



Campus Central – Sede – Ciências Exatas e Tecnológicas Henrique Santillo
Programa de Pós-Graduação em Química
Doutorado em Associação UFGD/UFCat/UEG

Gracielle Oliveira Sabbag Cunha

**FITOQUÍMICA E BIOATIVIDADE DE *Miconia burchellii* TRIANA
(MELASTOMATACEAE)**

ANÁPOLIS

2021

Gracielle Oliveira Sabbag Cunha

**FITOQUÍMICA E BIOATIVIDADE DE *Miconia burchellii* TRIANA
(MELASTOMATACEAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado em Associação UFGD/UFCat/UEG, como exigência parcial para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Severo Menezes

**ANÁPOLIS
2021**

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

Na qualidade de titular dos direitos de autor e autora, autorizo a Universidade Estadual de Goiás (UEG) 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, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

Estando ciente que o conteúdo disponibilizado é de inteira responsabilidade do autor / autora.

Dados do autor (a)

Nome Completo: Gracielle Oliveira Sabbag Cunha
E-mail: graciellesabbag@gmail.com

Dados do trabalho

Título: Fitoquímica e bioatividade de *Miconia burchellii* Triana (Melastomataceae)

Tipo

Tese Dissertação

Curso/Programa: Doutorado em Química

Concorda com a liberação documento

SIM

NÃO

Assinalar justificativa para o caso de impedimento e não liberação do documento:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

- ❖ Em caso de não autorização, o período de embargo será de **até um ano** a partir da data de defesa, caso haja necessidade de exceder o prazo de um ano, deverá ser apresentado formulário de solicitação para extensão de prazo para publicação devidamente justificado, junto à coordenação do curso.

Anápolis, 30/12/2021



Assinatura do autor (a)



Assinatura do orientador (a)

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

OG731 Oliveira Sabbag Cunha, Gracielle
f Fitoquímica e bioatividade de *Miconia burchellii*
Triana (Melastomataceae) / Gracielle Oliveira Sabbag
Cunha; orientador Antônio Carlos Severo Menezes. --
Anápolis, 2021.
223 p.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação
Doutorado em Química) -- Câmpus Central - Sede:
Anápolis - CET, Universidade Estadual de Goiás, 2021.

1. Química de produtos naturais. 2. *Miconia*
burchellii. 3. Fitoquímica. 4. Atividade
antimicrobiana. 5. Citotoxicidade. I. Severo Menezes,
Antônio Carlos, orient. II. Título.



ESTADO DE GOIÁS
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS - UEG
COORDENAÇÃO STRICTO SENSU QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DOUTORADO EM ASSOCIAÇÃO UFGD/UFCat/UEG
ATA DE DEFESA DE TESE

Ata nº 05 da sessão de defesa de tese de doutorado apresentada por **Gracielle Oliveira Sabbag Cunha**, discente do Programa de Pós-graduação em Química, Doutorado em Associação UFGD/UFCat/UEG.

Aos dez dias do mês de dezembro de dois mil e vinte e um, às 14 horas, horário de Brasília, via vídeo conferência, realizou-se a sessão pública de defesa de tese de doutorado intitulada "**Fitoquímica e bioatividade da *Miconia burchellii* Triana (Melastomataceae)**", apresentada pela doutoranda **Gracielle Oliveira Sabbag Cunha** à Banca Examinadora constituída pelos membros: **Prof. Dr. Antônio Carlos Severo Menezes (UEG, presidente e orientador)**, **Profa. Dra. Luciana Machado Ramos (UEG)**, **Prof. Dr. Lucas Pizzuti (UFGD)**, **Profa. Dra. Vanessa Gisele Pasqualotto Severino (UFG)**, **Prof. Dr. Paulo Cezar Vieira (USP)**. Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após a apresentação da candidata, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada **aprovada**, fazendo jus ao título de **Doutora em Química**. Proclamado o resultado pelo **Prof. Dr. Antônio Carlos Severo Menezes, Presidente da Banca Examinadora**, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata em 10 de dezembro de 2021, que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Gisele Pasqualotto Severino, Usuário Externo**, em 27/01/2022, às 08:04, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Cezar Vieira, Usuário Externo**, em 27/01/2022, às 08:09, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



Documento assinado eletronicamente por **Lucas Pizzuti, Usuário Externo**, em 27/01/2022, às 08:13, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



Documento assinado eletronicamente por **LUCIANA MACHADO RAMOS, Docente de Ensino Superior**, em 27/01/2022, às 12:36, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



Documento assinado eletronicamente por **ANTONIO CARLOS SEVERO MENEZES, Docente de Ensino Superior**, em 28/01/2022, às 17:37, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site
[http://sei.go.gov.br/sei/controlador_externo.php?](http://sei.go.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=1)
[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=1](http://sei.go.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=1) informando o código verificador
000026976440 e o código CRC 3C6008A7.

