 20 e 30% e 10% acetona/diclorometano, resultando em 11 frações, sendo as frações TPGA-6-7C agrupadas, referente ao isolamento de 1,2 mg da mistura de substâncias **E1** e **E2**.

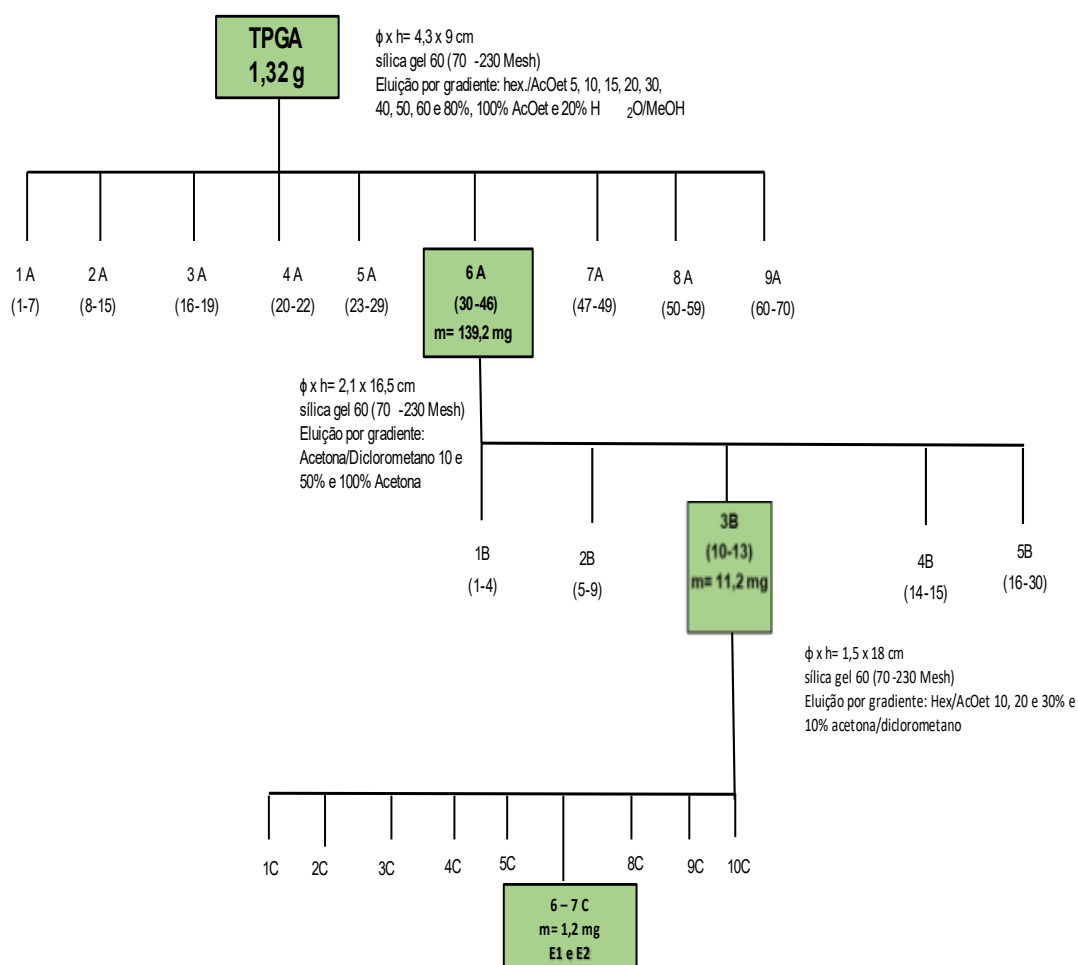
Figura 20- Esquema de refracionamento da fração TPGA-3B com isolamento da substância **E1** e **E2**.



Fonte: a autora.

O sólido de cor branca foi solubilizado em clorofórmio deuterado e encaminhado para análises de RMN de ^1H , HMBC e HSQC. Logo abaixo (Figura 21) segue-se o fluxograma do processo de fracionamento que resultou nas substâncias **E1** e **E2**.

Figura 21- Fluxograma do processo de separação que resultou na identificação da mistura das substâncias **E1** e **E2**.



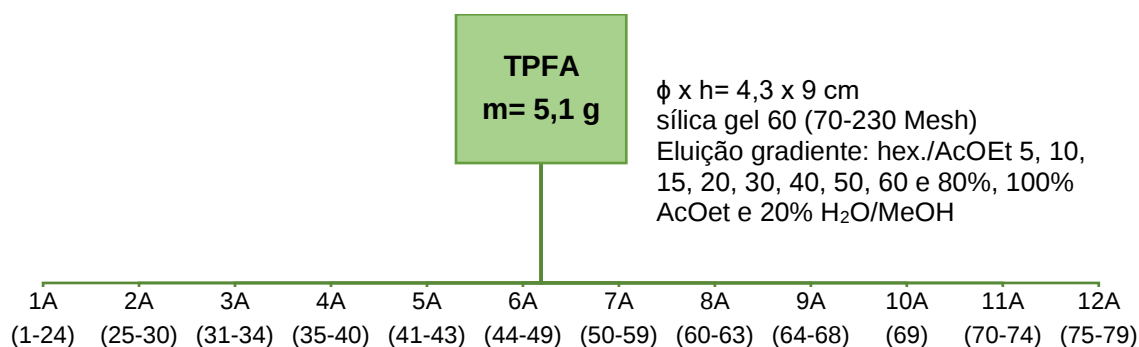
Fonte: a autora.

4.9.2 ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO TPFA

O estudo do extrato das folhas de *Tibouchina papyrus* fração acetato de etila resultou no isolamento das substâncias **E1**, **E2** e **E5**, e também nos cristais **E6** e **E7**. Uma massa de 5,1 g do extrato TPFA, foi submetida à

cromatografia em coluna ($\phi \times h = 4,3 \times 9$ cm), utilizando como fase estacionária sílica gel 60 (70-230 Mesh) com eluição gradiente utilizando misturas Hex/AcOEt nas proporções: 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80%, 100% AcOEt e 20% H₂O/MeOH. Ao todo foram obtidas 79 frações que foram reagrupadas em 12 após análise em CCDA, conforme o indicado na Figura 22.

Figura 22- Esquema de fracionamento do extrato TPFA-C1, em coluna de vidro com fase estacionária em Sílica gel.

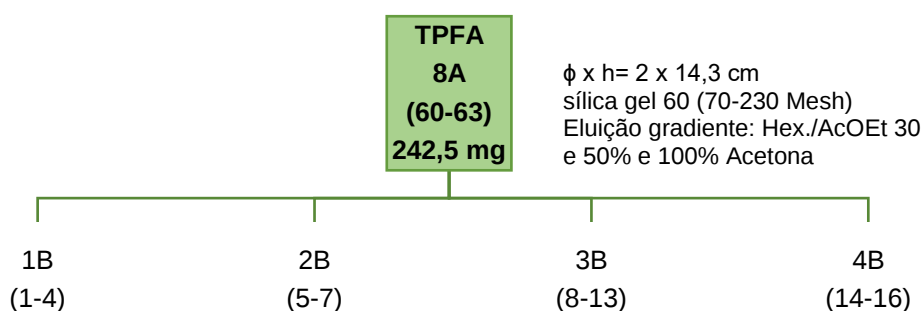


Fonte : a autora.

4.9.2.1 Isolamento da substância E1 e E2

A fração TPFA-8A (242,5 mg) foi recromatografada em coluna de vidro ($\phi \times h = 2 \times 14,3$ cm) em Sílica gel (200-400 Mesh) com eluição gradiente, utilizando-se uma mistura de solventes de Hex/AcOEt 30 e 50% e 100% Acetona. Rendendo ao todo 16 frações que foram reagrupadas em 4, conforme descrito na Figura 23, que representa o fluxograma desta etapa do fracionamento.

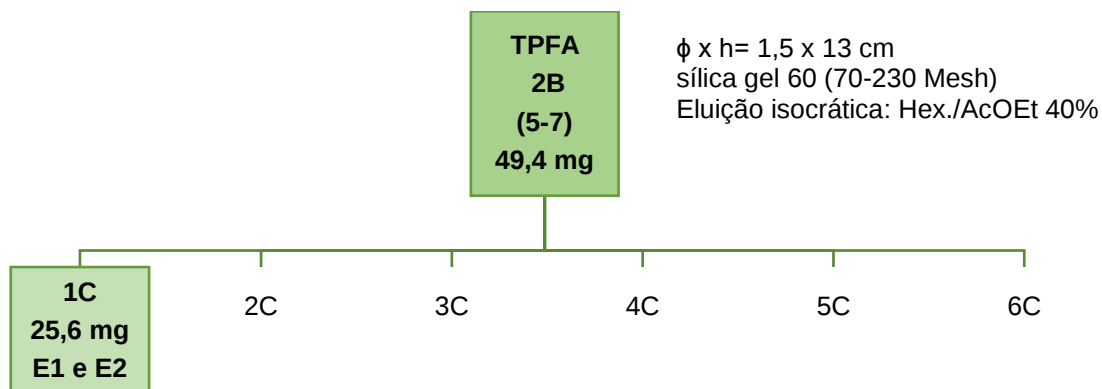
Figura 23- Esquema de refracionamento da fração TPFA-8A, em coluna de vidro com fase estacionária em Sílica gel.



Fonte: a autora.

A fração TPFA-2B (m=49,4 mg) foi recromatografada em coluna de vidro ($\phi \times h = 1,5 \times 13$ cm) em Sílica gel (200-400 Mesh), com eluição isocrática com uma mistura de solventes de Hex/AcOEt a 40%. Foram obtidas 6 frações, sendo que a fração 1C continha 25,6 mg do composto **E1** e **E2**, conforme esquematizado na Figura 24.

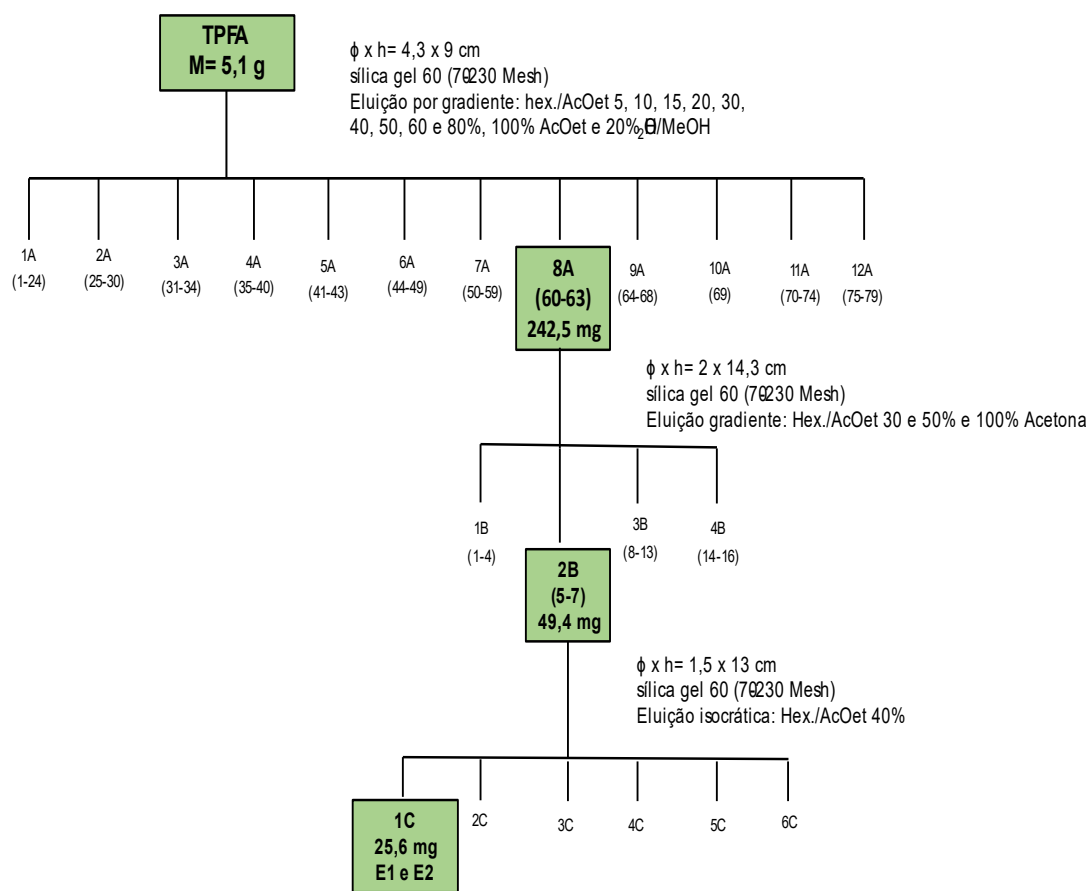
Figura 24- Esquema do refractionamento da fração TPFA-2B que resultou no isolamento do composto **E1** e **E2**.



Fonte: a autora.

O sólido de cor branca foi solubilizado em clorofórmio deuterado e encaminhado para análises de RMN de H^1 . A Figura 25 apresenta o fluxograma do processo de isolamento das substâncias **E1** e **E2**.

Figura 25- Fluxograma do isolamento das substâncias **E1** e **E2**.

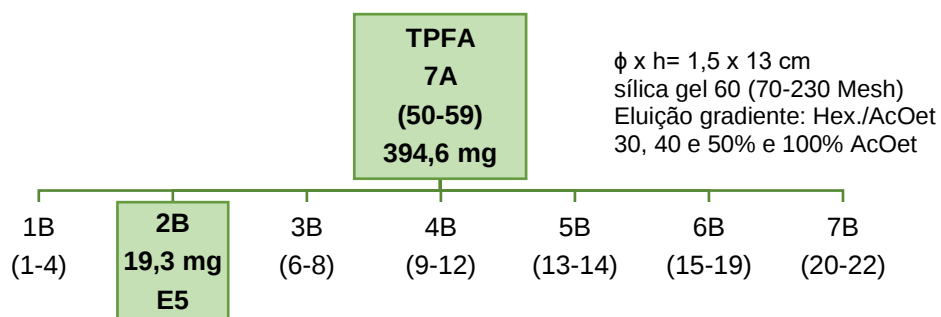


Fonte: a autora.

4.9.2.2 Isolamento da substância E5

A fração TPFA-7A (394,6 mg) foi recromatografada em coluna de vidro (φ x h= 1,5x13 cm) em Sílica gel (200-400 Mesh), com eluição gradiente com mistura de solventes Hex/AcOEt a 30, 40 e 50% e 100% AcOEt, sendo obtidas 22 frações que foram agrupadas em 7 e obtidos 19,3 mg na fração 2B correspondente ao composto químico **E5**, conforme esquematizado na Figura 26.

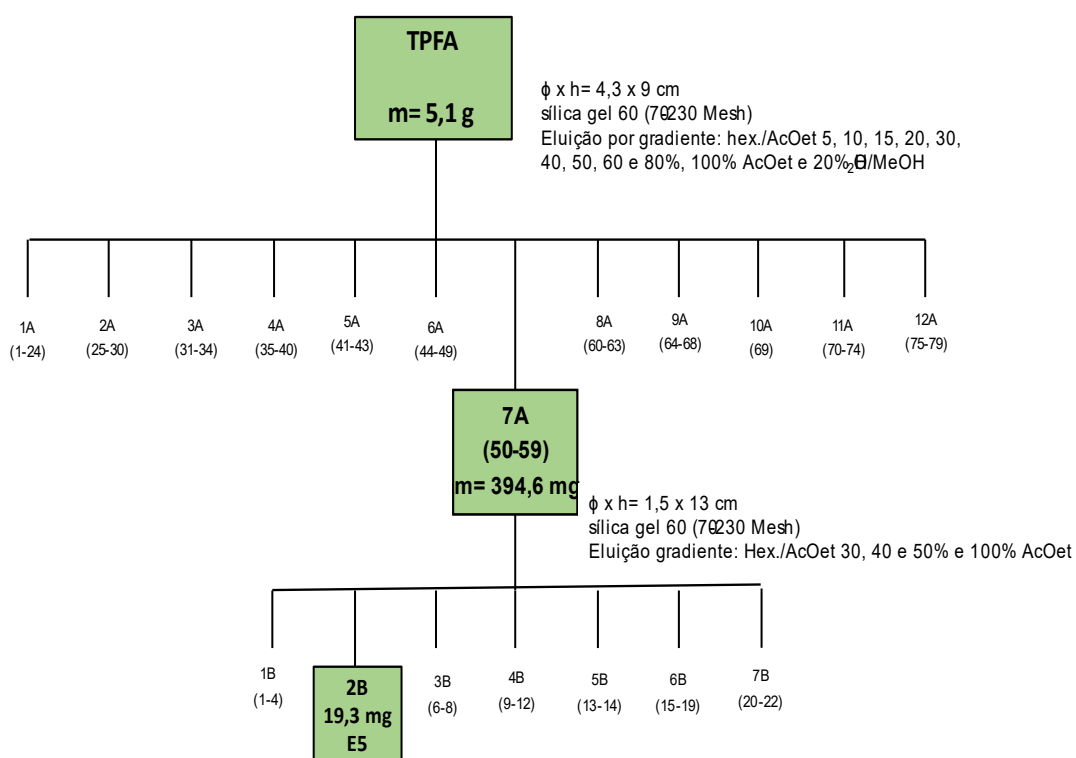
Figura 26- Esquema do refracionamento da fração TPFA-7A, que resultou no isolamento do composto **E5**.



Fonte: a autora.

O fluxograma do processo de purificação da substância **E5** encontra-se descrito na Figura 27.

Figura 27- Fluxograma do processo de isolamento da substância **E5**.

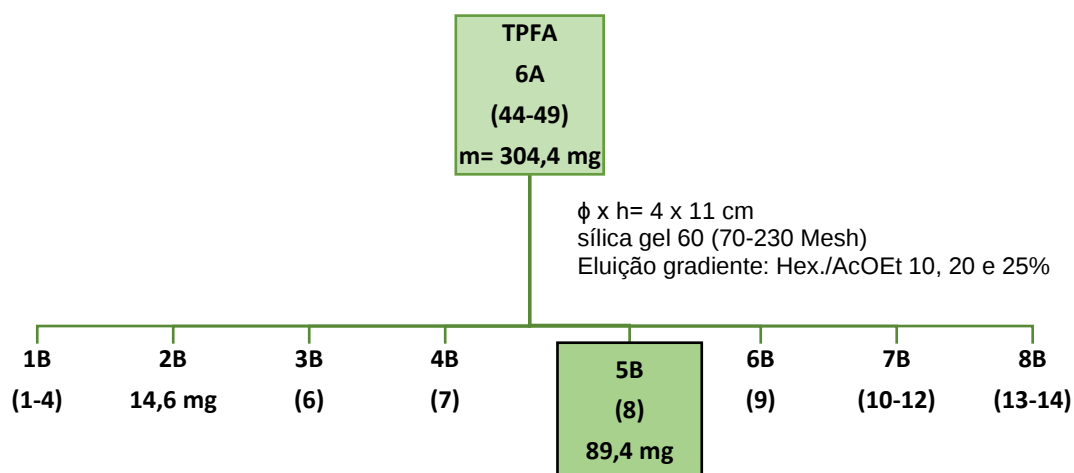


Fonte: a autora.

4.9.2.3 Isolamento dos cristais E6

Utilizando-se do extrato TPFA fração TPFA-6A, uma massa de 304,4 mg da fração foi recromatografada em coluna de vidro ($\phi \times h = 4 \times 11$ cm) com fase estacionária com sílica (230-400 Mesh), eluição gradiente com mistura de solventes Hex/AcOEt 15, 20, 25%, foram obtidas 14 frações reagrupadas novamente em 8, conforme o representado na Figura 28.

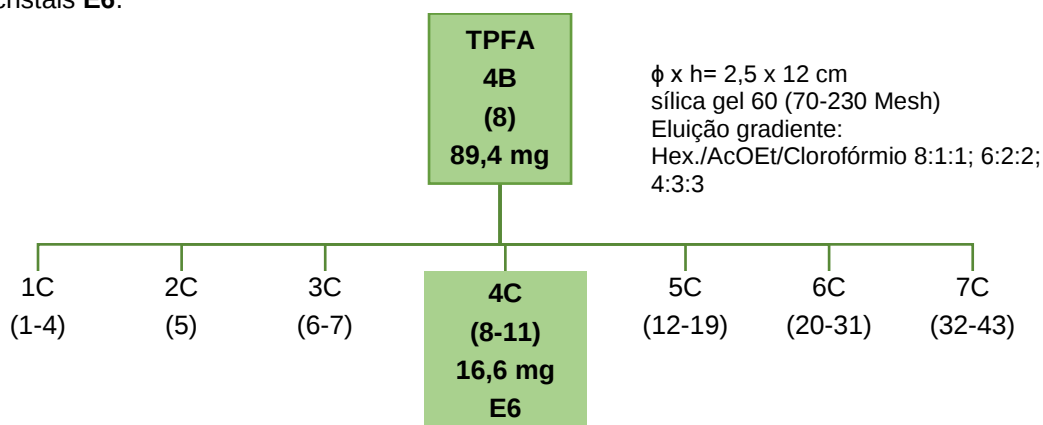
Figura 28- Esquema do refracionamento da fração TPFA-6A.



Fonte: a autora.

A fração TPFA-5B foi recromatografada em coluna de vidro ($\phi \times h = 2,5 \times 12$ cm) com fase estacionária em sílica gel (230-400 Mesh), eluição gradiente com mistura de solventes Hex:AcOEt:Clorofórmio nas proporções 8:1:1; 6:2:2; 4:3:3. Ao todo foram obtidas 43 frações que foram reagrupadas em 7, sendo a fração TPFA-4C referente aos cristais **E6**, conforme o descrito na Figura 29.

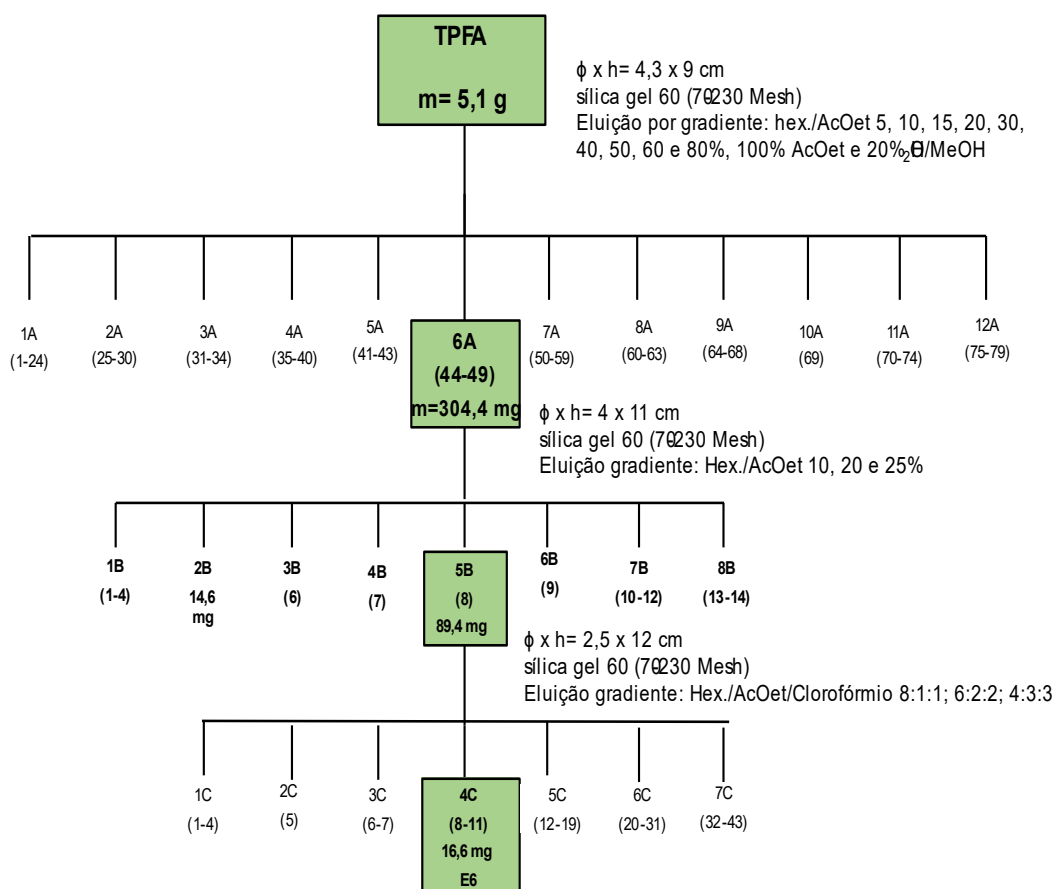
Figura 29- Esquema do refracionamento da fração TPFA-5B que resultou no isolamento dos cristais **E6**.



Fonte: a autora.

O fluxograma do processo de obtenção dos cristais **E6**, a partir do extrato TPFA, encontra-se representado pela Figura 30.

Figura 30- Fluxograma do processo de obtenção dos cristais **E6**.



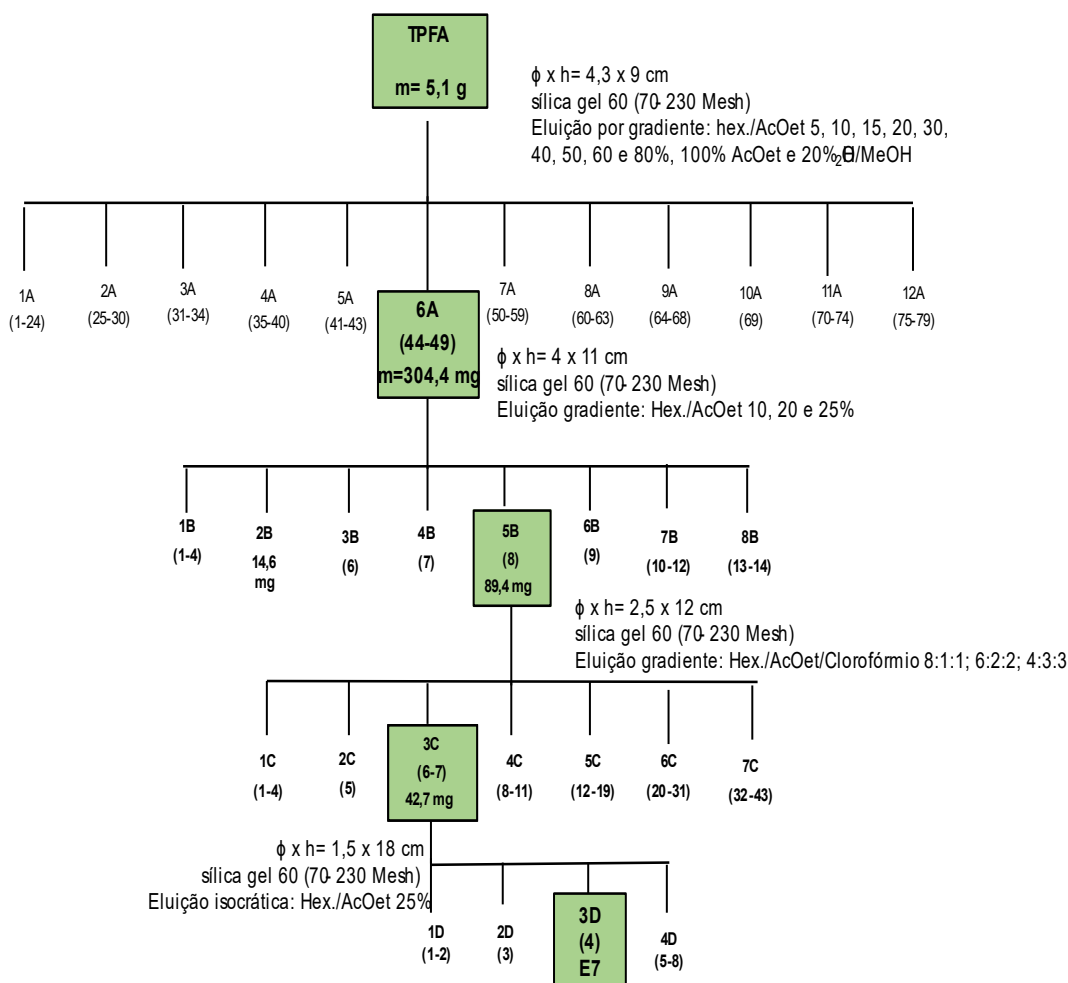
Fonte: a autora.

4.9.2.4 Isolamento dos cristais E7

Partindo-se do extrato TPFA (m=5,1 g) recromatografou-se a fração TPFA-6A (304,4 mg) em coluna de vidro (ϕ x h= 4 x 11 cm) com fase estacionária com sílica (230-400 Mesh), eluição gradiente com mistura de solventes Hex/AcOEt 15, 20, 25%, foram obtidas 14 frações reagrupadas novamente em 8 novas frações, conforme o já representado na Figura 31.

A fração TPFA-5B foi recromatografada em coluna de vidro (ϕ x h= 2,5 x 12 cm) com fase estacionária em sílica gel (230-400 Mesh), eluição gradiente com mistura de solventes Hex:AcOEt:Clorofórmio nas proporções 8:1:1; 6:2:2; 4:3:3. As 43 frações que foram reagrupadas em 7, sendo uma massa de 42,7 mg da fração TPFA-3C recromatografada em coluna de vidro (ϕ x h= 1,5 x 18 cm) eluição isocrática com a mistura de solventes Hex/AcOEt 25%, rendeu ao todo 8 frações que foram agrupadas novamente em 4. A fração TPFA-3D está relacionada aos cristais **E7**, o processo de separação encontra-se esquematizado na Figura 31. O material foi encaminhado para análise cristalográfica.

Figura 31- Fluxograma do processo de obtenção dos cristais **E7**.



Fonte: a autora.

4.10 ELUCIDAÇÃO DAS ESTRUTURAS DOS COMPOSTOS ISOLADOS

As amostras foram encaminhadas para análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C unidimensionais e bidimensionais: HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*) e HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*). Os espectros foram obtidos no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal de Goiás, em espectrômetro Brüker modelo Avance III - 500 (11,75 Tesla) operando a 500 MHz (^1H) e 125 MHz (^{13}C). Os solventes utilizados para a obtenção dos espectros foram clorofórmio (CDCl_3) ou metanol (MeOD) deuterados da *Cambridge Isotope Laboratories*, além do tetrametilsilano (TMS) como padrão

de referência interno para os deslocamentos químicos (δ , ppm). Já para a leitura dos espectros foi utilizado o programa Top Spin (licença para academia) e ACD Labs 12.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DOS EXTRATOS

A Tabela 8 apresenta o rendimento dos extratos secos preparados por maceração seriada exaustiva à frio das folhas e galhos de *T. papyrus*, partindo 435 g de galhos e 770 g de folhas, previamente secos e pulverizados. O extrato metanólico de ambas as partes da planta utilizadas apresentaram maior rendimento.

Tabela 8- Rendimento dos extratos obtidos através do processo de maceração seriada exaustiva à frio.

Parte da planta coletada	Extrato	Massa do vegetal seco e pulverizado (g)	Massa do extrato obtido (g)	Rendimento (%)
Galhos	TPGH	435	1,602	0,368
	TPGAE		3,5493	0,816
	TPGM		11,1924	2,57
Folhas	TPFH	770	16,3694	2,12
	TPFAE		7,5327	0,97
	TPFM		45,1166	5,86

Fonte: a autora.

O processo extrativo foi iniciado com o hexano como solvente, pode-se observar que retirando-se as substâncias lipossolúveis e houve maior contato dos solventes polares com o material vegetal permitindo maior extração dos compostos mais polares (MATOS, 2009). Ao todo, foram necessários cerca de 36 dias para obtenção dos três extratos, que precisaram finalizar a evaporação do solvente em capela. Foram utilizados 12 L de hexano, 6 L de acetato de etila e 6 L de metanol que foram parcialmente recuperados durante o processo de evaporação rotativa. Apesar do longo período de extração gasto com o método, grande volume de solvente utilizado e da relativa baixa eficiência, esse método se justifica por permitir a extração de componentes

termolábeis, apresentando bons rendimentos de compostos fenólicos, que geralmente apresentam atividade biológica (ZHANG; LIN; YE, 2018; SCHNEIDER *et al.*, 2015).

Na Tabela 9, adaptada de Oliveira *et al.* (2018), são indicados os possíveis metabólitos extraídos em cada faixa de solvente utilizado, percebe-se que grande quantidade de metabólitos são extraídos quando se utiliza metanol no processo.

Tabela 9- Relação entre a polaridade do solvente e grupos de metabólitos extraídos.

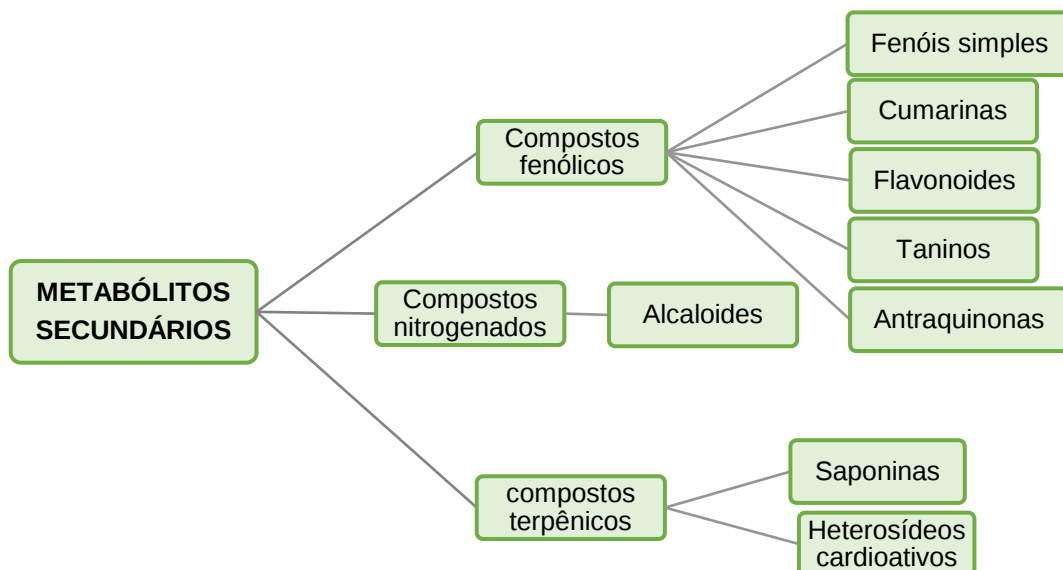
Solvente	Grupo de substâncias extraídas
Éter	Alcaloides, cumarinas, terpenoides e ácidos graxos
Diclorometano	Lignanais, cumarinas, flavonoides, lactonas e triterpenos
Acetato de etila	Flavonoides, xantonas, taninos, saponinas e triterpenos
Clorofórmio	Terpenoides e flavonoides
Acetona	Fenóis e flavonoides
Hexano	Terpenos, esteroides e acetofenonas
Etanol	Polifenóis, alcaloides, taninos, terpenoides e esteroides
Metanol	Polifenóis, antocianinas, taninos, terpenoides, saponinas, lactonas e flavonas
Água	Antocianinas, taninos, saponinas, terpenoides, polipeptídeos e lecitinas

Fonte: adaptado de OLIVEIRA *et al.* (2018).

5.2 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA PRELIMINAR

Durante o seu metabolismo as plantas produzem metabólitos primários, que estão ligados à sua função vital, e secundários, cuja importância está relacionada com a adaptação das plantas ao meio ambiente, o que aumenta a possibilidade de sobrevivência da espécie. Originam-se a partir do metabolismo da glicose seguindo pelas vias: ácido chiquímico, acetato ou da combinação entre elas. De acordo com a rota biossintética, classificam-se em três grupos: compostos fenólicos (fenóis simples, cumarinas, flavonoides, antraquinonas e taninos), compostos nitrogenados (alcaloides) e compostos terpênicos (saponinas e heterosídeos cardioativos), o esquema dessa classificação está representado na Figura 32 (BURGUER, 2014).

Figura 32- Esquema de metabólitos a serem investigados na prospecção fitoquímica.



Fonte: Adaptado de FALKENBERG *et al.* (2003).

A triagem fitoquímica preliminar foi realizada com o material vegetal seco e pulverizado, sendo testados galhos e folhas, em experimentos realizados separados. Os resultados da prospecção preliminar encontram-se apresentados na Tabela 10.

Os resultados obtidos na prospecção fitoquímica preliminar para *T. papyrus* reforçam os já obtidos em outros estudos do gênero, podendo-se citar: *T. paratropica*, derivados fenólicos (TRACANNA *et al.*, 2015); *T. pulchra*, antocianinas, compostos fenólicos e flavonoides derivados de canferol (REZENDE *et al.*, 2019); *T. pereirae*, flavonoides (DIAS, 2013); para *T. lepidota*, flavonoides derivados de quercetina e canferol (HENDRA e KELLER, 2016).

Tabela 10- Resultados obtidos nos ensaios de prospecção fitoquímica preliminar, realizada com o pó das folhas e galhos da *T. papyrus*.

Classe do metabólito	Tipo de reação	Indicativo de positivo	Resultado	
			Folhas	Galhos
Flavonoides	Shinoda	Aparecimento de cor vermelha	-	+
	Oxálo-Bórica	Aparecimento de fluorescência amarelo-esverdeado	-	-
	Ácido Sulfúrico	Aparecimento de fluorescência	+	+
Fenóis Simples	Hidróxidos alcalinos	Aparecimento de cor amarela ou vermelho-amarelada	+	+
	Cloreto de alumínio	Aparecimento de fluorescência amarela	-	-
	Cloreto férrico	Aparecimento de cor negra, azul, amarela, verde, marrom ou vermelha	+	+
Cumarinas	-	Aparecimento de fluorescência verde ou azulada	-	+
Taninos	Reação com gelatina	Formação de precipitado branco	+	+
	Reação com alcaloides	Formação de precipitado	+	+
	Reação com sais metálicos	Formação de precipitado	+	+
	Reação com hidróxidos alcalinos	Escurecimento da solução	+	+
Alcaloides	Mayer	Formação de precipitado branco	-	-
	Dragendorff	Formação de precipitado vermelho-tijolo	-	-
	Bouchardt	Formação de precipitado marrom-avermelhado	-	-
	Bertrand	Formação de precipitado branco	-	-
	Hager	Formação de precipitado amarelo	-	-
	Ácido Tânico	Formação de precipitado bege	-	-
Esteróide ou Triterpenos	Liebermann-Buchard	Aparecimento de cor castanho ou verde	+	+
	Pesez	Aparecimento de fluorescência verde-amarelada	+	+

Continuação Tabela 10

Classe do metabólito	Tipo de reação	Indicativo de positivo	Resultado	
			Folhas	Galhos
Desoxiaçúcares	Keller-Killiani	Desenvolvimento de anel de coloração castanho e coloração azul-esverdeada na camada acética	+	+
Anel lactônico	Kedde	Coloração castanho-avermelhada a vermelho-violeta	-	-

Fonte: a autora.

5.3 TOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina*

Meyer *et al.* (1982) define valores para classificação das amostras nos ensaios de toxicidade frente a náuplios de *A. salina*, considerando atóxicas as amostras que apresentam $CL_{50} > 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e tóxicas as que apresentam $CL_{50} < 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Nguta *et al.* (2012) confirmam e ampliam essa classificação, onde a atividade tóxica é considerada fraca quando o valor da CL_{50} se encontra entre 500 e $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, moderada quando o valor da CL_{50} estiver entre 100 e $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$, forte quando for $< 100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e não tóxica quando o valor for $> 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Para os extratos de *T. papyrus* não foram observadas mortes superiores a 50%. Os valores de CL_{50} encontrados no bioensaio com os extratos de *T. papyrus* estão listados na Tabela 11.

Tabela 11- Avaliação da toxicidade frente à náuplios de *A. salina* (CL_{50}) dos extratos de *Tibouchina papyrus* e seus intervalos de confiança.

Extrato	CL_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Intervalo de confiança 95%		Classificação da toxicidade segundo Nguta <i>et al.</i> (2012)
		Limite Inferior	Limite superior	
TPGH	>2000	-	-	Atóxica
TPFH	>2000	-	-	Atóxica
TPGA	>2000	-	-	Atóxica
TPFA	>2000	-	-	Atóxica
TPGM	1277,71	1135,90	1419,51	Atóxica
TPFM	1596,47	1402,65	1790,29	Atóxica
Solução salina*	-	-	-	Atóxica
DMSO 5%*	-	-	-	Atóxica
Tween 0,02%*	-	-	-	Atóxica
K ₂ Cr ₂ O ₇	34,56	23,94	45,18	Tóxica

Fonte: a autora. Tabela produzida mediante resultados obtidos nos ensaios e calculados por regressão linear utilizando o software Statistica.

O ensaio de toxicidade realizado frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, demonstrou que todos os extratos testados são considerados atóxicos, segundo a classificação de Nguta *et al.* (2012). Apenas os extratos TPGM e TPFM apresentaram valores para a CL_{50} dentro da faixa de concentração

testada, com valores respectivamente 1.277,71 e 1.596,47 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, os demais extratos (TPGH, TPFH, TPGA e TPFA) apresentaram valores para concentração letal média superiores a 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, tendo em vista que todos os indivíduos sobreviveram durante o experimento. Os resultados da CL_{50} obtidos para o controle de dicromato de potássio encontram-se dentro da faixa de testes realizados no laboratório (34,56 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Os controles de viabilidade mostraram-se atóxicos, sendo que não houve mortes em nenhuma réplica, como esperado.

Dolabela (2014) apresenta, através dos resultados de um teste *qui-quadrado*, que existe correlação entre os resultados obtidos no ensaio de toxicidade frente à *A. salina* e outros bioensaios, por exemplo a atividade anti-*T. cruzi*. A correlação foi observada para extratos que apresentaram valores de CL_{50} entre 80 e 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, ou seja, eram classificados como tóxicos. Estudos de correlação entre a toxicidade e outros bioensaios foram descartados devido a ausência de toxicidade dos extratos frente à *A. salina*. Apesar de não ser observada toxicidade, para este ensaio, frente ao organismo testado, alguns extratos demonstraram ser citotóxicos frente a linhagens celulares tumorais, em ensaio *in vitro*, e apresentaram atividade antibacteriana moderada.