COORDENAÇÃO STRICTO SENSU QUÍMICA
RODOVIA BR 153 S/Nº, QUADRA ÁREA KM 99 - Bairro ZONA RURAL - ANAPOLIS - GO -
CEP 75132-903 - (62)3328-1156.



Referência: Processo nº 202100020013074



SEI 000026976440

RESUMO

Embora o gênero *Miconia* seja o maior representante da família Melastomataceae, o número de estudos envolvendo a fitoquímica e a avaliação das atividades biológicas das espécies que o compõem ainda é muito reduzido. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico e avaliar as atividades antibacteriana e citotóxica de *Miconia burchellii* Triana, espécie ainda não estudada até o presente momento quanto aos seus constituintes químicos e atividades biológicas. O estudo fitoquímico das folhas e das cascas do caule levou à identificação de vinte substâncias, incluindo triterpenos, saponinas, flavonoides, feoforbídeos e um esteroide. Entre estes compostos, seis estão sendo relatados na literatura pela primeira vez: os triterpenos ácido 3-*O*- β -*trans*-*p*-cumaroil-1 α -hidroxi-urs-12-en-28-oico e ácido 3-*O*- β -*cis*-*p*-cumaroil-1 α -hidroxi-urs-12-en-28-oico, obtidos em mistura através da fração em acetato de etila das folhas de *M. burchellii*; e as saponinas éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-olean-12-en-28-oico, éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-urs-12-en-28-oico, éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-olean-12-en-28-oico e éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-urs-12-en-28-oico, obtidas como misturas isoméricas a partir da fração metanólica das folhas. Estas substâncias tiveram suas estruturas elucidadas através de ressonância magnética nuclear em uma e duas dimensões, além de espectrometria de massas de alta resolução. O extrato bruto e as frações em acetato de etila e metanólica das cascas do caule foram os mais ativos frente às bactérias testadas, apresentando inibição do crescimento tanto de cepas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*) quanto Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*), com valores de CMI (concentração mínima inibitória) variando de 62,5 a 1000 $\mu\text{g/mL}$. Em relação à citotoxicidade, as frações hexânica e em acetato de etila das cascas do caule apresentaram maior seletividade na inibição das células tumorais de cólon (HCT-116) e de leucemia (HL-60) em relação às células não tumorais (L-929). Entre as substâncias testadas, o etilfeoforbídeo A foi citotóxico frente à linhagem de leucemia, com IC₅₀ (concentração inibitória média) de 4,74 $\mu\text{g/mL}$.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana. Citotoxicidade. Feoforbídeo. Flavonoide. Saponina. Triterpeno.

ABSTRACT

Although the *Miconia* genus is the largest representative of the Melastomataceae family, the number of studies involving phytochemistry and the evaluation of the biological activities of the species that compose it is still very small. In this context, this work aimed to carry out the phytochemical study and evaluate the antibacterial and cytotoxic activities of *Miconia burchellii* Triana, a species that has not yet been studied in terms of its chemical constituents and biological activities. Phytochemical study of the leaves and stem bark led to the identification of twenty substances, including triterpenes, saponins, flavonoids, pheophorbides and a steroid. Among these compounds, six are being reported in the literature for the first time: the triterpenes 3-*O*- β -*trans-p*-coumaroyl-1 α -hydroxy-urs-12-en-28-oic acid and 3-*O*- β -*cis-p*-coumaroyl-1 α -hydroxy-urs-12-en-28-oic acid, obtained as a mixture through the ethyl acetate fraction of *M. burchellii* leaves; and the saponins 1 α ,3 β ,23-trihydroxy-olean-12-en-28-oic acid 28-*O*- β -glycopyranoside ester, 1 α ,3 β ,23-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid 28-*O*- β -glycopyranoside ester, 3-*O*- β -galloyl-1 α ,23-dihydroxy-olean-12-en-28-oic acid 28-*O*- β -glycopyranoside ester and 3-*O*- β -galloyl-1 α ,23-dihydroxy-urs-12-en-28-oic acid 28-*O*- β -glycopyranoside ester, obtained as isomeric mixtures from the methanol fraction of leaves. These substances had their structures elucidated through nuclear magnetic resonance in one and two dimensions, in addition to high resolution mass spectrometry. The crude extract and the ethyl acetate and methanol fractions of the stem bark were the most active against the tested bacteria, showing growth inhibition of both Gram-positive (*Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*) and Gram-negative (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*), with MIC (minimum inhibitory concentration) values ranging from 62.5 to 1000 μ g/mL. Regarding cytotoxicity, the hexane and ethyl acetate fractions from the stem bark showed greater selectivity in inhibiting colon tumor cells (HCT-116) and leukemia (HL-60) compared to non-tumor cells (L-929). Among the substances tested, ethyl pheophorbide A was cytotoxic against the leukemia strain, with an IC₅₀ (half maximal inhibitory concentration) of 4.74 μ g/mL.