5.4 CITOTOXICIDADE *in vitro*

O método desenvolvido por Mosmann (1983) é um ensaio colorimétrico rápido e quantitativo, mede apenas células vivas e podem ser lidas em um espectrofotômetro de varredura de múltiplos poços. Células viáveis, com metabolismo ativo, convertem o MTT em formazan, com leitura de absorbância em 540 nm, enquanto as células mortas perdem essa capacidade de conversão (RISS *et al.*, 2016). Dessa forma, a quantidade de formazan é, presumivelmente, diretamente proporcional ao número de células viáveis.

Após análise estatística, os valores de absorbância foram ajustados em suas respectivas porcentagens de inibição. As amostras com boa atividade

inibitória apresentam a porcentagem de inibição acima de 75%, porém não foram determinadas as CI_{50} (Concentração Inibitória média), pois estas não apresentaram comportamento inibitório em pelo menos duas linhagens de células diferentes. Os demais compostos apresentaram citotoxicidade moderada ou baixa frente as demais linhagens testadas. Os dados dos índices de seletividade (IS) são fornecidos mediante os dados de CI_{50} , como estas não foram calculados os valores do IS também não foram fornecidos.

A escala de intensidade utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas foi: AS - sem atividade; BA - baixa atividade (inibição do crescimento celular variando de 1 a 50%); AM - atividade moderada (inibição do crescimento celular variando de 50,1 a 75%); AA - alta atividade (inibição do crescimento celular superior a 75%), relatada na literatura por Almeida *et al.* (2014) e o Comitê Técnico ISO / TC 194 (2009).

Os extratos TPGH, TPFA e TPGA apresentaram alta atividade de inibição do crescimento celular frente a linhagem celular HL60, com valores de IC% respectivamente iguais a 93,31; 83,42 e 80,43%, resultados demonstrados na Tabela 12. Os extratos TPFM e TPGM, frente a mesma linhagem celular apresentaram atividade moderada com valores 73,41 e 66,39%, respectivamente. Os mesmos extratos frente à linhagem celular não tumoral (L929) demonstraram baixa citotoxicidade com IC% respectivamente 41,55; 25,23 e 30,27 %, indicando possibilidade de seletividade pela linhagem tumoral.

Quando exposto frente a linhagem celular HCT 116 o extrato TPGA (86,52%) apresentou boa atividade inibitória. Os extratos TPGM, TPFM e TPGH apresentaram atividade moderada com valores de inibição do crescimento celular respectivamente iguais a 62,59; 62,06 e 60,27%. O extrato TPFH apresentou valor negativo para Inibição Celular (-24,96%), indicando que ocorreu proliferação celular. Todos os extratos demonstraram baixa atividade inibitória frente à linhagem celular MCF7.

Atividade moderada foi observada frente à linhagem PC3, quando testada frente ao extrato TPGA (57,53%). A Tabela 12, traz os valores obtidos para IC% e a classificação de acordo com o potencial citotóxico de cada extrato testado. A Figura 33 amplia a análise através de gráficos

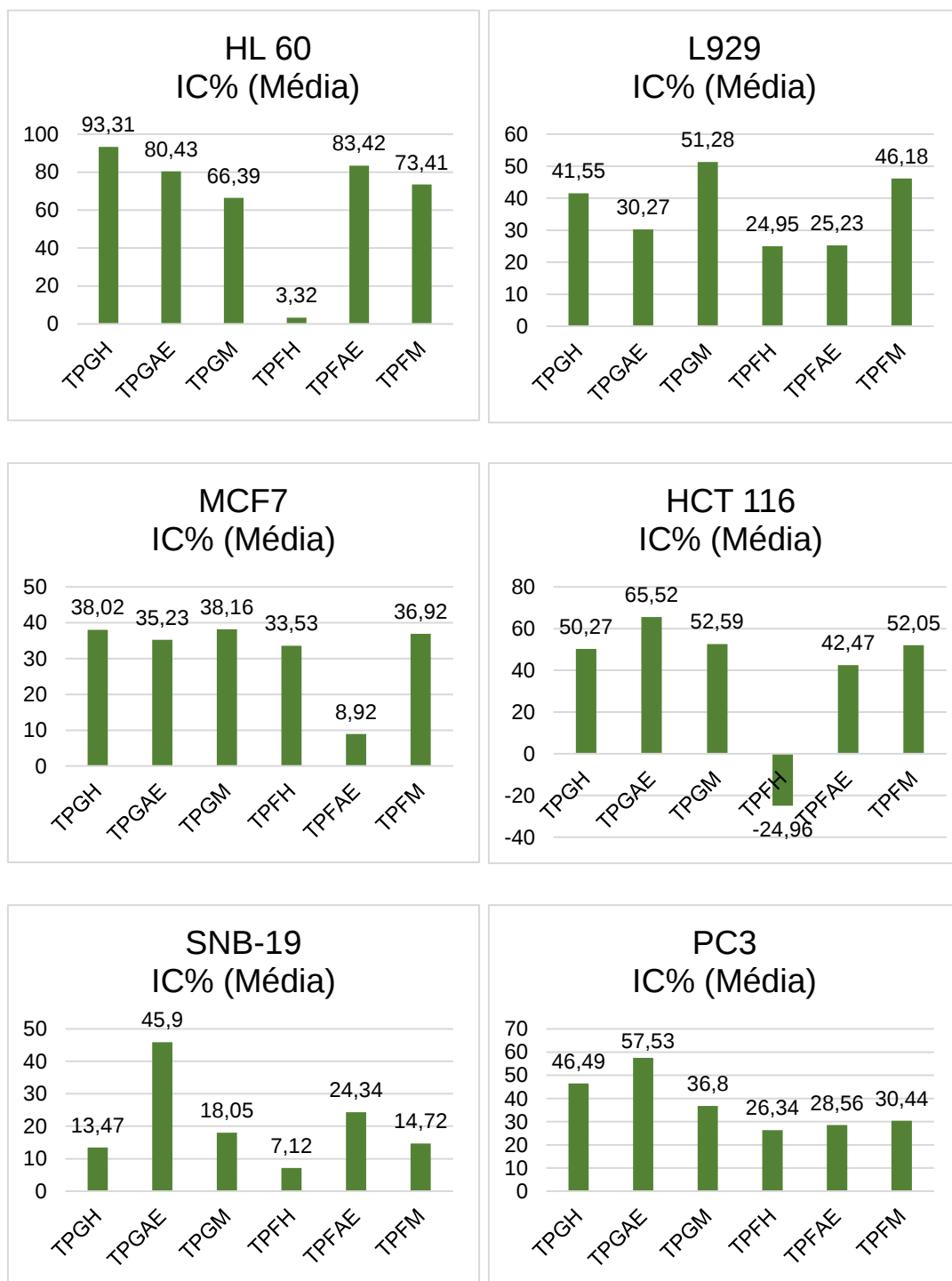
comparativos da IC% nas diferentes linhagens celulares frente aos extratos em concentração única testada.

Tabela 12- Porcentagem de Inibição Celular de extratos das folhas, galhos e cascas do caule de *Tibouchina papyrus* frente às linhagens celulares em concentração única de 100 µg.µL⁻¹.

Linhagens	HL 60		HCT 116		MCF7		SNB-19		PC3		L929	
Extratos	IC%		IC%		IC%		IC%		IC%		IC%	
TPGH	93,31±1,85	AA	50,27±3,77	AM	38,02±1,39	BA	13,47±2,47	BA	46,49±3,13	BA	41,55±3,57	BA
TPGA	80,43±3,64	AA	65,52±3,12	AM	35,23±5,32	BA	45,9±2,39	BA	57,53±0,68	AM	30,27±5,4	BA
TPGM	66,39±6,97	AM	52,59±18,77	AM	38,16±1,76	BA	18,05±6,48	BA	36,8±1,75	BA	51,28±7,01	AM
TPFH	3,32±13,01	BA	-24,96±18,53	SA	33,53±3,82	BA	7,12±7,19	BA	26,34±5,35	BA	24,95±1,4	BA
TPFA	83,42±2,07	AA	42,47±9,02	BA	8,92±3	BA	24,34±1,21	BA	28,56±4,28	BA	25,23±0,23	BA
TPFM	73,41±1,98	AM	52,05±12,55	AM	36,92±0,37	BA	14,72±4,75	BA	30,44±8,34	BA	46,18±2,7	BA

Legenda: IC%: Porcentagem de inibição celular ± DP: desvio padrão da média; SA: sem atividade; BA: baixa atividade (inibição do crescimento celular variando de 1 a 50%); AM: atividade moderada (inibição do crescimento celular variando de 50,1 a 75%); AA: alta atividade (inibição do crescimento celular superior a 75%).

Figura 33- Gráficos de inibição em concentração única dos extratos de *T. papyrus* frente a seis linhagens celulares.



Fonte: a autora.

Os extratos TPGH, TPFA e TPGA apresentaram atividade citotóxica frente à linhagem celular HL-60 com valores respectivamente iguais a 93,31% ($\pm 1,85$), 83,42% ($\pm 2,07$) e 80,43% ($\pm 3,64$). Os valores indicam forte ação

citotóxica, e os baixos valores para o desvio padrão indicam a reprodutibilidade do experimento.

A família Melastomataceae, em outro estudo realizado com a espécie *Miconia burchellii* indicou também efeito citotóxico frente a mesma linhagem celular, HL-60 com inibição de 90,33% e baixa citotoxicidade frente a linhagem não tumoral L929 (42,34%), o que reforça a necessidade de ampliação dos estudos para a família Melastomataceae (CUNHA *et al.*, 2021).

Outro aspecto a se observar é a baixa atividade dos extratos metanólicos, permitindo inferir que a polaridade não é fator indicativo de atividade citotóxica, os extratos mais apolares ou de baixa polaridade apresentaram alta citotoxicidade.

5.5 DETERMINAÇÃO DA CMI E CMB

Para Hertz *et al.* (2002) os extratos que apresentam CMI inferior a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, a atividade antimicrobiana é considerada boa, de 100 a 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ a atividade antimicrobiana é moderada, de 500 a 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ a atividade antimicrobiana é fraca, mais de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ o extrato pode ser considerado inativo.

Os resultados obtidos no ensaio de atividade antibacteriana realizados frente aos patógenos *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* estão apresentados na Tabela 13, considerando as concentrações iniciais de 4000, 2000, 1000, 500, 250 e 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo que na placa as concentrações caem pela metade das iniciais. Os controles positivos da técnica, cloranfenicol e gentamicina, apresentaram resultados preconizados pelo CLSI (2016).

Tabela 13- Resultado do ensaio de atividade antibacteriana frente aos extratos de *Tibouchina papyrus* em $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

	Gram positivas				Gram negativas			
	S a		S e		E c		P a	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
TPGH	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
TPGA	>2000	>2000	2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
TPGM	500	2000	250	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
TPFH	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
TPFA	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
TPFM	500	2000	500	1000	>2000	>2000	250	>2000
Cloranfenicol	4,0	-	4,0	-	-	-	-	-
Gentamicina	-	-	-	-	1,0	-	1,0	-

Legenda: CMI: Concentração mínima inibitória ($\mu\text{g.mL}^{-1}$); CMB: Concentração mínima bacteriostática ($\mu\text{g.mL}^{-1}$); Sa: *Staphylococcus aureus*; Se: *Staphylococcus epidermidis*; Ec: *Escherichia coli*; Pa: *Pseudomonas aeruginosa*. Fonte: a autora.

O extrato TPGM apresentou CMI de $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ frente a *S. aureus* e CMB de $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, frente a *S. epidermidis* o extrato apresentou CMI de $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e CMB superior a $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo inativo para as linhagens *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Quando exposto frente à *S. aureus* o extrato TPFM apresentou CMI de $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e CMB de $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, já contra *S. epidermidis* apresentou CMI de $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e CMB de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, apresentando atividade moderada frente a *P. aeruginosa* com valor de CMI de $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e CMB maior que $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Já frente a *E. coli* foi considerado inativo.

O extrato TPGA apresentou CMI de $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ frente à *S. epidermidis*, sendo considerado inativo e CMB superior à $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo também inativo, segundo à classificação proposta, frente às demais cepas testadas.

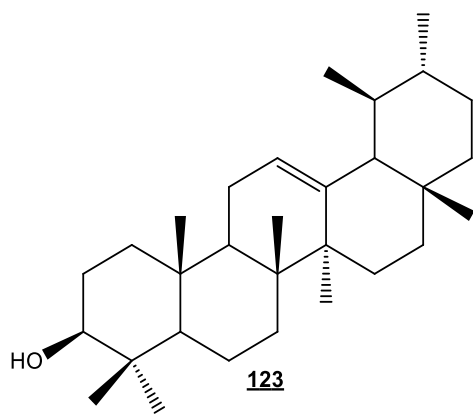
Os extratos TPGH, TPFH, TPFA apresentaram-se inativos frente às bactérias testadas.

Observa-se que para bactérias Gram negativas, poucos extratos apresentam atividade antibacteriana, isso se dá devido à presença de uma camada adicional na membrana celular lipopolissacarídica, o que dificulta a entrada de substâncias devido a rigidez da parede celular, reduzindo a penetrabilidade de compostos bioativos, portanto para ultrapassarem essa membrana os extratos precisariam estar incorporados a moléculas transportadoras lipossolúveis como o colesterol (GONTIJO *et al.*, 2019).

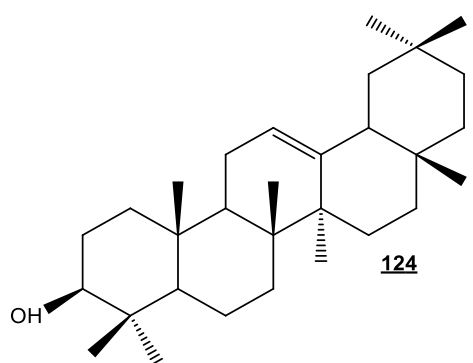
5.6 ELUCIDAÇÃO DOS COMPOSTOS ISOLADOS

O estudo fitoquímico dos extratos TPGA e TPFA resultaram na identificação de três substâncias : dois triterpenos α -amirina (**123**) e β -amirina (**124**) e o etil feoforbídeo A (**125**). Os dados dos isolamentos encontram-se descritos na Figura 34.

Figura 34- Estruturas das substâncias isoladas com os dados sobre o processo de isolamento e identificação.

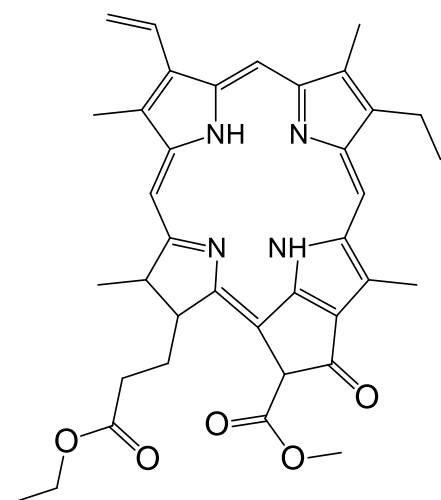


α -amirina
(3 β)-Urs-12-en-3-ol
massa: 1,2 mg
Procedência: extrato TPGAE
Isolamento: pág. 75
Elucidação: pág. 99



β -amirina
(3 β)-Olean-12-en-3-ol
massa: 1,2 mg
Procedência: extrato TPGA
Isolamento: pág. 78
Elucidação: pág. 109

Continuação da Figura 33



125

Etil feoforbídeo A
massa: 1,2 mg
Procedência: extrato TPFA
Isolamento: pág. 80
Elucidção: pág. 112

5.6.1 ELUCIDAÇÃO DA SUBSTÂNCIA E1 e E2

A mistura de substâncias E1 e E2, originária da fração TPGA, apresentou-se na forma de um sólido de coloração branca. Foi solubilizado em clorofórmio deuterado e encaminhado para análise de RMN ^1H , HMBC e HSQC, e em comparação com DIAS et al., 2011, indicou se tratar da mistura dos triterpenos α e β -amirina (Figuras 35 e 36), já isolados anteriormente no gênero por Castorena-Pérez (2014), Cunha et al. (2009) e Santos et al. (2012).

No espectro de RMN de ^1H (Figura 37 e 38) estão presentes vários sinais entre 0,5 e 1,5 ppm (δ_{H}) os quais são característicos de carbonos metílicos e metilênicos de triterpenos (GUIMARÃES e SIANI, 2007). É possível observar em aproximadamente 3,26 ppm um duplo dubletos ($J= 4,5$; 11 Hz) que são característicos de triterpenos $3\beta\text{-OH}$ (H-3), confirmado com o sinal de C-3 próximo de 79,3 ppm obtido no espectro de correlação – HSQC, região característica da função álcool em triterpenos (AYRES et al., 2008). O espectro de RMN ^1H também apresenta dois tripletos na região característica de hidrogênios olefínicos (4,5 - 7,5), que podem ser atribuídos ao H-12 da α -amirina em 5,28 ppm (1H, t, $J= 3$ Hz) e β -amirina 5,31 ppm (1H, t, $J= 3,7$ Hz), valores próximos aos encontrados na literatura 5,06 e 5,12 ppm (DIAS et al., 2011).

O sinal de carbono confirmado nos espectro de HSQC (Figura 39) relaciona-se ao C-12 para a α -amirina em 125,6 ppm (indicado na literatura 124,4 ppm) e 122,8 ppm para a β -amirina (correspondente na literatura a 121,7 ppm). Os sinais de correlação de HMBC (Figura 40 e 41) expressam as correlações possíveis de serem observadas na mistura.

Figura 35- Estrutura química da substância **E1 (α -amirina)** identificada em mistura com **E2**.

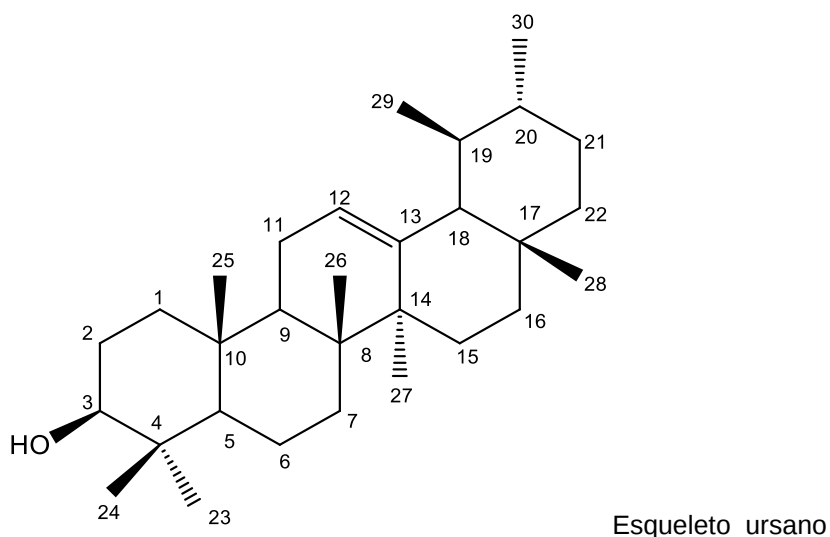
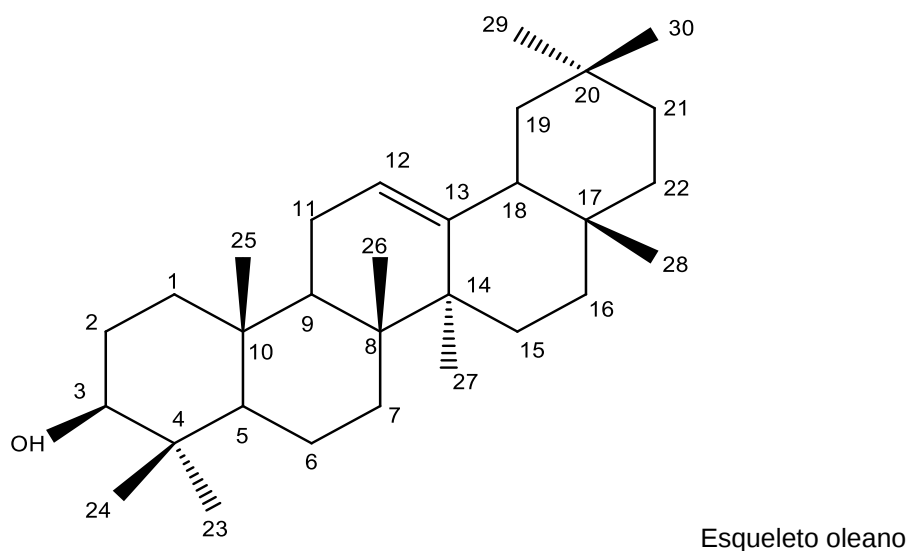


Figura 36- Estrutura química da substância **E2 (β -amirina)** identificada em mistura.



Os dados comparativos dos sinais obtidos nas análise de RMN de 1D e 2D, foram comparadas com a literatura, os dados encontram-se destacados nas Tabelas 14, 15 e 16.

Tabela 14- Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) e ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da substância **E1** em comparação com α -amirina presente na literatura.

H/C	δH (ppm), J (Hz)		Literatura δC (ppm)	
	Substância E1	DIAS <i>et al.</i> , 2011	Substância E1	DIAS <i>et al.</i> , 2011
1			-	38,7
2			-	28,7
3	3,28 (dd, $J = 4,4$; 10,9)	3,16 (dd, $J = 5,1$; 11,2)	79,3	79,6
4			-	38,7
5	0,67 (d, $J = 11,6$)	0,67 (d, $J = 11,6$)	55,0	55,1
6			-	18,4
7			-	32,2
8		-	-	40,0
9			-	47,7
10		-	-	36,9
11			23,4	23,3
12	5,28 (t, $J = 3,3$)	5,06 (t, $J = 3,2$)	125,6	124,4
13		-	138,2	139,5
14		-	-	42,0
15	1,94 (td, $J = 3,5$; 13,5)	1,94 (td, $J = 4,5$; 13,5 H_β)	27,2	27,2
16	1,76 (td, $J = 4,8$; 13,7)	1,76 (td, $J = 5,0$; 13,5 H_β)	-	26,6
17		-	-	33,7
18	2,20 (d, $J = 14,1$)		-	59,0
19			-	39,6
20			-	39,6
21			-	31,2
22	1,85 (dt, $J = 3,0$; 7,2)	1,85 (dt, $J = 3,0$; 7,0)	-	41,5
23	0,93 s	0,93 s	28,2	28,1
24	0,74 s	0,74 s	15,2	15,6
25	0,73 s	0,73 s	15,2	15,6
26	0,89 s	0,89 s	16,4	16,8
27	1,01 s	1,01 s	23,4	23,2
28	0,95 s	0,94 s	28,1	28,1
29	0,85 (d, $J = 6,4$)	0,85 (d, $J = 6,0$)	16,9	17,4
30	0,73 (d, $J = 6,7$)	0,73 (d, $J = 7,0$)	17,8	21,4

Observação: os dados obtidos para os sinais de C foram retirados dos espectros de 2D.

Tabela 15- Dados de RMN de ^{13}C e ^1H (CDCl_3 , 125 MHz) da substância **E2** em comparação com os dados de RMN da β -amirina presente na literatura.

H/C	δH (ppm), J (Hz)		Literatura δC (ppm)	
	Substância E2	DIAS <i>et al.</i> , 2011	Substância E2	DIAS <i>et al.</i> , 2011
1			-	38,7
2			-	27,2
3	3,22 (dd, J= 4,5 e 11)	3,15 (dd, J = 4,4; 10,8)	-	79,3
4			-	38,5
5	0,70 (d, J= 9,2)	0,68 (d, J = 11,0)	-	55,1
6			-	18,6
7			-	32,4
8		-	-	39,8
9			-	47,6
10		-	-	36,9
11			-	23,6
12	5,31 (t, J= 3,7)	5,12 (t, J=3,2)	122,8	121,7
13		-	144,8	145,2
14		-	-	41,7
15	1,89 (td, J=3,5; 13,3)	1,89 (td, J=4,0; 14,0)	-	26,2
16	1,72 (td, J= 4,7; 15,3)	1,70 (td, J= 4,3; 13,5)	-	26,1
17			-	32,6
18	2,84 (dd, J= 2,75; 14,4)		41	47,2
19			-	46,8
20			-	31,0
21			-	34,7
22	1,82 m	1,80 m	-	37,1
23	0,78 s	0,77 s	23,4	28,0
24	0,90 s	0,90 s	17,1	15,4
25	0,73 s	0,73 s	14,0	15,4
26	0,93 s	0,93 s	16,2	16,8
27	1,19 s	1,19 s	23,8	25,9
28	1,07 s	1,07 s	27,8	28,4
29	0,92 s	0,87 s	32,9	33,8
30	0,80 s	0,80 s	17,8	23,7

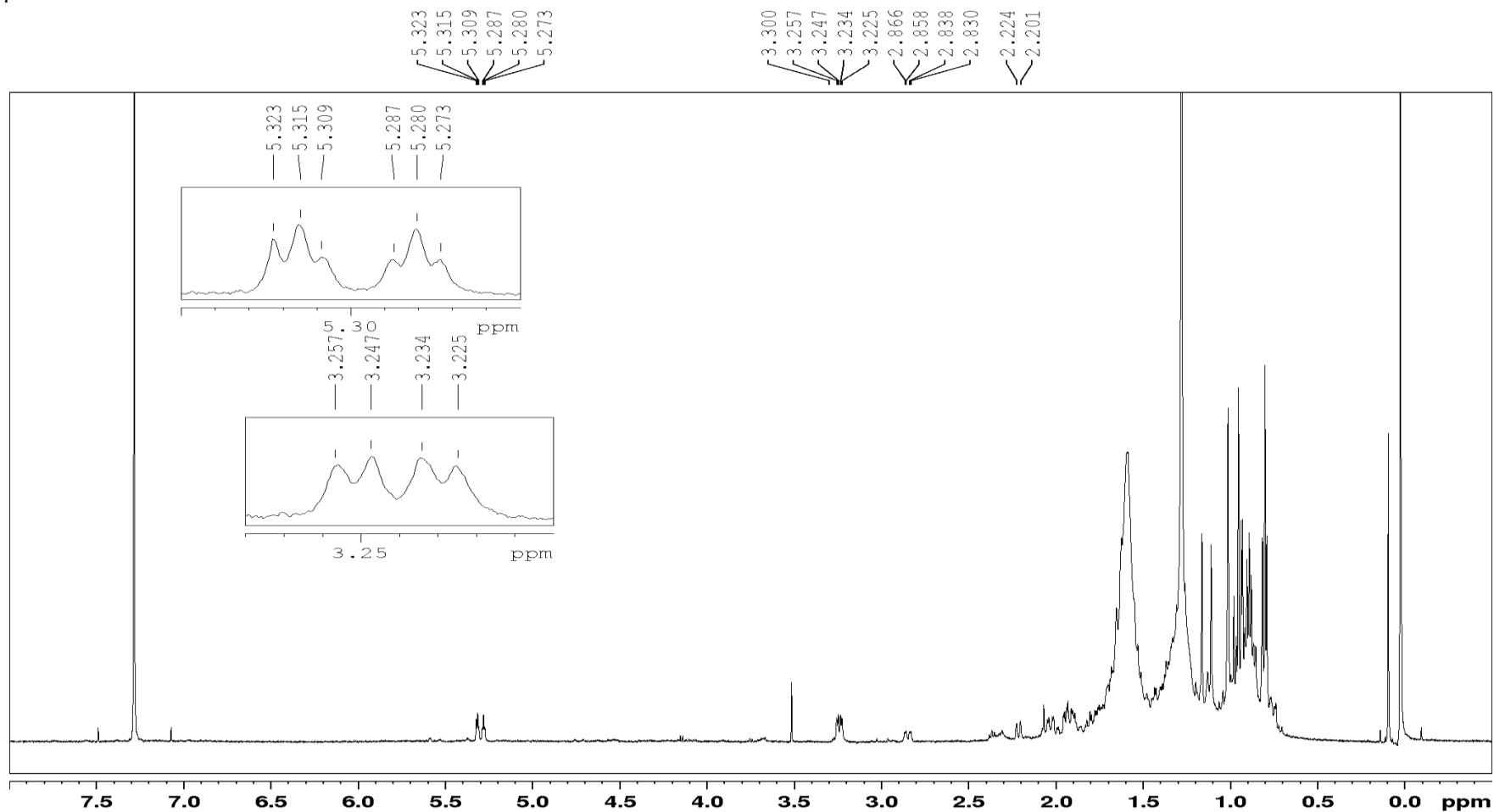
Observação: os dados obtidos para os sinais de C foram retirados dos espectros de 2D.

Tabela 16- Dados de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz), ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) e HMBC da mistura de **E1** e **E2**.

H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz) α - amirina	δ_{H} (ppm), J (Hz) β -amirina	δ_{C} (ppm) α -amirina	δ_{C} (ppm) β -amirina	HMBC	
					$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1				-		
2				-		
3	3,28 (dd, J= 4,4; 10,9)	3,22 (dd, J= 4,5; 11)	79,3	79,3		C-23, C-24
4				-		
5	0,67 (d, J= 11,6)	0,70 (d, J= 9,2)	55,0	55,0		
6				-		
7				-		
8				-		
9				-		
10				-		
11			23,4	23,4		
12	5,28 (t, J= 3,3)	5,31 (t, J= 3,7)	125,6	122,8		C-14, C-18
13			138,2	144,8		
14				-		
15	1,94 (td, J= 3,5; 13,5)	1,89 (td, J=3,5; 13,3)	27,2	27,2		
16	1,76 (td, J= 4,8; 13,7)	1,72 (td, J= 4,7; 15,3)	-	-		
17				-		
18	2,20 (d, J= 14,1)	2,84 (dd, J=14,4)	52,5	41	C-13, C-17	C-12, C-14
19				-		C-28
20				-		
21				-		
22	1,85 (dt, J= 3,0; 7,2)	1,82 m	-	-		
23	0,93 s	0,78 s	28,2	23,4		C-3, C-5, C-24
24	0,74 s	0,90 s	15,2	17,1		
25	0,73 s	0,73 s	15,2	14,0		C-5
26	0,89 s	0,93 s	16,4	16,2		C-14
27	1,01 s	1,19 s	23,4	23,8	C-14	C-13
28	0,95 s	1,07 s	28,1	27,8		
29	0,85 (d, J= 6,4)	0,92 s	16,9	32,9		C-18
30	0,73 (d, J= 6,7)	0,80 s	17,8	17,8	C-20	C-21

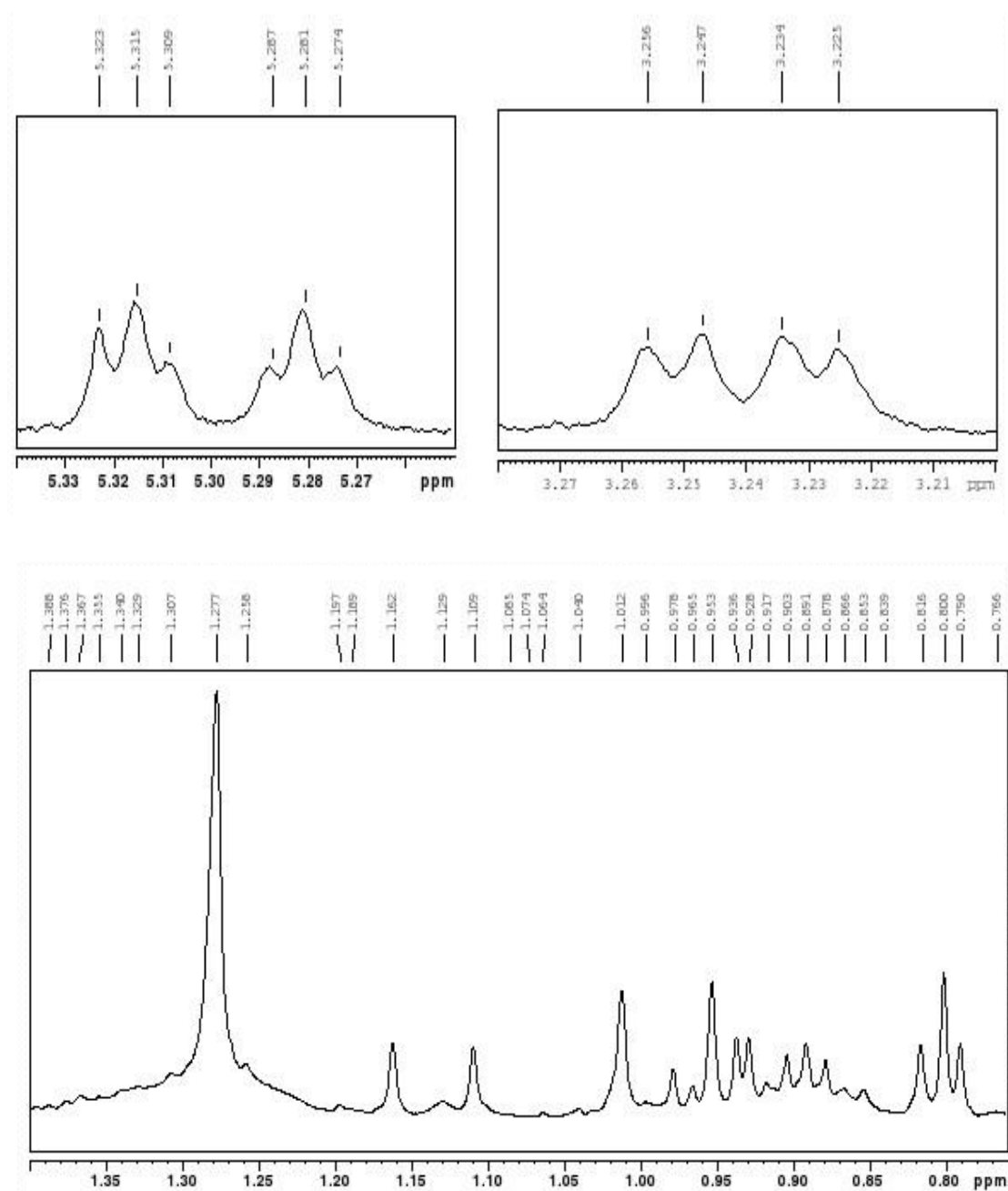
Observação: os dados obtidos para os sinais de C foram retirados dos espectros de 2D.

Figura 37- Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) das substâncias **E1** e **E2**, referente à mistura dos triterpenos pentacíclicos α e β -amirina



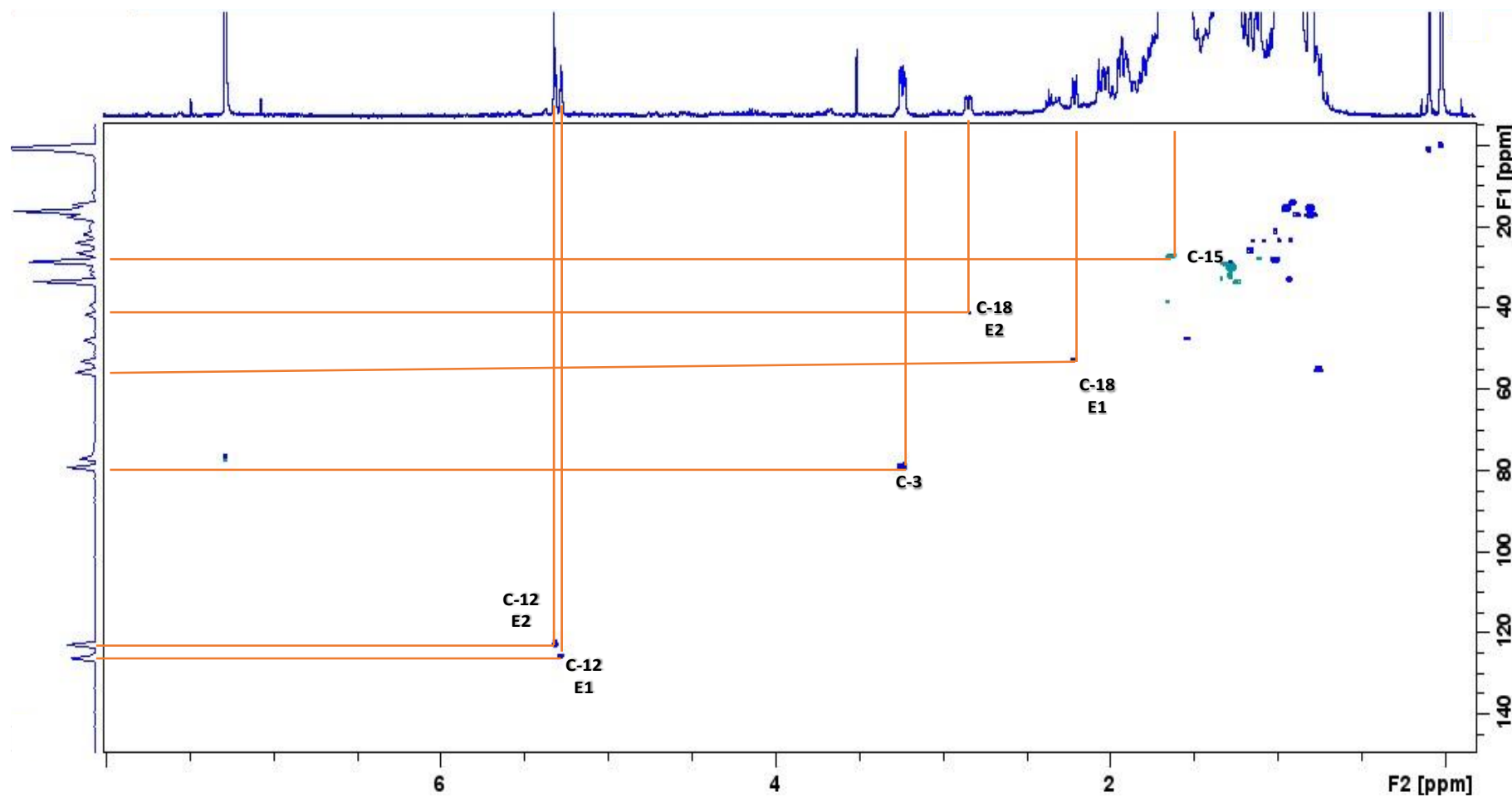
Fonte: a autora.

Figura 38- Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) das substâncias **E1** e **E2**, referente à mistura dos triterpenos pentacíclicos α e β -amirina.



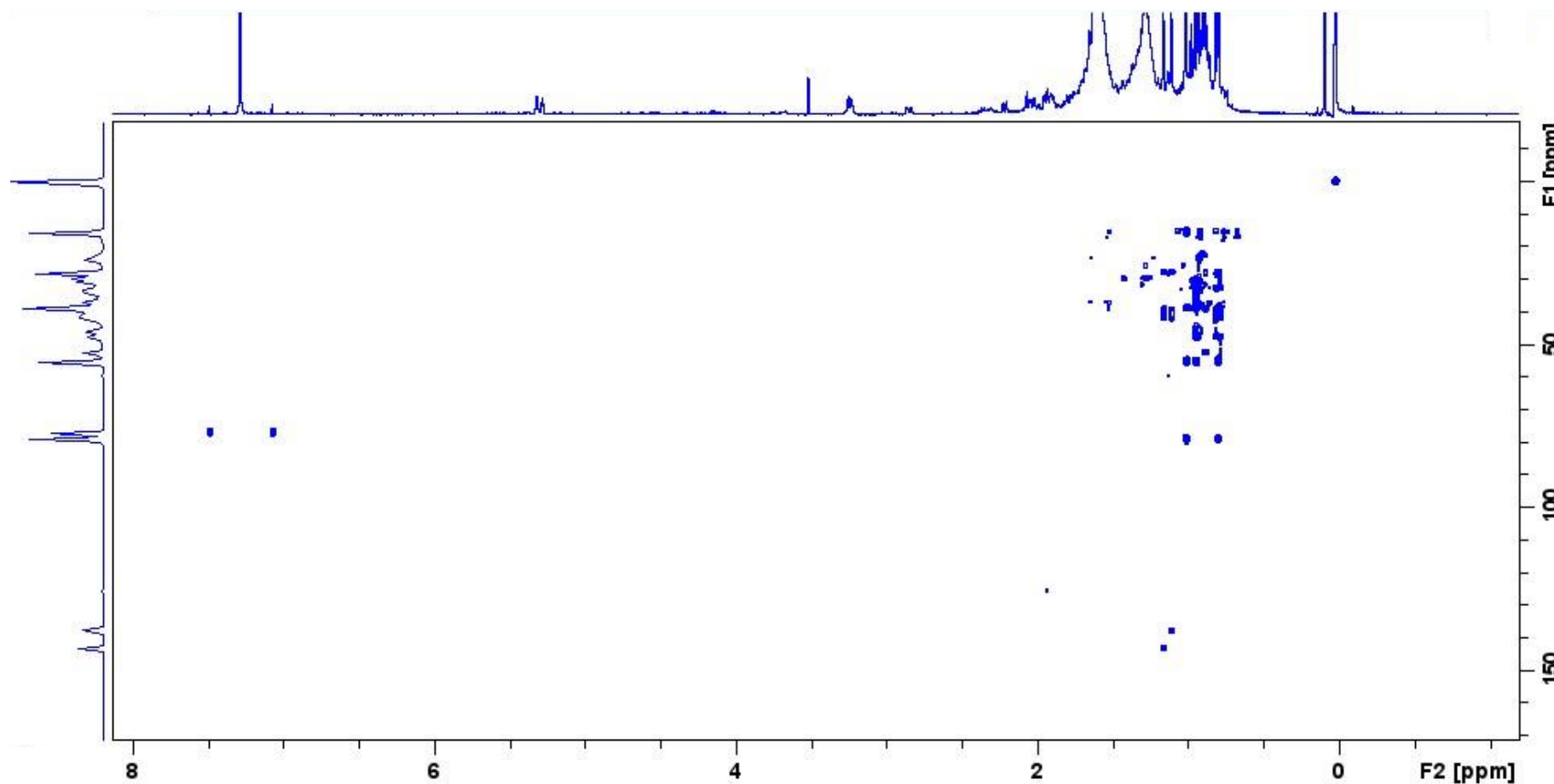
Fonte: a autora.

Figura 39- Ampliação do espectro de RMN em 2D, de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HSQC, (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz) para **E1** e **E2**.