Keywords: Antibacterial activity. Cytotoxicity. Pheophorbide. Flavonoid. Saponin. Triterpene.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -Distribuição dos 79 compostos isolados de <i>Miconia</i> por classes.	24
Figura 2 -Estruturas das substâncias identificadas de espécies do gênero <i>Miconia</i>	32
Figura 3 -Esquema de obtenção do extrato etanólico bruto das folhas e das cascas do caule de <i>M. burchellii</i>	52
Figura 4 -Esquema do fracionamento dos extratos etanólicos brutos das folhas e das cascas do caule de <i>M. burchellii</i>	53
Figura 5 -Esquema de refração da fração hexânica das folhas de <i>M. burchellii</i>	54
Figura 6 -Fluxograma do processo de isolamento da substância I	55
Figura 7 -Fluxograma do processo de isolamento da substância XX	56
Figura 8 -Esquema de refração da fração em acetato de etila das folhas de <i>M. burchellii</i>	57
Figura 9 -Fluxograma do processo de isolamento da substância XVIII	58
Figura 10 -Fluxograma do processo de isolamento das substâncias III e IV	59
Figura 11 -Fluxograma do processo de isolamento das substâncias XV e XIX	60
Figura 12 -Fluxograma do processo de isolamento das substâncias IX e X	61
Figura 13 -Esquema de refração da fração metanólica das folhas de <i>M. burchellii</i>	61
Figura 14 -Fluxograma do processo de isolamento das substâncias XVI e XVII	62
Figura 15 -Fluxograma do processo de isolamento das substâncias VII e VIII	63
Figura 16 -Fluxograma do processo de isolamento das substâncias XI , XII , XIII e XIV	64
Figura 17 -Esquema de refração da fração hexânica das cascas do caule de <i>M. burchellii</i>	65
Figura 18 -Fluxograma do processo de isolamento das substâncias V e VI	66
Figura 19 -Fluxograma do processo de isolamento da substância II	67
Figura 20 -Fluxograma do processo de isolamento das substâncias III e IV	68
Figura 21 -Estruturas das substâncias identificadas e dados de isolamento e identificação. ...	73
Figura 22 -Estrutura da substância I , identificada como lupeol.....	77
Figura 23 -Espectro de RMN de ^1H da substância I (CDCl_3 , 500 MHz).....	79
Figura 24 -Espectro de RMN de ^{13}C da substância I (CDCl_3 , 125 MHz).....	80
Figura 25 -Estrutura da substância II , identificada como betulina.	81
Figura 26 -Espectro de RMN de ^1H da substância II (CDCl_3 , 500 MHz).	83
Figura 27 -Espectro de RMN de ^{13}C da substância II (CDCl_3 , 125 MHz).	84