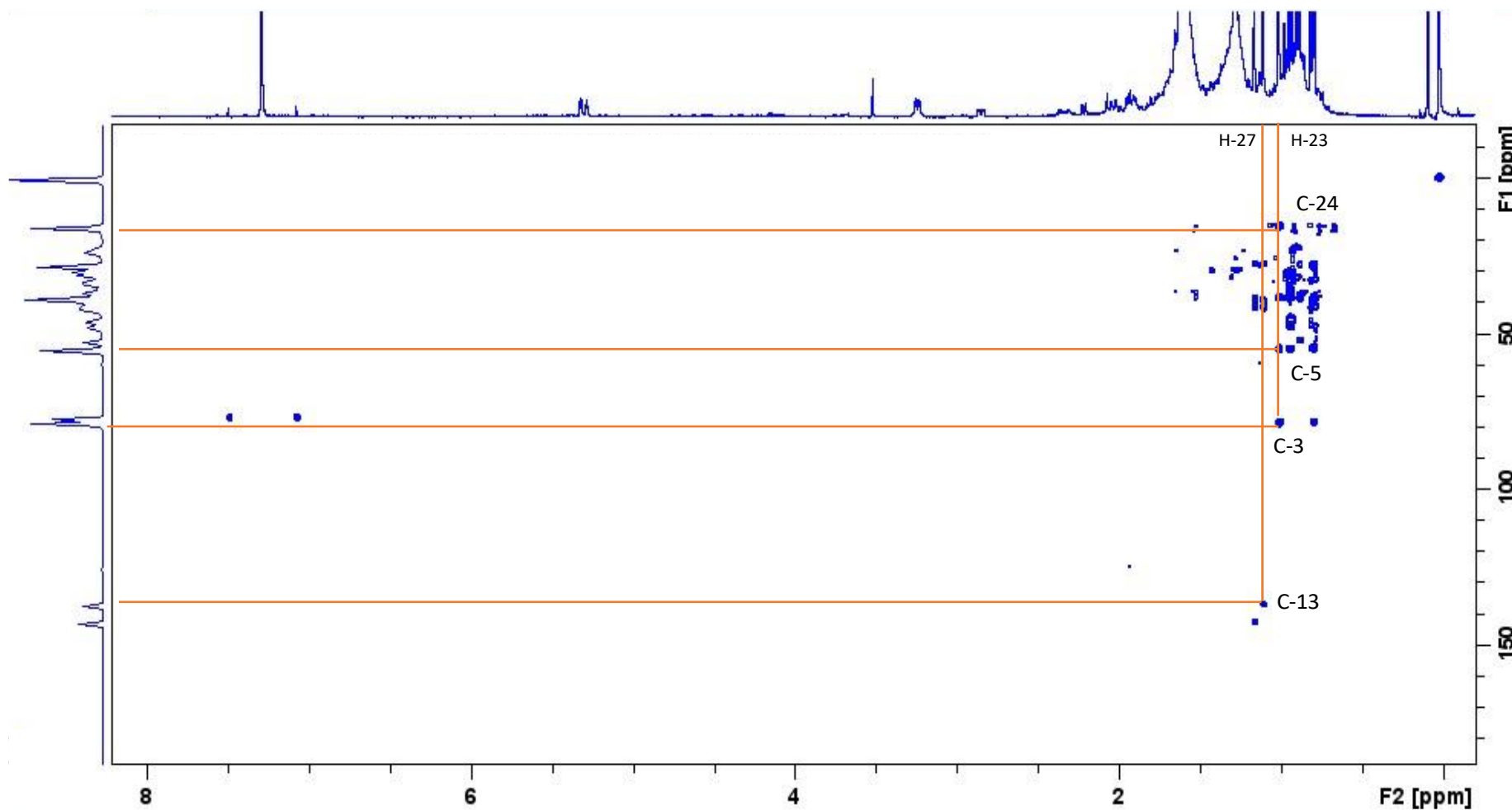
Fonte : a autora.

Figura 40- Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz) da mistura das substâncias **E1** e **E2**.



Fonte: a autora.

Figura 41- Ampliação do espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HMBC, (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz) da mistura das substâncias **E1** e **E2**

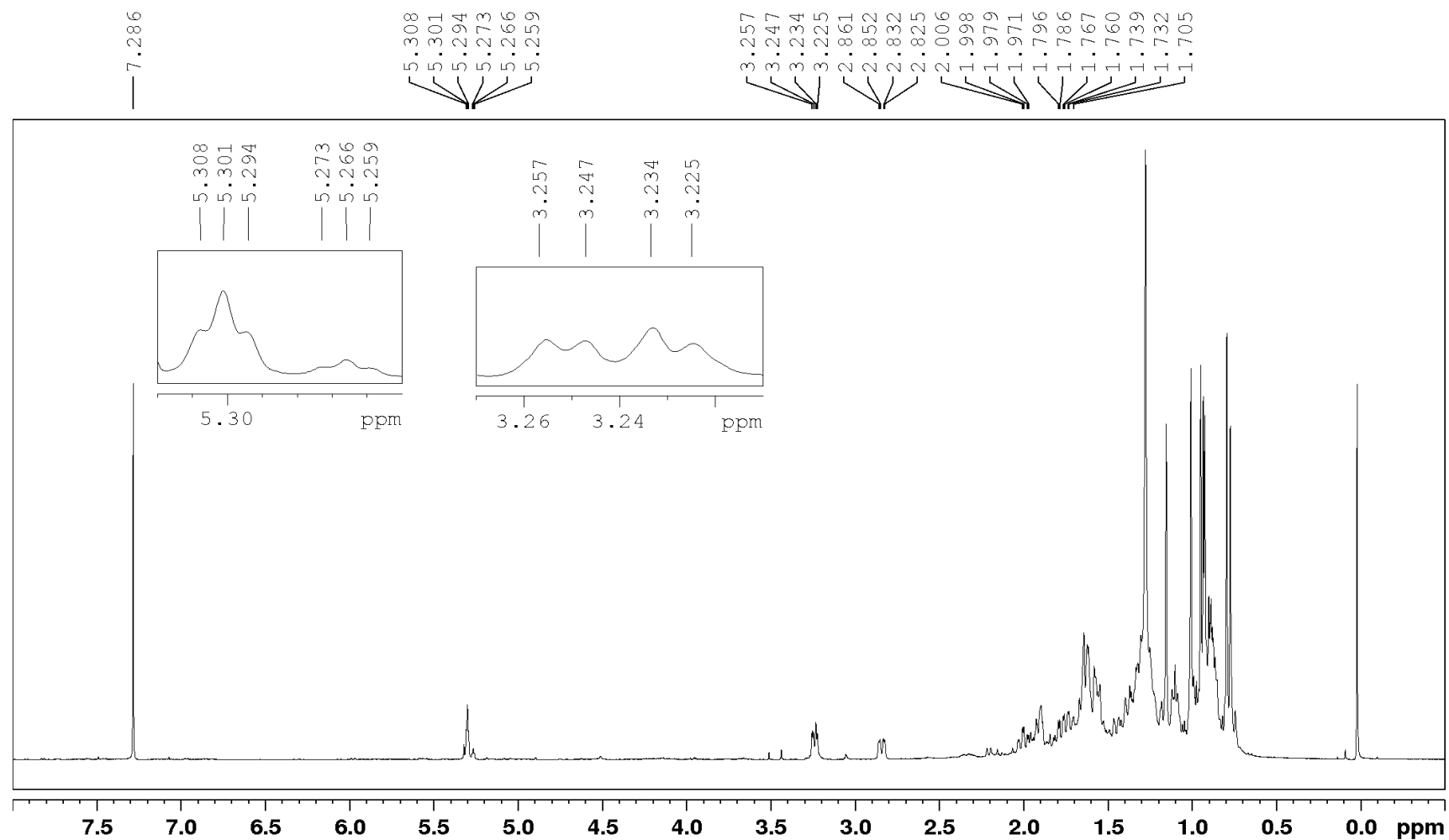


Fonte: a autora.

5.6.2 ELUCIDAÇÃO DA SUBSTÂNCIA E1 e E2

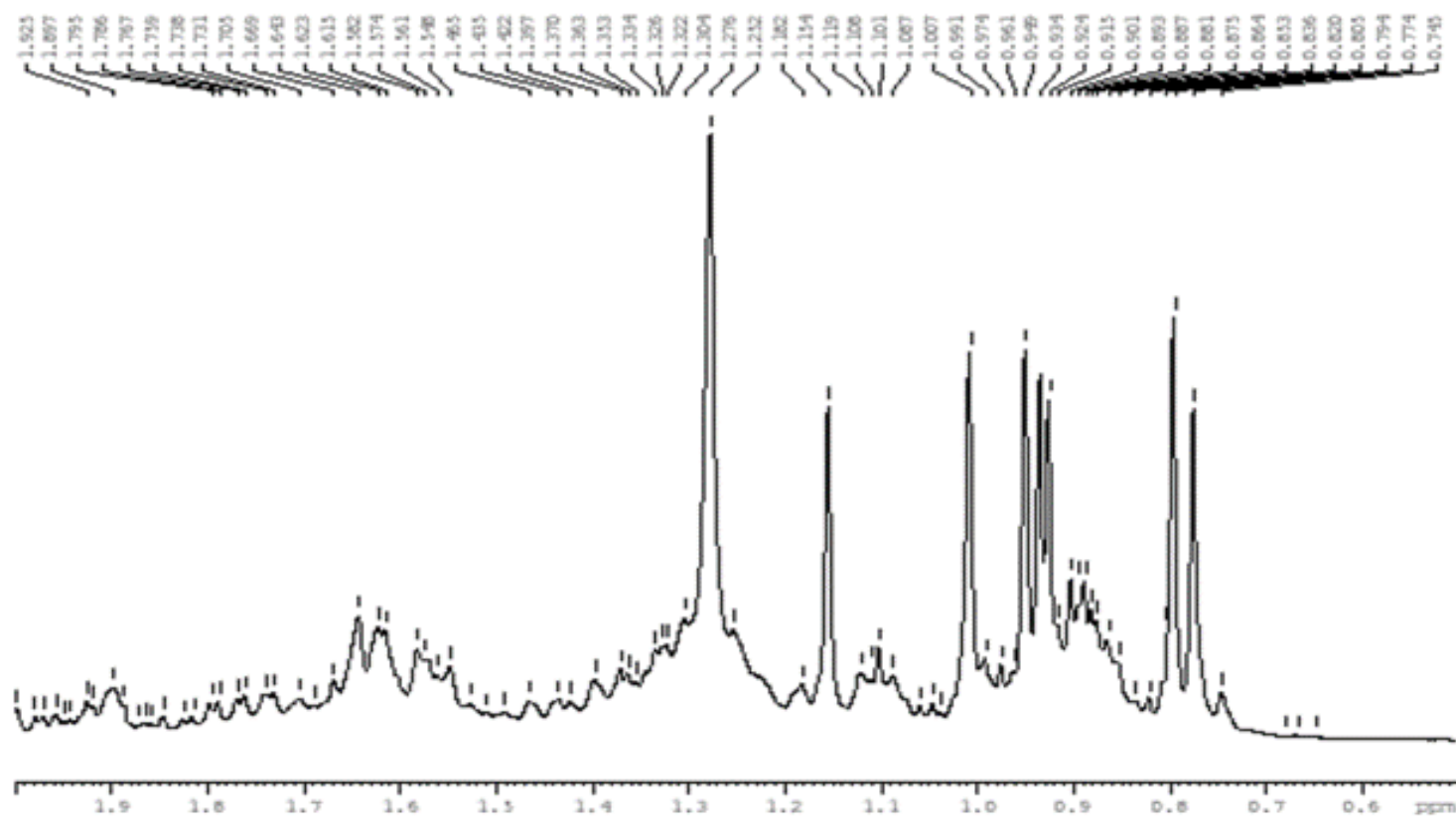
No espectro de RMN de ^1H (Figura 42 e 43) estão presentes vários sinais entre 0,5 e 1,5 ppm (δ_{H}), característicos de carbonos metílicos e metilênicos de triterpenos. É possível observar em aproximadamente 3,22 e 3,24 (dd, 1H, $J = 0,55 ; 11,3 \text{ Hz}$) ppm um duplo dubleto característico de triterpenos $3\beta\text{-OH}$. Dois tripletos localizados na região característica de hidrogênios olefínicos (4,5-7,5), confirmam a presença da mistura. O sinal relaciona-se à α -amirina é 5,26 (t, 1H, $J = 3,55 \text{ Hz}$) e β -amirina 5,30 (t, 1H, $J = 3,25 \text{ Hz}$), o que permite concluir que se trata de uma mistura onde a β -amirina é a substância majoritária. A ausência do sinal de H carbonílico na região de $\delta_{\text{H}} \sim 11 \text{ ppm}$, indica não se tratar do ácido ursólico ou oleanólico.

Figura 42 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) das substâncias **E3** e **E4**, referente à mistura dos triterpenos pentacíclicos α e β -amirina.



Fonte: a autora.

Figura 43- Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) das substâncias **E3** e **E4**, referente à mistura dos triterpenos pentacíclicos α e β -amirina.



Fonte: a autora.

5.6.3 ELUCIDAÇÃO DA SUBSTÂNCIA E5

A substância **E5** foi isolada a partir do extrato acetato de etila das folhas (TPFA), é caracterizado como um sólido de coloração preto azulada. Foram realizados experimentos de RMN em uma e duas dimensões (Figuras 45 a 52) para a identificação da substância, sendo confirmada pela comparação com Cunha (2021).

O espectro de RMN de ^1H indicou absorções para hidrogênios vinílicos δH 7,96 (dd, H-3¹, J = 11,5; 11,5 Hz), 6,28 (dd, H-3², E, J = 14,1; 3,2 Hz), 6,17 (dd, H-3², Z, J = 14,1; 3,2 Hz). Três metilas em 3,71 (s, H-12¹), 3,44 (s, H-2¹), 3,23 (s, H-7¹), também três hidrogênios olefínicos em 9,54 (s, H-10) 9,38 (s, H-5) e 8,57 (s, H-20), estes últimos relativos aos hidrogênios do núcleo porfirínico das feofitinas do tipo A. Adicionalmente, observou-se um conjunto de deslocamentos químicos para hidrogênios metoxílicos em 3,91 (s, H-13⁴) e etoxílicos em 4,46 (m, H-17⁴), 1,28 (t, H-17⁵, J = 5,7 Hz). Há ausência de um envelope de sinais na região de hidrogênios alifáticos, normalmente atribuído à cadeia do fitol nas feofitinas (CUNHA, 2021).

O espectro de HMBC confirma as posições dos grupos substituintes no anel porfirínico mostrando correlação e a três ligações entre os sinais em δH 6,29 (H-3² E) e 6,17 (H-3² Z) com δC 136,3, atribuído ao C-3; entre o sinal em δH 7,97 (H-3¹) com δC 131,6, atribuído ao C-2; e ainda entre o sinal em δH 1,68, atribuído ao CH₃-8², com δC 145,5, atribuído ao C-8, permitindo assim definir as posições 3 e 8 para os grupos vinílico e etílico (CUNHA, 2021).

A confirmação das posições dos grupos metílicos olefínicos foi feita com base nas seguintes correlações observadas no espectro HMBC: CH₃-2¹ (δH 3,40) com δC 142,0 (C-1, ³ J) e δC 131,6 (C-2, ² J); CH₃-7¹ (δH 3,23) com δC 136,9 (C-7, ² J), δC 145,5 (C-8, ³ J) e δC 155,4 (C-6, ³ J) e CH₃-12¹ (δH 3,68) com δC 129,6 (C-13, ³ J) e δC 137,4 (C-11, ³ J). A presença do grupo metílico na posição 18 foi confirmada pela correlação entre o sinal em δH 1,81 (CH₃-18¹) com δC 50,7, atribuído ao C-18 (² J) e com δC 172,8, atribuído ao C-19 (³ J). Os sinais presentes evidenciam a estrutura do etil feoforbídeo A, sendo este o primeiro relato para o gênero *Tibouchina*.

Figura 44- Estrutura química do etil feoforbídeo A, substância **E5**.

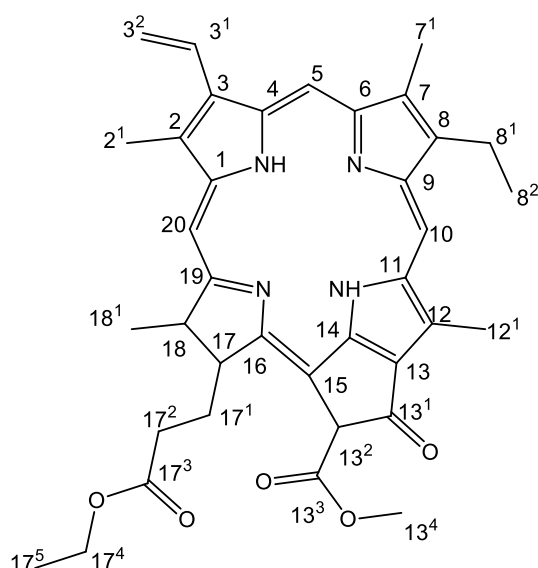


Tabela 17- Dados de RMN de ^{13}C e ^1H (CDCl_3 , 125 MHz) da substância **E5** em comparação com os dados de RMN presentes na literatura. (continua)

H/C	δH (ppm), J (Hz)		δC (ppm)	
	Substância E5	Cunha, 2021	Substância E5	Cunha, 2021
1			142,0	142,0
2			131,6	131,8
2 ¹	3,40 s	3,39 s	12,0	12,1
3			136,3	136,5
3 ¹	7,96 (dd, J = 11,5; 11,5)	7,97 (dd, 3J = 13,8; 11,4)	129,0	129,0
3 ² (E)	6,28 (dd, J = 14,1; 3,2)	6,25 (dd, 3J = 15,2; 2J = 2,3)	122,8	122,8
3 ² (Z)	6,17 (dd, J = 14,1 ; 3,2)		122,8	122,8
4			136,2	136,2
5	9,38 s	9,36 s	97,7	97,5
6			155,4	155,5
7			136,9	136,1
7 ¹	3,23 s	3,15 s	11,7	11,2
8			145,5	145,2
8 ¹	3,67 (q, J = 8,0)	3,66 (q, 3J = 8,3)	19,3	19,7
8 ²	1,68 (t, J = 7,4)	1,68 (t, 3J = 8,3)	17,9	17,3

Continuação da Tabela 17

H/C	δH (ppm), J (Hz)		δC (ppm)	
	Substância E5	Cunha, 2021	Substância E5	Cunha, 2021
9			151,2	151,0
10	9,52 s	9,50 s	105,5	104,4
11			137,4	137,9
12			130,0	129,1
12 ¹	3,66 s	3,65 s	12,3	12,2
13			129,6	129,0
13 ¹			190,1	189,6
13 ²	6,25 s	6,26 s	64,7	64,7
13 ³			173,0	173,0
13 ⁴	3,91 s	3,88 s	53,2	53,0
14			150,0	150,0
15			105,5	105,2
16			161,5	161,3
17	4,25 m	4,21 m	50,9	51,1
17 ¹			29,8	29,8
17 ²			31,2	31,2
17 ³			172,3	172,0
17 ⁴	4,46 m	4,02 m	62,2	61,0
17 ⁵	1,12 (t, $J=5,7$)	1,10 (t, $^3J=7,3$)	14,3	14,0
18	4,47 m	4,47 m	50,7	50,1
18 ¹	1,82 (d, $J=7,3$)	1,81 (d, $^3J=7,3$)	22,7	22,7
19			172,8	170,0
20	8,57 s	8,55 s	93,2	93,1

Observação: os sinais de carbono obtidos encontram-se detalhados nos espectros de 2D (HSQC e HMBC).

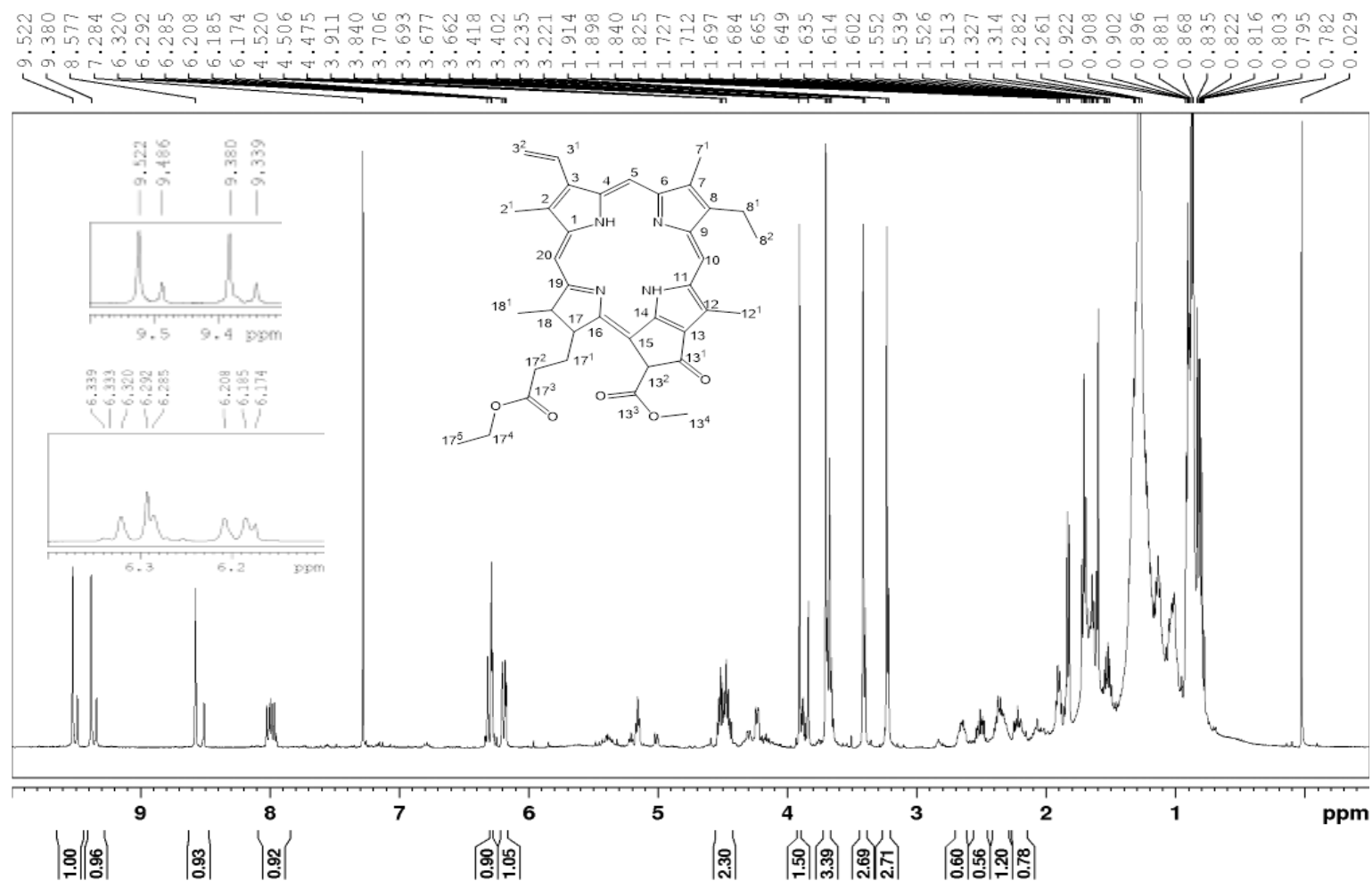
Tabela 18- Dados de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz), ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) e HMBC da mistura de **E5**.
(continua)

H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)	δ_{C} (ppm)	HMBC	
			$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1		142,0		
2		131,6		
2 ¹	3,40 s	12,0	C-2	C-1
3		136,3		
3 ¹	7,96 (dd, J= 11,5; 11,5)	129,0	C-3 ²	C-2; C-4
3 ² (E)	6,28 (dd, J= 14,1; 3,2)	122,8	C-3 ¹	C-3
3 ² (Z)		122,8		C-3
4		136,2		
5	9,38 s	97,7		C-7
6		155,4		
7		136,9		
7 ¹	3,23 s	11,7	C-7	C-6; C-8
8		145,5		
8 ¹	3,67 (q, J= 8,0)	19,3	C-8, C-8 ²	C-9
8 ²	1,68 (t, J= 7,4)	17,9	C-8 ¹	C-8
9		151,2		
10	9,52 s	105,5	C-11	C-8; C-12
11		137,4		
12		130,0		
12 ¹	3,66 s	12,3		C-11; C-13
13		129,6		
13 ¹		190,1		
13 ²	6,25 s	64,7	C-15; C-13 ¹ ; C-13 ³	C-14
13 ³		173,0		
13 ⁴	3,91 s	53,2	C-13 ³	
14		150,0		
15		105,5		
16		161,5		
17	4,25 m	50,9	C-17 ¹	C-18 ¹
17 ¹		29,8	C-17 ²	

Continuação da Tabela 18

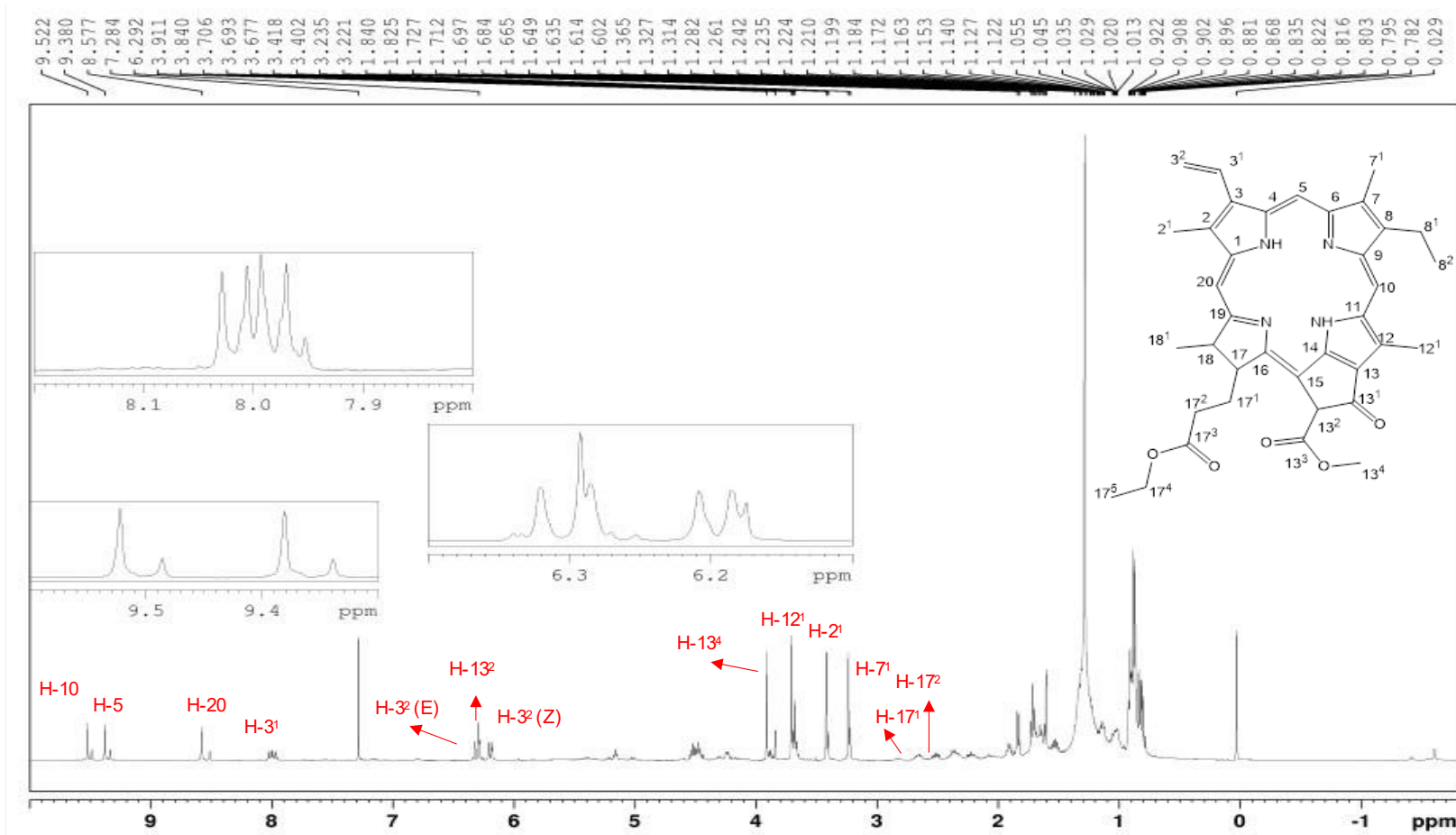
H/C	δ_H (ppm), J (Hz)	δ_C (ppm)	HMBC	
			$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
17 ²		31,2	C-17 ¹ ; C-17 ³	C-17
17 ³		172,3		
17 ⁴	4,46 m	62,2	C-17 ⁵	C-17 ³
17 ⁵	1,12 (t, J= 5,7)	14,3	C-17 ⁴	
18	4,47 m	50,7	C-17; C-18 ¹ ; C-19	C-16; C-17 ¹
18 ¹	1,82 (d, J= 7,3)	22,7	C-18	C-19
19		172,8		
20	8,57 s	93,2	C-1	C-2; C-18

Figura 44- Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da substância **E5**, referente ao etil feoforbídeo A.



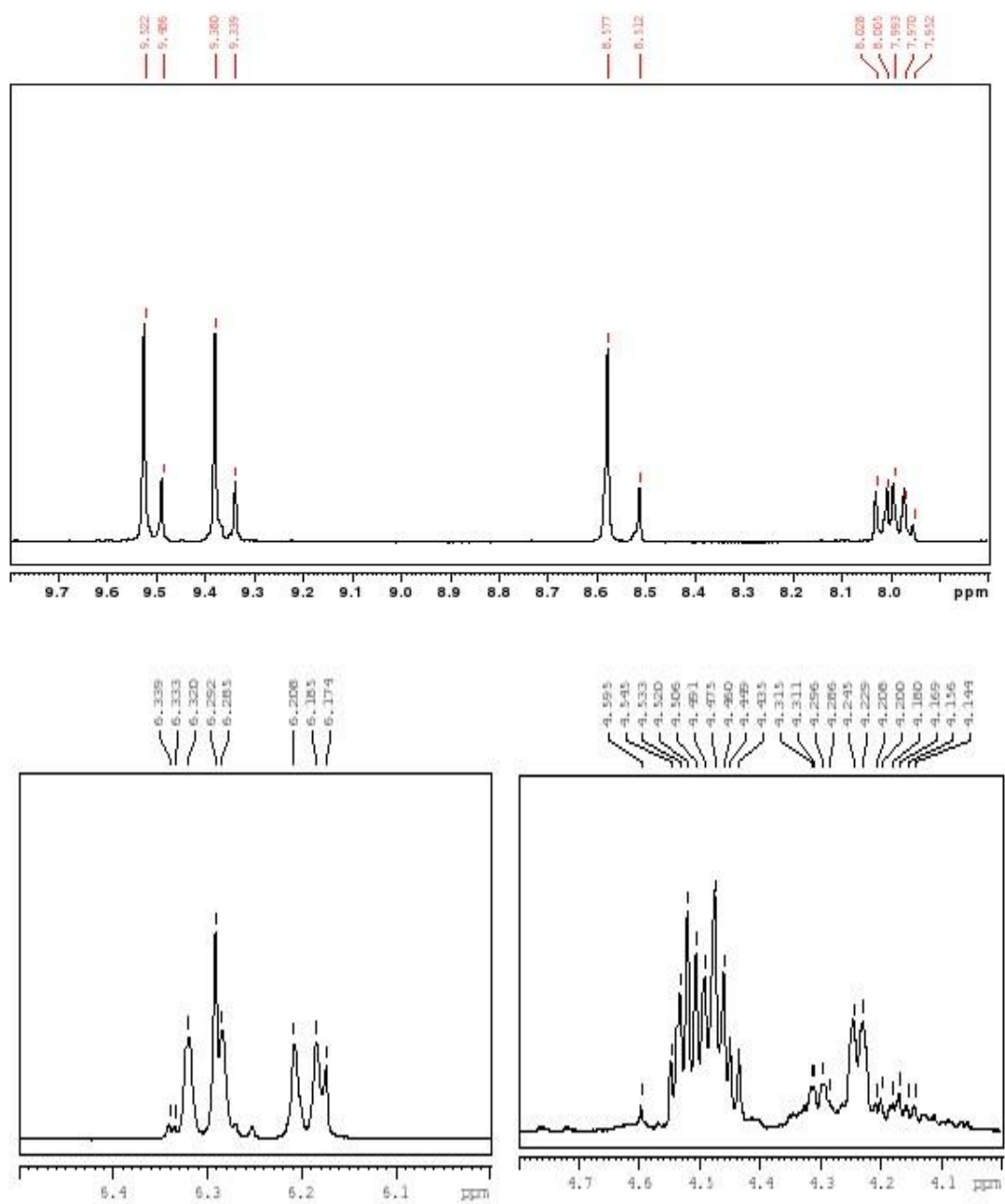
Fonte: a autora.

Figura 45- Detalhamento do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da substância **E5**.



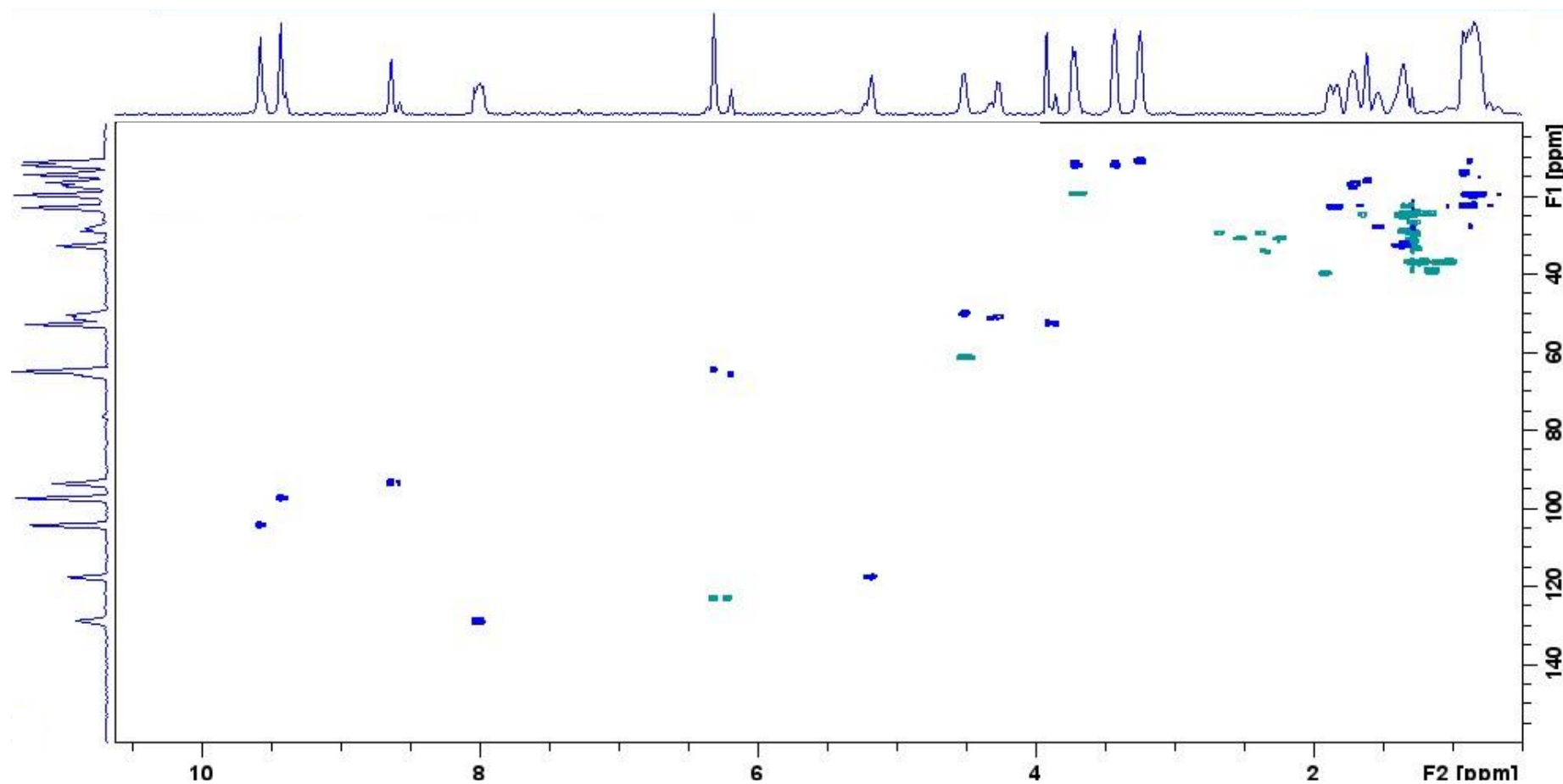
Fonte: a autora.

Figura 46- Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da substância **E5**, etil feoforbídeo A.



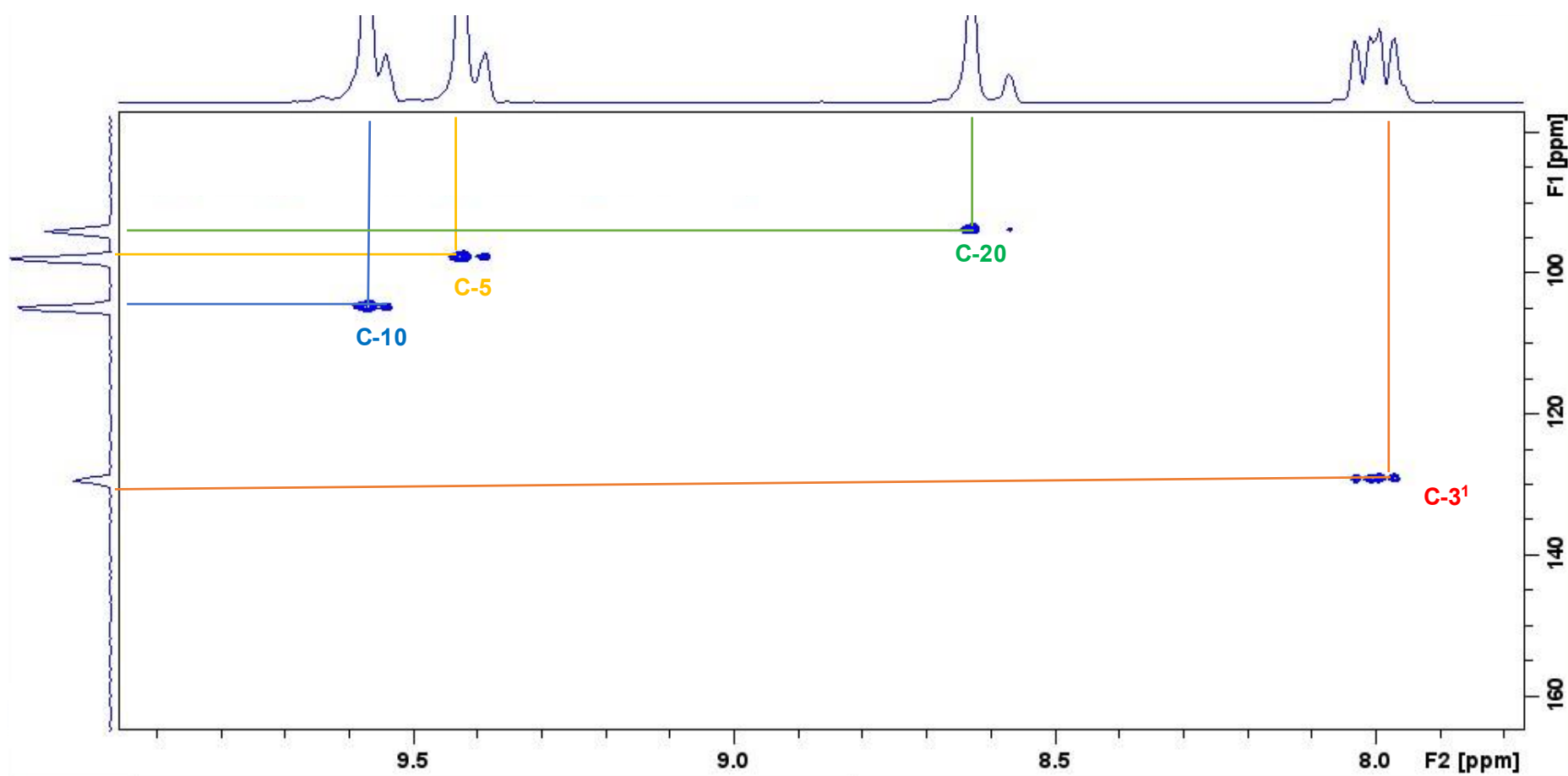
Fonte: a autora.

Figura 47 – Ampliação do espectro de RMN em 2D de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz) para **E5**.