Figura 28 -Estruturas das substâncias III e IV , identificadas como ácidos oleanólico e ursólico.	86
Figura 29 -Espectro de RMN de ^1H das substâncias III e IV (CDCl_3 , 500 MHz).	88
Figura 30 -Espectro de RMN de ^{13}C das substâncias III e IV (CDCl_3 , 125 MHz).	89
Figura 31 -Estruturas das substâncias V e VI , identificadas como ácidos 3- <i>O</i> - β -acetil oleanólico e 3- <i>O</i> - β -acetil ursólico.	91
Figura 32 -Espectro de RMN de ^1H das substâncias V e VI (CDCl_3 , 500 MHz).	93
Figura 33 -Espectro de RMN de ^{13}C das substâncias V e VI (CDCl_3 , 125 MHz).	94
Figura 34 -Estruturas das substâncias VII e VIII , identificadas como ácidos corosólico e maslínico.	96
Figura 35 -Espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias VII e VIII ($\text{MeOD} + \text{CDCl}_3$, 500 MHz).	98
Figura 36 -Espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias VII e VIII ($\text{MeOD} + \text{CDCl}_3$, 125 MHz).	99
Figura 37 -Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HSQC, da mistura das substâncias VII e VIII ($\text{MeOD} + \text{CDCl}_3$, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	100
Figura 38 -Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, da mistura das substâncias VII e VIII ($\text{MeOD} + \text{CDCl}_3$, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	101
Figura 39 -Estruturas das substâncias IX e X , identificadas como ácidos 3- <i>O</i> - β - <i>trans</i> - <i>p</i> -cumaroil-1 α -hidroxi-urs-12-en-28-oico e 3- <i>O</i> - β - <i>cis</i> - <i>p</i> -cumaroil-1 α -hidroxi-urs-12-en-28-oico.	104
Figura 40 -Proposta de fragmentação para a substância IX	106
Figura 41 -Espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias IX e X (MeOD , 500 MHz).	107
Figura 42 -Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias IX e X na região entre 7,8 e 5,8 ppm (MeOD , 500 MHz).	108
Figura 43 -Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias IX e X na região entre 4,8 e 4,5 ppm (MeOD , 500 MHz).	109
Figura 44 -Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HSQC, da mistura das substâncias IX e X (MeOD , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	110
Figura 45 -Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, da mistura das substâncias IX e X (MeOD , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	111
Figura 46 -Espectro NOE da mistura das substâncias IX e X (MeOD , ^1H 500 MHz), com irradiação do sinal em 3,88 ppm.	112

Figura 47 -Espectro de massas de alta resolução no modo negativo da mistura das substâncias IX e X	113
Figura 48 -Espectro MS/MS do íon $[M-H]^-$ com m/z 617,38470.....	114
Figura 49 -Deslocamentos químicos dos carbonos C-23 e C-24 nas posições α e β	117
Figura 50 -Estruturas das substâncias XI e XII , identificadas como éster 28- <i>O</i> - β -glicopiranosídeo do ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-olean-12-en-28-oico e éster 28- <i>O</i> - β -glicopiranosídeo do ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-urs-12-en-28-oico.....	118
Figura 51 -Proposta de fragmentação para a substância XI	121
Figura 52 -Espectro de RMN de 1H da mistura das substâncias XI e XII (MeOD, 500 MHz).	122
Figura 53 -Ampliação do espectro de RMN de 1H da mistura das substâncias XI e XII na região entre 5,5 e 5,1 ppm (MeOD, 500 MHz).	123
Figura 54 -Ampliação do espectro de RMN de 1H da mistura das substâncias XI e XII na região entre 4,0 e 3,1 ppm (MeOD, 500 MHz).	124
Figura 55 -Ampliação do espectro de RMN de 1H da mistura das substâncias XI e XII na região entre 3,1 e 2,0 ppm (MeOD, 500 MHz).	125
Figura 56 -Ampliação do espectro de RMN de 1H da mistura das substâncias XI e XII na região entre 2,3 e 0,5 ppm (MeOD, 500 MHz).	126
Figura 57 -Espectro de correlação heteronuclear ($^1H - ^{13}C$), HSQC, da mistura das substâncias XI e XII (MeOD, 1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	127
Figura 58 -Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1H - ^{13}C$), HSQC, da mistura das substâncias XI e XII (MeOD, 1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	128
Figura 59 -Espectro de correlação heteronuclear ($^1H - ^{13}C$), HMBC, da mistura das substâncias XI e XII (MeOD, 1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	129
Figura 60 -Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1H - ^{13}C$), HMBC, da mistura das substâncias XI e XII (MeOD, 1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	130
Figura 61 -Espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias XI e XII (MeOH, 125 MHz).	131
Figura 62 -Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias XI e XII na região entre 85,0 e 50,0 ppm (MeOD, 125 MHz).	132
Figura 63 -Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias XI e XII na região entre 50,0 e 10,0 ppm (MeOD, 125 MHz).	133
Figura 64 -Espectro NOE da mistura das substâncias XI e XII (MeOD, 1H 500 MHz), com irradiação do sinal em 3,70 ppm.....	134