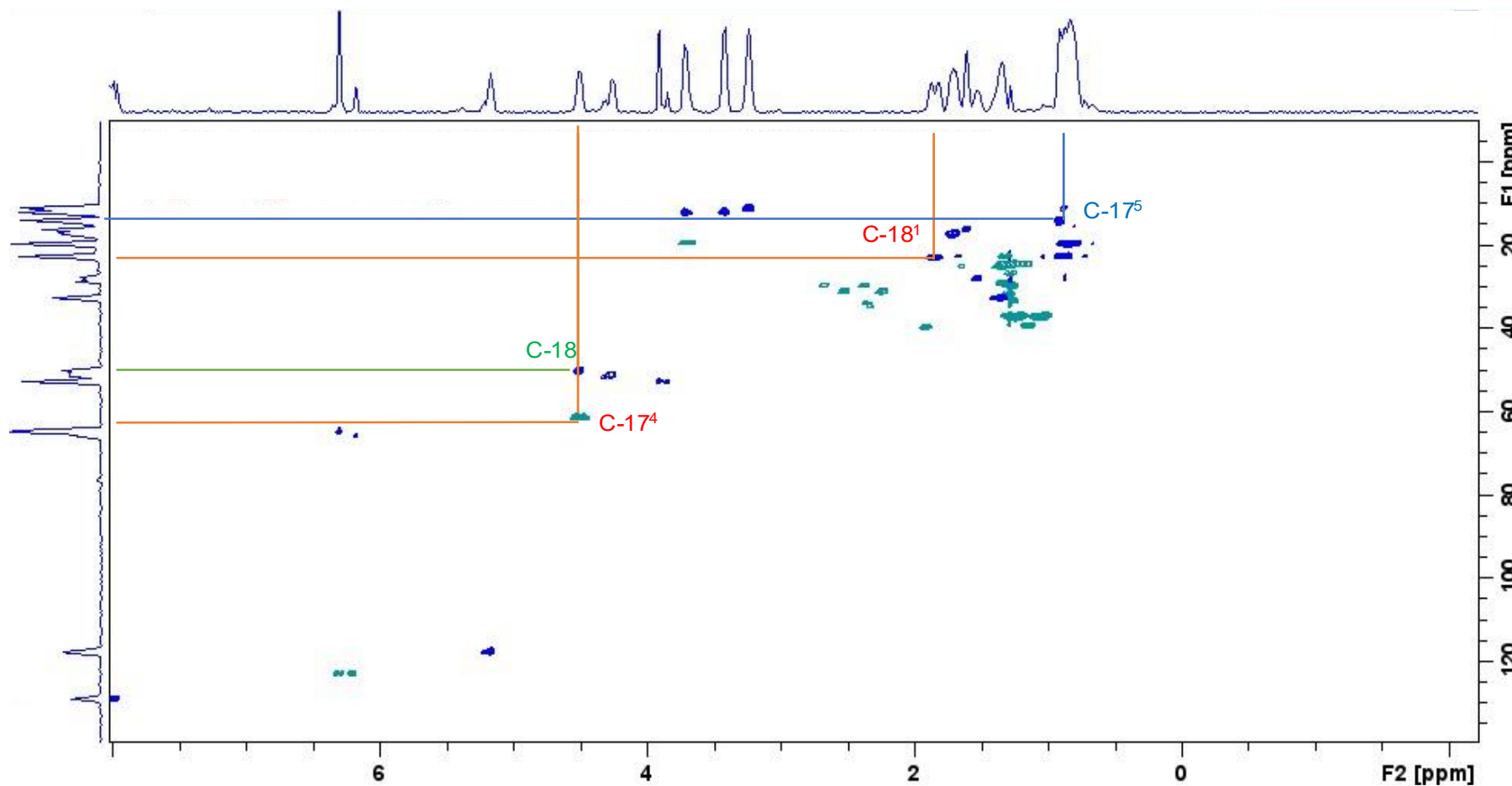
Fonte : a autora.

Figura 48 – Ampliação do espectro de RMN em 2D de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HSQC, (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz) na faixa δH 10,0 – 7,5, para **E5**.



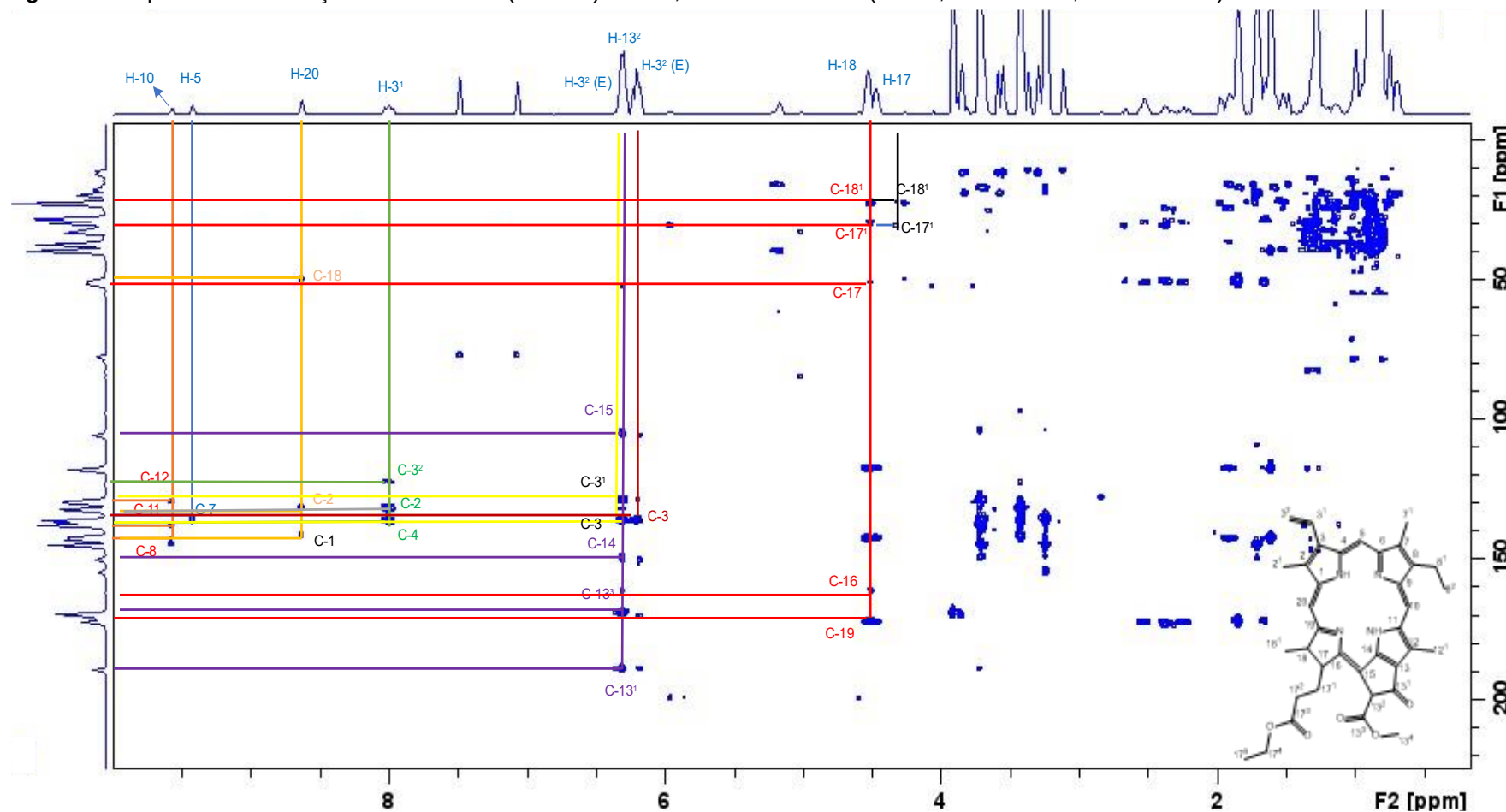
Fonte : a autora.

Figura 49- Ampliação do espectro de RMN em 2D de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HSQC, (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz), na faixa de δH 8,0 a -2,0, para **E5**.



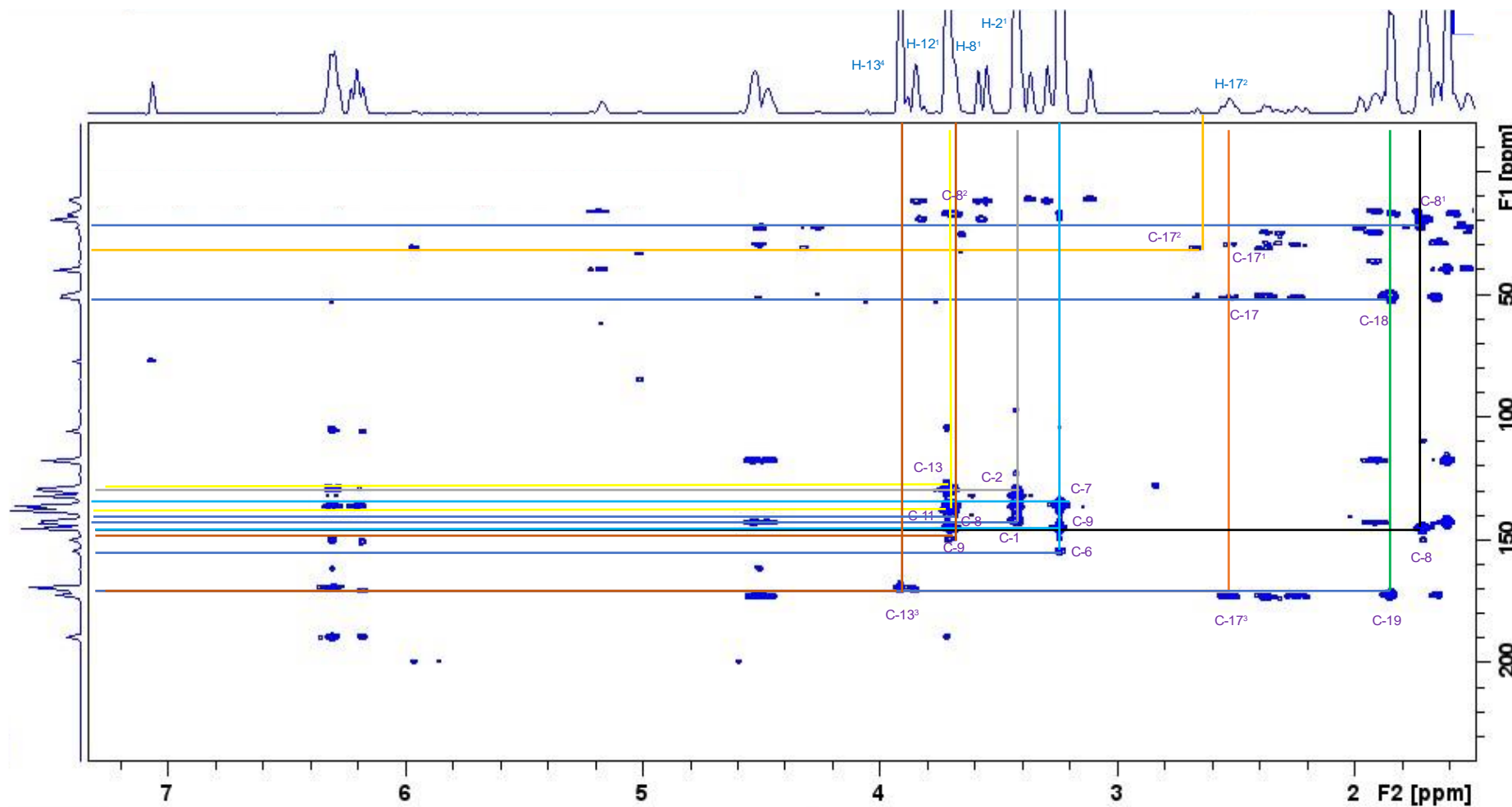
Fonte: a autora.

Figura 50- Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HMBC, da substância **E5** (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



Fonte : a autora.

Figura 51- Ampliação do espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C) HMBC, da substância **E5** (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



Fonte: a autora.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos testes de triagem fitoquímica preliminar indicaram a presença de flavonoides, fenóis simples, cumarinas (apenas nos galhos), taninos, triterpenos ou esteroides e desoxiaçúcares. Os resultados obtidos reforçam os presentes em estudos com o gênero *Tibouchina*, que evidenciaram a presença, principalmente, de flavonoides, taninos e triterpenos.

No ensaio de toxicidade preliminar frente ao microcrustáceo *A. salina*, pode-se observar que os extratos TPGH, TPFH, TPGA, TPFA, TPGM e TPFM são considerados atóxicos frente ao organismo testado.

O extrato TPGM apresentou CMI de 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ frente a *S. aureus* e 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ frente a *S. epidermidis*. Já o extrato TPFM apresentou CMI de 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ frente a *S. aureus* e *S. epidermidis* e frente a *P. aeruginosa* CMI de 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O extrato TPGA apresentou CMI de 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ frente a *S. epidermidis*. Todos os extratos foram inativos frente a *E. coli*.

Apenas os extratos metanólicos apresentaram valores de CMB, sendo o extrato TPGM para *S. aureus* com valor de CMB de 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Frente a *S. aureus* o extrato TPFM apresentou CMB de 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e frente a *S. epidermidis* CMB de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os extratos são considerados inativos para os demais patógenos e faixas de concentrações testadas.

No ensaio de citotoxicidade *in vitro*, os extratos TPGH, TPFA e TPGA apresentaram atividade citotóxica frente à linhagem celular HL-60 com valores de inibição celular (IC%) respectivamente iguais a 93,31% ($\pm 1,85$), 83,42% ($\pm 2,07$) e 80,43% ($\pm 3,64$). Em contrapartida, frente à linhagem L929 (não tumoral) apresentaram baixa atividade 41,55% ($\pm 3,57$), 25,23% ($\pm 0,23$) e 30,27 ($\pm 5,40$), respectivamente.

Relatamos o primeiro estudo do potencial biológico e químico para a espécie *Tibouchina papyrus*, sendo três substâncias identificadas, dois triterpenos e um feoforbídeo. A mistura de triterpenos α e β -amirina já havia sido relatada anteriormente no gênero, para o etil feoforbídeo A, este foi o primeiro relato.

7. PERSPECTIVAS

Devido ao *lockdown* e a pandemia da COVID-19, alguns resultados não foram obtidos em tempo hábil. Por essa razão, alguns dados serão apresentados em desmembramentos dessa pesquisa. Cita-se a análise cristalográfica dos cristais E6 e E7 e o estudo fitoquímico dos extratos TPFH, TPGH, TPFM e TPGM, que se encontram em fase de finalização. Possíveis isolamentos que foram realizados durante o fracionamento do extrato TPFM, ainda se encontram em fase de análise de RMN de ^1H .

- ALICE, C. B.; VARGAS, V. M. F.; SILVA, G. A. A. B.; SIQUEIRA, N. C. S.; SCHAPOVAL, E. E. S.; GLEYE, J.; HENRIQUES, J. A. P.; HENRIQUES, A. T. Screening of plants used in South Brazilian folk medicine. **Journal of Ethnopharmacology**. v.35, p.165-171, 1991.
- ALMEIDA, J. R. G. S.; ARAÚJO, C. S.; PESSOA, C. O.; COSTA, M. P.; PACHECO, A. G. M. Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activity of *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 258 – 64, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500030>
- ARAUJO, M. M.; LONGO, P. L. Teste da ação antibacteriana *in vitro* de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Arquivo do Instituto Biológico**. v.83, p.1-7, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000702014>
- ARIZA, S. M. A; LÓPEZ, A. C. Análisis Fitoquímico de Cinco Especies Nativas de Las Zonas Rurales de Bogotá D.C. (Colombia). **Boletín Semillas Ambientales**, v.10, n.1, p.15-20, 2016. ISSN: 2463-0691
- BARNABY, A. G.; REID, R.; WARREN, D. Antioxidant Activity, Total Phenolics and Fatty Acid Profile of *Delonix regia*, *Cassia fistula*, *Spathodea campanulata*, *Senna siamea* and *Tibouchina granulosa*. **Journal of Analytical & Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 2, 2016.
- BERRIDGE, M. V., TAN, A. S., McCOY, K. D., WANG, R. The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use Tetrazolium Salts. **Biochemica**, v.4, p.14-19, 1996.

- BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. DEGÁSPARI, C. H. Anthocyanins from *Tibouchina grandiflora*. **Food Chemistry**. v.18, p. 153-159,1985.
- BOUCHER, H. W.; TALBOT, G. H.; BENJAMIN JR, D. K.; BRADLEY, J.; GUIDOS, R. J.; JONES, R. N.; MURRAY, B. E.; BONOMO, R. A.; GILBERT, D. 10 × '20 Progress—Development of New Drugs Active Against Gram-Negative Bacilli: An Update From the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 56, n. 12, p. 1685-1694, 2013.
- BURGER, Marcela Carmen de Melo. **Alcalóides e diidrocalcones de *Metrodorea stipularis*: química e bioatividade**. 2014. 171 f. Tese (Doutorado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.
- BRUSCHI, M. L.; FRANCO, S. L.; NOEVELLO, C. R. Projeto de manipulação e desenvolvimento de medicamentos e correlatos a base de plantas na disciplina de farmacotécnica. In: **Anais do XVI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Recife (UFPE). Recife: Congrade Seção PE, 2000. p. 248-249.
- CARVALHO, C. A.; MATTA, S. L. P.; MELO, F. C. S. A.; ANDRADE, D. C. F.; CARVALHO, L. M.; NASCIMENTO, P. C.; SILVA, M. B.; ROSA, M. B. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers – Bignoniaceae): estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.6, n.1, p.51-58, 2009. DOI: <https://doi.org/10.5216/ref.v6i1.5861>.
- CASTORENA-PÉREZ, A. L. Triterpenes and other Metabolites from *Tibouchina urvilleana*. **Journal of Mexican Chemistry Society**, v.58, n. 2, p.218-222, 2014. ISSN 1870-249X
- CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100S**. 26. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016.

- COLLEVATI, R. G.; CASTRO, T. G.; LIMA, J. S.; TELLES, M. P. C. Phylogeography of *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (Melastomataceae), an endangered tree species from rocky savannas, suggests bidirectional expansion due to climate cooling in the Pleistocene. **Ecology and Evolution**, v. 2, n. 5, p. 1024-1035, 2012.
- COLORADO, A.; MAYA, D. C.; GAMBA, S. J. D.; ISAZA, J. H. M.; TAPIAS, L. J. I.; VELOZA, L. A.; RAMIREZ, L. S. A. Flavonoides del Extracto Isopropanol-Água de *Tibouchina ciliaris* (Melastomataceae). **Scientia et Technica**, Ano XIII, n. 33, p. 355-357, 2007. ISSN 0122-1701.
- CONSOLI, R. A. G. B.; MENDES, N. M.; PEREIRA, J. P.; SANTOS, B. S.; LAMOUNIER, M. A. Influência de Diversos Derivados de Vegetais na Sobrevida da Larvas de *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae) em Laboratório. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 83, n. 1, jan./mar., 1988.
- CRUZ, A. V. M.; KAPLAN, M. A. C. Uso Medicinal de Espécies das Famílias Myrtaceae e Melastomataceae. **Floresta e Ambiente**, v. 11, n.1, p. 47-52, ago/dez, 2004.
- CUNHA, Gracielle Oliveira Sabbag. **Fitoquímica e Bioatividade de *Miconia burchellii* Triana (Melastomataceae)**. Orientador: Antônio Carlos Severo Menezes. 2021. 224 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Goiás, Programa de Pós-Graduação em Química em Associação UFGD/UFCat/UEG, Anápolis, 2021. Acesso em 10 janeiro de 2022.
- CUNHA, W. R.; SANTOS, F. M.; PEIXOTO, J. A.; VENEZIANI, R. C. S.; CROTTI, A. E. M.; SILVA, M. L. A.; FILHO, A. A. S.; ALBUQUERQUE, S.; TURATTI, I. C. C.; BASTOS, J. K. Screening of Plant Extracts From The Brazilian Cerrado For Their *in vitro* Trypanocidal Activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, n. 8, p.744-749, 2009. DOI: 10.1080/13880200902951361

- DE BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivo Instituto de Biologia**, v.81, n.3, p. 218-225, 2014. DOI: 10.1590/1808-16570011920
- DIAS, E. R.; DIAS, T. L. M. F.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; BRANCO, A. Antinociceptive Activity of *Tibouchina pereirae*, an Endemic Plant From The Brazilian Semiarid Region. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 71, n. 7-8 c, p. 261–265, 2016. DOI 10.1515/znc-2015-0155
- DIAS, Êuder Reis. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade biológica de *Tibouchina pereirae* aubl. (Melastomataceae)**. 2013. 80f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Bahia. Acesso em 10 de abril de 2019.
- DIAS, M. O.; HAMERSKI, L. e PINTO, A. C. Separação semipreparativa de α e β -amirina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. **Química Nova**, v. 34, n. 4, S1-S6, 2011.
- DOLABELA, Maria Fâni. **Triagem “in vitro” para Atividade Antitumoral e Anti-*Trypanosoma cruzi* de Extratos Vegetais, Produtos Naturais e Substâncias Sintéticas**. Orientador: Miriam Teresa Paz Lopes. 1997. 145 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1997. Acesso em 10 de março de 2021.
- FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/ Editora da UFSC, 2003.