Figura 65 -Espectro NOE da mistura das substâncias XI e XII (MeOD, ^1H 500 MHz), com irradiação do sinal em 1,06 ppm.....	135
Figura 66 -Espectro de massas de alta resolução no modo positivo da mistura das substâncias XI e XII	136
Figura 67 -Espectro MS/MS do íon $[\text{M}+\text{Na}]^+$ com m/z 673,39294.	137
Figura 68 -Estruturas das substâncias XIII e XIV , identificadas como éster 28- <i>O</i> - β -glicopiranosídeo do ácido 3- <i>O</i> - β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-olean-12-en-28-oico e éster 28- <i>O</i> - β -glicopiranosídeo do ácido 3- <i>O</i> - β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-urs-12-en-28-oico.....	140
Figura 69 -Proposta de fragmentação para a substância XIII	142
Figura 70 -Espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, 500 MHz).....	143
Figura 71 -Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias XIII e XIV na região entre 6,0 e 4,8 ppm (MeOD, 500 MHz).	144
Figura 72 -Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias XIII e XIV na região entre 4,2 e 2,7 ppm (MeOD, 500 MHz).	145
Figura 73 -Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias XIII e XIV na região entre 2,5 e 0,5 ppm (MeOD, 500 MHz).	146
Figura 74 -Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	147
Figura 75 -Ampliação do espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	148
Figura 76 -Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	149
Figura 77 -Ampliação do espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	150
Figura 78 -Espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOH, 125 MHz).....	151
Figura 79 -Espectro NOE da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, ^1H 500 MHz), com irradiação do sinal em 0,87 ppm.....	152
Figura 80 -Espectro NOE da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, ^1H 500 MHz), com irradiação do sinal em 3,99 ppm.....	153
Figura 81 -Espectro de massas de alta resolução no modo negativo da mistura das substâncias XIII e XIV	154
Figura 82 -Espectro MS/MS do íon $[\text{M}-\text{H}]^-$ com m/z 801,40735.....	155

Figura 83 -Estrutura da substância XV , identificada como kaempferol.	157
Figura 84 -Espectro de RMN de ^1H da substância XV (MeOD, 500 MHz).	158
Figura 85 -Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da substância XV (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	159
Figura 86 -Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da substância XV (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	160
Figura 87 -Estruturas das substâncias XVI e XVII , identificadas como kaempferol-3- <i>O</i> - β -glicopiranosídeo e kaempferol-3- <i>O</i> - β -galactopiranosídeo.	163
Figura 88 -Mecanismos de fragmentação da substância XVI	165
Figura 89 -Espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias XVI e XVII (MeOD, 500 MHz).	166
Figura 90 -Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da mistura das substâncias XVI e XVII (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	167
Figura 91 -Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da mistura das substâncias XVI e XVII (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	168
Figura 92 -Espectro de massas de alta resolução no modo negativo da mistura das substâncias XVI e XVII	169
Figura 93 -Espectro MS/MS do íon $[\text{M}-\text{H}]^-$ com m/z 447,09320.	170
Figura 94 -Espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias XVI e XVII (MeOD, 125 MHz).	171
Figura 95 -Estrutura da substância XVIII , identificada como etil feoforbídeo A.	173
Figura 96 -Espectro de RMN de ^1H da substância XVIII (CDCl_3 , 500 MHz).	177
Figura 97 -Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância XVIII na região entre 9,8 e 7,0 ppm (CDCl_3 , 500 MHz).	178
Figura 98 -Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância XVIII na região entre 6,7 e 4,0 ppm (CDCl_3 , 500 MHz).	179
Figura 99 -Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância XVIII na região entre 4,0 e 3,1 ppm (CDCl_3 , 500 MHz).	180
Figura 100 -Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância XVIII na região entre 2,8 e 1,0 ppm (CDCl_3 , 500 MHz).	181
Figura 101 -Espectro de RMN de ^{13}C da substância XVIII (CDCl_3 , 125 MHz).	182
Figura 102 -Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da substância XVIII (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).	183

Figura 103 -Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, da substância XVIII (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	184
Figura 104 -Espectro de correlação homonuclear ($^1\text{H} - ^1\text{H}$), COSY, da substância XVIII (CDCl_3 , 500 MHz).....	185
Figura 105 -Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HSQC, da substância XVIII (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	186
Figura 106 -Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HSQC, da substância XVIII (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	187
Figura 107 -Estrutura da substância XIX , identificada como etil feoforbídeo B.....	189
Figura 108 -Espectro de RMN de ^1H da substância XIX (CDCl_3 , 500 MHz).....	192
Figura 109 -Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HSQC, da substância XIX (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	193
Figura 110 -Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HSQC, da substância XIX (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	194
Figura 111 -Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, da substância XIX (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	195
Figura 112 -Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, da substância XIX (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).....	196
Figura 113 -Estrutura da substância XX , identificada como β -sitosterol.....	197
Figura 114 -Espectro de RMN de ^1H da substância XX (CDCl_3 , 500 MHz).....	199
Figura 115 -Espectro de RMN de ^{13}C da substância XX (CDCl_3 , 125 MHz).....	200

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Microrganismos utilizados na determinação da concentração mínima inibitória (CMI).....	69
Tabela 2- Linhagens celulares utilizadas no ensaio de citotoxicidade.	70
Tabela 3- Massa de material vegetal, volume de solvente e quantidade de extrato obtido.	72
Tabela 4- Massas obtidas e volume de solvente gasto no fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas e das cascas do caule de <i>M. burchellii</i>	72
Tabela 5- Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância I em comparação com os dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do lupeol.	77
Tabela 6- Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância II em comparação com os dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) da betulina.	82
Tabela 7- Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) das substâncias III e IV em comparação com os dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz/50 MHz) dos ácidos oleanólico e ursólico. .	86
Tabela 8- Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) das substâncias V e VI em comparação com os dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 /piridina- d_5 , 100 MHz/125 MHz) dos ácidos 3- <i>O</i> - β -acetil oleanólico e 3- <i>O</i> - β -acetil ursólico.....	91
Tabela 9- Dados de RMN de ^{13}C (MeOD + CDCl_3 , 125MHz) das substâncias VII e VIII em comparação com os dados de RMN de ^{13}C do ácido corosólico (piridina- d_5 , 75MHz) e do ácido maslínico (MeOD, 125MHz).....	96
Tabela 10- Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) das substâncias IX e X	104
Tabela 11- Configuração e constante de acoplamento <i>J</i> (Hz) dos principais glicosídeos.....	116
Tabela 12- Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) da aglicona da substância XI em comparação com os dados de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) e ^{13}C (piridina- d_5 , 125 MHz) do ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-olean-12-en-28-oico.....	118
Tabela 13- Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) das substâncias XI e XII	119
Tabela 14- Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) das substâncias XIII e XIV	140

Tabela 15 -Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) da substância XV em comparação com os dados de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) e ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) do kaempferol.	157
Tabela 16 -Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) da substância XVI em comparação com os dados de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) e ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) do kaempferol-3- <i>O</i> - β -glicopiranosídeo.....	163
Tabela 17 -Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) da substância XVII em comparação com os dados de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) e ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) do kaempferol-3- <i>O</i> - β -galactopiranosídeo.....	164
Tabela 18 -Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância XVIII em comparação com os dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do etil feoforbídeo A.....	174
Tabela 19 -Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz), ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz), HMBC e COSY da substância XVIII	175
Tabela 20 -Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância XIX em comparação com os dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) do etil feoforbídeo B.....	190
Tabela 21 -Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância XX em comparação com os dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do β -sitosterol.....	197
Tabela 22 -Concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB) dos extratos e das frações de <i>M. burchellii</i>	201
Tabela 23 -Percentual de inibição do crescimento (IC%) das amostras frente as linhagens tumorais e não tumoral nas concentrações únicas de 100 $\mu\text{g/mL}$ (extratos e frações) e 10 $\mu\text{g/mL}$ (substâncias puras).....	203
Tabela 24 -Valores de IC_{50} e índice de seletividade (IS) dos extratos, frações e substância isolada de <i>M. burchellii</i> para as linhagens celulares tumorais e não tumoral.....	205