- FERREIRA, M. D. S.; BATISTA, E. K. F.; FARIAS, I. S.; SANTOS, L. F.; OLIVEIRA, J. M. G.; SILVA, S. M. M. S. Avaliação fitoquímica e toxicológica dos extratos do fruto de *Buchenavia* sp. **Acta Brasilienses**, v.1, n.2, p. 17-22, 2017. DOI: <https://doi.org/10.22571/Actabra12201732>
- FRANCIS, F. J. Anthocyanins. In: Anthocyanins as food colors, Chap. 7. **Academic Press**, New York, p.182-205, 1982.
- FURLAN, C. M.; SALATINO, A.; DOMINGOS, M. Influence of air pollution on leaf chemistry, herbivore feeding and gall frequency on *Tibouchina pulchra* leaves in Cubatão (Brazil). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 253–263, 2004. DOI: 10.1016/S0305-1978(03)00176-5
- GONTIJO, D. C.; GONTIJO, P. C.; BRANDÃO, G. C.; DIAZ, M. A. N.; OLIVEIRA, A. B.; FIETTO, L. G.; LEITE, P. V. Antioxidant study indicative of antibacterial and antimutagenic activities of an ellagitannin-rich aqueous extract from the leaves of *Miconia latecrenata*. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 236, p. 114-123, Maio, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.03.007>
- GOLDENBERG, R.; BAUMGRATZ, J. F. A.; SOUZA, M. L. D. R. Taxonomia de Melastomataceae no Brasil: retrospectiva, perspectivas e chave de identificação para os gêneros. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 145–161, 2012.
- GUIMARÃES, A. C.; SIANI, A. C. Triterpenos das folhas de *Protium strumosum*. **Revista Fitos**, v. 3, n. 1, p. 67-76, 2007.
- HARBONE, J. B. Plant Polyphenols – XI. The Structure of Anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 3, p.151-160, 1964.
- HENDRA, R.; KELLER, P. A. Flowers in Australia: Phytochemical Studies on the Illawarra Flame Tree and Alstonville. **Australian Journal of Chemistry**. v. 69, n. 8, p. 925-927, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1071/CH16058>

- HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p.1027-1031, 2002.
- ISAZA, J. H. M.; VELOZA, L. A. C.; RAMIREZ, L. S. A.; GUEVARA, C. A. Estimación Espectrofotométrica de Taninos Hidrolizables y Condensados em Plantas Melastomatáceas. **Scientia et Technica** Ano XIII, n. 33, p. 261-266. Maio de 2007. ISSN 0122-1701
- ISAZA, J. H.; OROZCO, L. M.; ZULETA, L. M.; RIVERA, D. A.; TAPIAS, L. J.; VELOZA, L. A.; RAMIREZ A, L. S. Perfiles Cromatográficos Preliminares por GC-MS de algunas especies de plantas Melastomatáceas. **Scientia et Technica** Ano XIII, n. 33, p. 359-362. Maio de 2007. ISSN 0122-1701
- ISAZA, J. H.; VIVAS, A. G.; LONDOÑO, A. M.; JIMÉNEZ, F. G.; SEPÚLVEDA, J. C.; VELOZA, L. A. C.; RAMIREZ, L. S. A. Determinación Espectrofotométrica de la Actividad Inhibitoria de Xantina Oxidasa em Extractos de Algunas Plantas Melastomataceas. **Scientia et Technica**. Ano XIII, n. 33, p. 307-310 , Maio de 2007. ISSN 0122-1701
- JIMENEZ, N.; CARRILLO-HORMAZA, L.; PUJOL, A.; ÁLZATE, F.; OSORIO, E.; LARA-GUZMAN, O. Antioxidant capacity and phenolic content of commonly used anti-inflammatory medicinal plants in Colombia. **Industrial Crops and Products**. v. 70, p. 272-279, 2015.
- JONES, E.; EKUNDAYO, O.; KINGSTON, D. G. I. Plant Anticancer Agents. XI.' 2,6-dimethoxybenzoquinone as a Cytotoxic Constituent of *Tibouchina pulchra*. **Journal of Natural Products**. v. 44, n. 4, p.493-494, 1980.
- JUNIOR, W. M. S.; ARINI, L. E. S.; SANTOS, D. F.; MENEZES, A. C. S.; SANTOS, M. L.; MORAES, M. O.; PESSOA, C. Ó.; MOURA, A. F. Avaliação da atividade citotóxica das folhas de Bauhinia rufa (Bong.) Steud.

(Fabaceae) contra linhagens de células tumorais. **Revista Processos Químicos**. p. 43-46, Jan./Jun, 2018.

KUSTER, R. M.; ARNOLD, N. WESSJOHANN, L. Anti-fungal flavonoids from *Tibouchina grandifolia*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37 p. 63-65, 2009.

LOWRY, J. B. Anthocyanins of the Melastomataceae, Myrtaceae and Some Allied Families. **Phytochemistry**, v. 15, p. 513-516, 1976.

MAGALHÃES, W. L. E.; THÁ, E. L.; LEME, D. M. **Método de determinação de concentrações não citotóxicas para avaliação da capacidade protetora da lignina contra danos ao DNA**. Concórdia: Embrapa Florestas, 2018. 12 p. (Embrapa Florestas. Comunicado Técnico, 427). ISSN 1980-3982

MARACAHIPES, L.; CIANCIARUSO, M. V.; LENZA, E.; PINTO, J. R. R.; MARIMON, B. S.; SANTOS, T. R. R. *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo, 1952 (Melastomataceae): Distribution extension to the northern part of Brazilian Cerrado. **Check List**, v.8, n.4, p.765-767, 2012.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009.

MENDES, N. M.; SOUZA, C. P.; ARAÚJO, N.; PEREIRA, J. P.; KATZ, N. Atividade Moluscicida de Alguns Produtos Naturais Sobre *Biomphalaria glabrata*. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, n. 1, p.87-91, jan./mar., 1986.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D. E.; McLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 5, p.31-34, 1982.

- MICHELANGELI, F. A.; GUIMARÃES, P. J. F.; PENNEYS, D. S.; ALMEDA, F.; KRIEBEL, R. Phylogenetic relationships and distribution of New World Melastomeae (Melastomataceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 171, p. 38-60, 2013.
- MONTORO, G. & SANTOS, M. Fenologia e biologia reprodutiva de *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (Melastomataceae) no Parque Estadual da Serra dos Pirineus, Goiás. **Revista de Biologia Neotropical / Journal of Neotropical Biology**. v. 4(1), p.21-30, 2008.
- MOLINA-SALINAS, G. M. e SAID-FERNÁNDEZ, S. A modified microplate cytotoxicity assay with brine shrimp larvae (*Artemia salina*). **Pharmacology online**, v. 3, p. 633-638, 2006.
- MOSQUERA, O. M.; CORRERA, Y. M.; NIÑO, J. Antioxidant activity of plant extracts from Colombian flora. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2A, p. 382-387, 2009.
- MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunology Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.
- MOTTA, L. B.; KRAUS, J. E.; SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F. Distribution of metabolites in galled and non-galled foliar tissues of *Tibouchina pulchra*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, p. 971-981, 2005.
- NAKASHIMA, H.; MURAKAMI, T.; YAMAMOTO, N.; SAKAGAMI, H.; TANUMA, S. HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Inhibition of human immunodeficiency viral replication by tannins and related compounds. **Antiviral Research**, v. 18, p. 91-103, 1992.
- NEWMAN, D. J e CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural**

Products, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285.

NGUTA, J. M.; MBARIA, J. M.; GAKUYA, D. W.; GATHUMBI, P. K.; KABASA, J. D.; KIAMA, S. G. Biological screening of Kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (*Artemiidae*). **Pharmacology online**, v. 2, p. 458-478, 2011.

NIÑO, C. M.; ESPINAL, A. M.; CORREA, Y. M. Antimycotic Activity of 20 Plants from Colombian Flora. **Pharmaceutical Biology**, v. 41, n. 7, p. 491-496, 2003.

OKUMURA, F.; SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, É. T. G. Identificação de Pigmentos Naturais de Espécies Vegetais Utilizando-se Cromatografia em Papel. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 680-683, 2002.

OLIVEIRA, L. F.; MAIOR, J. F. A. S.; DRESCH, R. R. **Farmacognosia pura**. Porto Alegre: SAGAH, 2018.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18 n. 2, p. 301-307, Abr./Jun., 2008.

PIRES, W. C *et al.* Estudo da atividade citotóxica do extrato bruto etanólico de *Psychotria prunifolia* (Rubiaceae) em células tumorais e normais *in vitro*. **Revista de Biologia Neotropical**, v. 8, n. 1, p. 15-23, 2011.

POMPILHO, W.M.; MARCONDES, H.C.; OLIVEIRA, T. T. Bioatividade de três espécies vegetais nativas da Floresta Atlântica brasileira frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.16, n. 3, p. 473-480, 2014.

- RAMÍREZ-ATEHORTÚA, A. M.; MORALES-AGUDELO, L.; OSORIO, E.; LARA-GUZMÁN, O. J. The Traditional Medicinal Plants *Cuphea calophylla*, *Tibouchina kingii* and *Pseudelephantopus spiralis* Attenuate Inflammatory and Oxidative Mediators. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/1953726>
- REHMAN, S. U.; CHOCHAN, Z.H.; GULNAZ, F. & SUPURAN, C.T. *In-vitro* antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of some coumarins and their metal complexes. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 333–340, 2005.
- REZALI, MOHD FAZLIN BIN. **Phytochemical and Biological Studies of *Tibouchina semidecandra* L.** 2008. 58f. Tese (Mestrado em Ciência - Química) – Faculty of Science Universiti Teknologi, Malaysia.
- REZENDE, Acylated Flavonoid Glycosides are the Main Pigments that Determine the Flower Colour of the Brazilian Native Tree *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. **Molecules**, v. 24, 718; Doi: 10.3390/molecules240407182019
- SANTOS, F. M. dos; SOUZA, M. G. de; CROTTI, A. E. M.; MARTINS, C. H.G; AMBRÓSIO, S. R.; VENEZIANI, T. C. S.; SILVA, M. L. A. e; CUNHA, W. R. Evaluation of Antimicrobial Activity of Extracts of *Tibouchina candolleana* (Melastomataceae), Isolated Compounds and Semi-Synthetic Derivatives Against Endodontic Bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**. p.793-799, 2012. ISSN 1517-8382
- SCHNEIDER, A.L.S.; BERTELLI, P.R.; BARRETO, M.L.; ABREU, N.V.; AGOSTINI, F.; SCHWAMBACH, J. Caracterização química e atividade biológica de extratos aquosos de *Brunfelsia cuneifolia* J.A. Schmidt (Solanaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v.17, n.4, supl. III, p.1103-1111, 2015.

SCIO, E.; MENDES, R. F.; MOTTA, E. V. S.; BELLOZI, P. M. Q.; ARAGÃO, D. M. O; MELLO, J.; FABRI, R. L.; MOREIRA, J. R.; ASSIS, I. V. L. de; BOUZADA, M. L. M. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Plant Extracts. **Phytochemicals as Nutraceuticals – Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health**, 2012. ISBN: 978-953-51-0203-8

SILVA *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5ª ed. São Paulo: Blucher, 2017.

SINGHA, U. K.; GURU, P. Y.; SEM, A. B.; TANDON, J. S. Antileishmanial Activity of Traditional Plants against *Leishmania donovani* in Golden Hamsters. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 30, n. 4, p.289-295, 1992.

SIRAT, H. M.; REZALI, M. F.; UJAG, Z. Isolation and Identification of Radical Scavenging and Tyrosinase Inhibition of Polyphenols from *Tibouchina semidecandra* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.58, p.10404-10409, 2010. DOI: 10.1021/jf102231h

SOBRINHO, A. P.; MINHO, A. S.; FERREIRA, L. L. C.; MARTINS, G. R.; BOYLAN, F.; FERNANDES, P. D. Characterization of anti-inflammatory effect and possible mechanism of action of *Tibouchina granulosa*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v.69, n. 6. p. 706-713, 2017. DOI: 10.1111/jphp.12712

SCHRÖTEROVÁ, L., KRÁLOVÁ, V., VORÁCOVÁ, A., HASKOVÁ, P., RUDOLF, E., & ČERVINKA, M. Antiproliferative effects of selenium compounds in colon cancer cells: Comparison of different cytotoxicity assays. **Toxicology in Vitro**, v. 23, n. 7, p. 1406–1411, 2009. DOI:10.1016/j.tiv.2009.07.013

Technical Committee ISO/TC 194 (2009) Biological Evaluation of Medical Devices - Part 5: Tests For In Vitro Cytotoxicity, ISO Guide 10993-5.

- TERAHARA, N.; SUZUKI, H.; TOKI, K.; KUWANO, H.; SAITO, N.; HONDA, T.
A Diacylated Anthocyanin From *Tibouchina urvilleana* Flowers. **Journal of Natural Products**. V.56, n.3, p.330-340, 1993.
- TRACANNA, M. I.; FORTUNA, A. M.; CÁRDENAS, A. V. C.; MARR, A. K.;
MCMASTER, W. R.; GÓMEZ-VELASCO, A.; SÁNCHEZ-ARREOLA, E.;
HERNÁNDEZ, L. R.; BACH, H. Anti-Leishmanial, Anti-Inflammatory and
Antimicrobial Activities of Phenolic Derivatives from *Tibouchina paratropica*.
Phytotherapy Research. v.29, p.393-397, 2015. DOI: 10.1002/ptr.5263
- TRIGUEIRO, N. D.; LINS, J. S.; FIGUEIREDO, P. T. R.; SILVA, A. R. R. A.;
VELOSO, C. A. G. Estudo fitoquímico das folhas de *Cordia rufescens* A.
DC (Cordiaceae). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 79524-
79535, Out., 2020. DOI:10.34117/bjdv6n10-39
- VARGAS, V. M. F.; GUIDOBONO, R. R.; HENRIQUES, J. A. P. Genotoxicity
of Plant Extracts. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro,
v.86, Suppl. II, p.67-70,1991.
- VERSIANE, A. F. A.; SANTOS, M. L. dos; ROMERO, R. Melastomataceae na
Serra dos Pirineus, Goiás, Brasil. **Rodriguésia**. V. 67(3) p. 721-759, 2016.
- YOSHIDA, T.; AMAKURA, Y.; YOKURA, N.; ITO, H.; ISAZA, J. H.; RAMIREZ,
S.; PELAEZ, D. P.; RENNER, S. S. Oligomeric hydrolysable tannins from
Tibouchina multiflora. **Phytochemistry**, v. 52, p.1661-1666, 1999 (a).
- YOSHIDA, T.; NAKATA, F.; OKUDA, T. Tannins and Related Polyphenols of
Melastomataceous Plants. VIII. Nobotanins L, M and N, Trimetric
Hydrolyzable Tannins from *Tibouchina semidecandra*. **Chemical and
Pharmaceutical Bulletin**, v.47, n. 6, p.824-827, 1999 (b).
- YOSHIDA, T.; OHBAYASHI, H.; ISHIHARA, K.; OHWASHI, W.; HABA, K.;
OKANO, Y.; SHINGU, T.; OKUDA, T. Tannins and Related Polyphenols of
Melastomataceous Plants. I. Hydrolyzable Tannins from *Tibouchina*

semidecandra Cogn. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin** v.39, n. 9, p. 2233-2240, 1991.

YOUNG, W.; ABDULLAH, J. O.; MAHMOOD, M. Minimal Inhibitory Concentrations of Kanamycin on *Melastoma malabathricum* and *Tibouchina semidecandra*. **Malasian Journal of Biochemistry and Molecular Biology**. v. 13, p. 27-31, 2006.

ZHANG, Q. W.; LIN, L. G.; YE, W. C. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. **Chinese Medicine**. v.13, p.1-26, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

Anexo 1. Publicação do Artigo de revisão de gênero *Miconia* (Qualis - A2) no ano de 2019.

CUNHA, G. O. S.; CRUZ, D. C.; MENEZES, A. C. S. Na Overview of *Miconia* genus: Chemical Constituents and Biological Activities. *Pharmacognosy Reviews*, v. 13 (26), p. 77-88, 2019.

Pharmacogn Rev. 2019;13(26):77-88
A multifaceted peer reviewed journal in the field of Pharmacognosy and Natural Products
www.phcogrev.com | www.phcog.net

Plant Reviews

An Overview of *Miconia* genus: Chemical Constituents and Biological Activities

Gracielle Oliveira Sabbag Cunha^{1,2}, Danielle Coelho da Cruz¹, Antônio Carlos Severo Menezes¹

ABSTRACT

Miconia genus, belonging to Melastomataceae family, is widely distributed in tropical America and includes some native Brazilian species. This paper reviews the literature on this genus, focusing on its chemical constituents and biological activities, in order to build the base for further studies. Of about 1050 species of *Miconia*, only 21 were studied from a chemical point of view until the present moment. Among these species, 79 different secondary metabolites were isolated, divided into 7 classes: Flavonoids, triterpenes, phenolic acids, steroids, quinones, tannins and lignans. This chemical diversity gives of the genus interesting biological properties, including antimicrobial, antitumor, antioxidant, antidiabetic, trypanocidal, antileishmanial, schistosomicidal, antimalarial, insecticidal, analgesic and anti-inflammatory activities.

Key words: Melastomataceae, *Miconia*, Natural products, Pharmacological properties, Phytochemistry

Anexo 2. Capítulo publicado no livro: Métodos e técnicas aplicados na pesquisa interdisciplinar em saúde, da editora UEG.

Capítulo 12, páginas 239-260. ISBN: 978-65-88502-14-3 (e-book)


VOLTAR AO
SUMÁRIO

Capítulo 12

TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO, ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE CONSTITUINTES QUÍMICOS DE ORIGEM VEGETAL

ANTÔNIO CARLOS SEVERO MENEZES
DANIELLE COELHO DA CRUZ
GRACIELLE OLIVEIRA SABBAG CUNHA

1 INTRODUÇÃO

O reino vegetal tem sido, desde muito tempo, uma rica fonte para a obtenção de moléculas com potencial terapêutico, muitas das quais constituem modelos para o desenvolvimento de medicamentos sintéticos. A busca por novas substâncias bioativas produzidas por plantas é um dos enfoques da Química de

MÉTODOS E TÉCNICAS APLICADOS NA PESQUISA I

Anexo 3. Artigo publicado na Revista Movimenta

SCHWAICKARDT, A.S.M.; CORREIA, A.R.; CRUZ, D.C.; SOUSA, L.E.F.; TEODORO, L.L.I. Uso Excessivo de Tecnologia e Saúde Pública. **Revista Movimenta**, v.14 (1): 139-142, 2021. ISSN:1984-4298

Revista Movimenta ISSN:1984-4298

2021; 14(1): in press

USO EXCESSIVO DE TECNOLOGIA E SAÚDE PÚBLICA

EXCESSIVE USE OF TECHNOLOGY AND PUBLIC HEALTH

Resumo: Trata-se de uma revisão narrativa, que aborda as consequências do uso excessivo da tecnologia e questões de saúde pública. Foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados SciELO (Scientific Electronic Library Online), LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), NCBI (National Center of Biotechnology Information), Google Acadêmico e portal de periódicos CAPES. Estudos afirmam que o uso excessivo de tecnologias pode levar à comportamentos antissociais, agressividade e instabilidade emocional, fazendo com que ocorra uma diminuição nas interações sociais, receio pelo contato físico e dificuldade em criar vínculos sociais, com a preferência pelo mundo virtual ao real. Com as restrições impostas pelo isolamento social, observa-se consequências negativas e não intencionais como medo, solidão, pânico, mudanças nos hábitos alimentares e no sono e o excesso de tempo na frente da televisão e dos celulares agravaram ainda mais as mudanças no comportamento social humano, com danos ainda não calculados nas crianças e adolescentes. O ensino remoto ou à distância.

Adamiane Silva Moraes Schwaickardt¹
Amanda dos Reis Correia²
Danielle Coelho da Cruz³
Lanna Flávia Elias de Sousa⁴
Lorena Lisita Inácio Teodoro⁵

1- Biomédica, aluna de mestrado pela Universidade Estadual de Goiás – UEG; departamento de pós-graduação; Ciências aplicadas a produtos para saúde – CAPS; Laboratório face e corpo, Campus Laranjeiras. E-mail: adamianemoraes@hotmail.com;

2- Biomédica, aluna de mestrado pela

Anexo 4. CEPE 2020 – Publicações de resumos nos Anais



VII Congresso de Ensino,
Pesquisa e Extensão da UEG



Screening de toxicidade de extratos de *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo frente à *Artemia salina* Leach

Danielle Coelho da Cruz¹ (PG)*, Sheysiane Vale de Lima¹ (IC), Antônio Carlos Severo Menezes¹ (PQ).

¹ Universidade Estadual de Goiás, BR-153, 3105 Fazenda Barreiro do Meio, Anápolis - GO, 75132-903

*coelhodacruz2012@hotmail.com



VII Congresso de Ensino,
Pesquisa e Extensão da UEG



AValiação DA TOXICIDADE EM ARTEMIA SALINA DE EXTRATOS OBTIDOS DAS FOLHAS DE *Salacia Crassifolia* (Celastraceae).

Lauanny Eloá Silva Arini¹ (IC)*, Danielle Coelho da Cruz¹ (PG), Sheysiane Vale de Lima¹ (IC), Antônio Carlos Severo Menezes¹ (PQ).

¹ Universidade Estadual de Goiás, BR-153, 3105 Fazenda Barreiro do Meio, Anápolis - GO, 75132-903

*lauanny-arini@hotmail.com



VII Congresso de Ensino,
Pesquisa e Extensão da UEG



Avaliação da Toxicidade frente *Artemia salina* de extratos obtidos das folhas de *Andira paniculata* Benth

Jordana Borges Campos¹(IC)*, Amanda dos Reis Correia (PG)¹, Danielle Coelho da Cruz (PG)¹, Antônio Carlos Severo Menezes (PQ)¹.

Anexo 5. CEPE 2021 – Publicação de resumo nos Anais de Congresso



01, 02 e 03
dez. 21

Desafios e Perspectivas da
Universidade Pública
para o Pós-Pandemia



Estudo da atividade antibactericida de extratos de *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo

Danielle Coelho da Cruz¹ (PG)*, Brenndah Barros Gonçalves¹ (IC), Antônio Carlos Severo Menezes¹(PQ)

¹ Universidade Estadual de Goiás, BR-153, 3105 Fazenda Barreiro do Meio, Anápolis - GO, 75132-903.

* coelhodacruz2012@hotmail.com

Resumo: A crescente busca por novos compostos bioativos permitiram a ampliação das investigações em plantas pertencentes ao Cerrado brasileiro, que são ricas em compostos químicos, muitos ainda não estudados. Pertencente à família Melastomataceae a espécie *Tibouchina papyrus* é objeto de investigação nesse estudo. Foram realizados ensaios de atividade antibacteriana utilizando os extratos brutos obtidos a partir da maceração dos galhos e folhas em hexano, acetato de etila e metanol, frente ao micro-organismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os extratos metanólicos demonstraram-se bioativos frente a *S. aureus* e *epidermidis*.