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A2780	linhagem celular de carcinoma de ovário
A549	linhagem celular de carcinoma de pulmão humano
AAPH	dicloreto de 2,2'-azobis (2-amidinopropano)
ABTS	2,2'-azinobis (3-etilbenzotiozolina-6-ácido sulfônico)
AcOEt	acetato de etila
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHT	hidroxitolueno butilado
CAKI-1	linhagem celular de carcinoma renal
CC	cromatografia em coluna
CCDA	cromatografia em camada delgada analítica
CDCl ₃	clorofórmio deuterado
céls	células
CH ₂ Cl ₂	diclorometano
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standard Institute</i>
cm	centímetro
CMB	concentração mínima bactericida
CMI	concentração mínima inibitória
CO ₂	dióxido de carbono
COSY	<i>correlated spectroscopy</i>
CRTI	Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação
<i>d</i>	duplete
DAD	matriz de diodos
<i>dd</i>	duplo duplete
<i>dl</i>	duplete largo
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	dimetilsulfóxido
DMSO- <i>d</i> ₆	dimetilsulfóxido deuterado
DP	desvio padrão
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
FRAP	poder de redução do íon ferro
g	grama
h	altura

HCT-116	linhagem celular de carcinoma de cólon
HCT-8	linhagem celular de carcinoma de cólon
HeLa	linhagem celular de adenocarcinoma do colo uterino humano
HESI	<i>heated electrospray ionization</i>
hex	hexano
HL-60	linhagem celular de leucemia promielocítica
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HSQC	<i>heteronuclear single quantum coherence</i>
HUEG	herbário da Universidade Estadual de Goiás
Hz	Hertz
IC%	percentual de inibição de crescimento
IC ₅₀	concentração inibitória média
IL-1 β	interleucina 1 beta
IL-6	interleucina 6
IS	índice de seletividade
<i>J</i>	constante de acoplamento
KB	linhagem celular de carcinoma de nasofaringe
kg	quilograma
kV	quilovolt
L	litro
<i>m</i>	multiplete
<i>m/z</i>	relação massa/carga
M109	linhagem celular de carcinoma de pulmão de Madison
MBCE	<i>M. burchellii</i> - cascas do caule - etanol
MBCE-A	<i>M. burchellii</i> - cascas do caule - etanol - fração em acetato de etila
MBCE-H	<i>M. burchellii</i> - cascas do caule - etanol - fração hexânica
MBCE-M	<i>M. burchellii</i> - cascas do caule - etanol - fração metanólica
MBFE	<i>M. burchellii</i> - folhas - etanol
MBFE-A	<i>M. burchellii</i> - folhas - etanol - fração em acetato de etila
MBFE-H	<i>M. burchellii</i> - folhas - etanol - fração hexânica
MBFE-M	<i>M. burchellii</i> - folhas - etanol - fração metanólica
MCF-7	linhagem celular de carcinoma de mama
MDA-MB435	linhagem celular de melanoma
MeOD	metanol deuterado

MeOH	metanol
mg	miligrama
MH	Mueller Hinton
MHz	mega Hertz
min	minuto
mL	mililitro
MPO	enzima mieloperoxidase
MS	espectrometria de massas
MS/MS	espectrometria de massas sequencial
MTT	brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio
NA	nenhuma atividade
nm	nanômetro
NOE	<i>nuclear overhauser effect</i>
NT	não testada
PC-3	linhagem celular de carcinoma de próstata
piridina-d ₅	piridina deuterada
ppm	partes por milhão
PTP1B	proteína tirosina fosfatase 1B
RMN	ressonância magnética nuclear
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
<i>s</i>	simpleto
SAP	aspartil protease secretora
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e dos Conhecimentos Tradicionais Associados
SK-MEL-2	linhagem celular de melanoma maligno
SNB-19	linhagem celular de astrocitoma
<i>t</i>	tripleto
TMS	tetrametilsilano
TNF- α	fator de necrose tumoral alfa
U	unidade
UEG	Universidade Estadual de Goiás
UFC	unidade formadora de colônia
UFG	Universidade Federal de Goiás
UPLC	cromatografia líquida de ultra eficiência

UV	ultravioleta
δ	deslocamento químico
μg	micrograma
μL	microlitro
μM	micromolar
\emptyset	diâmetro
1A9	linhagem celular de carcinoma de ovário

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
2.1	PERFIL QUÍMICO DO GÊNERO <i>Miconia</i>	24
2.2	PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DE <i>Miconia</i>	38
2.2.1	ATIVIDADE INSETICIDA.....	38
2.2.2	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	41
2.2.3	ATIVIDADES ANALGÉSICA E ANTI-INFLAMATÓRIA	43
2.2.4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	45
2.2.5	ATIVIDADE ANTITUMORAL.....	46
2.2.6	ATIVIDADE TRIPANOSSOMICIDA.....	47
2.2.7	ATIVIDADE LEISHMANICIDA	47
2.2.8	ATIVIDADE ESQUISTOSSOMICIDA.....	48
2.2.9	ATIVIDADE ANTIMALÁRICA	48
2.2.10	ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA	49
3	OBJETIVOS	50
3.1	OBJETIVO GERAL.....	50
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	50
4	METODOLOGIA	51
4.1	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS GERAIS	51
4.2	MATERIAL BOTÂNICO.....	52
4.3	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS.....	52
4.4	FRACIONAMENTO DOS EXTRATOS BRUTOS.....	53
4.5	ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>M. burchellii</i>	53
4.5.1	ESTUDO FITOQUÍMICO DE MBFE-H	53
4.5.1.1	Isolamento da substância I	54
4.5.1.2	Isolamento da substância XX.....	55
4.5.2	ESTUDO FITOQUÍMICO DE MBFE-A	56
4.5.2.1	Isolamento da substância XVIII.....	57
4.5.2.2	Isolamento das substâncias III e IV.....	58
4.5.2.3	Isolamento das substâncias XV e XIX.....	60
4.5.2.4	Isolamento das substâncias IX e X.....	60
4.5.3	ESTUDO FITOQUÍMICO DE MBFE-M.....	61

4.5.3.1	Isolamento das substâncias XVI e XVII	62
4.5.3.2	Isolamento das substâncias VII e VIII	63
4.5.3.3	Isolamento das substâncias XI, XII, XIII e XIV	64
4.5.4	ESTUDO FITOQUÍMICO DE MBCE-H.....	65
4.5.4.1	Isolamento das substâncias V e VI.....	66
4.5.4.2	Isolamento da substância II	66
4.5.5	ESTUDO FITOQUÍMICO DE MBCE-A.....	67
4.5.5.1	Isolamento das substâncias III e IV.....	67
4.6	ENSAIOS BIOLÓGICOS	68
4.6.1	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	68
4.6.2	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA	70
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
5.1	RENDIMENTO DO EXTRATO E DAS FRAÇÕES.....	72
5.2	SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS	73
5.2.1	IDENTIFICAÇÃO DOS TRITERPENOS	76
5.2.1.1	Identificação da substância I	76
5.2.1.2	Identificação da substância II	81
5.2.1.3	Identificação das substâncias III e IV	85
5.2.1.4	Identificação das substâncias V e VI.....	90
5.2.1.5	Identificação das substâncias VII e VIII	95
5.2.1.6	Identificação das substâncias IX e X.....	102
5.2.2	IDENTIFICAÇÃO DAS SAPONINAS.....	115
5.2.2.1	Identificação das substâncias XI e XII	115
5.2.2.2	Identificação das substâncias XIII e XIV	138
5.2.3	IDENTIFICAÇÃO DOS FLAVONOIDES	156
5.2.3.1	Identificação da substância XV	156
5.2.3.2	Identificação das substâncias XVI e XVII	161
5.2.4	IDENTIFICAÇÃO DOS FEOFORBÍDEOS	172
5.2.4.1	Identificação da substância XVIII.....	172
5.2.4.2	Identificação da substância XIX.....	188
5.2.5	IDENTIFICAÇÃO DO ESTEROIDE.....	197
5.2.5.1	Identificação da substância XX.....	197
5.3	ENSAIOS BIOLÓGICOS	201
5.3.1	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	201

5.3.2	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA	202
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	208
	REFERÊNCIAS	210
	APÊNDICES	219

1 INTRODUÇÃO

Com cerca de 20% do total de espécies do planeta, o Brasil ocupa o topo da lista dos países detentores da maior biodiversidade do mundo¹. Esta diversidade está dividida em seis biomas com características distintas, os quais enfrentam, em diferentes níveis, ameaças crescentes em relação à conservação e utilização sustentável².

No ranking das maiores famílias de angiospermas da flora brasileira, Melastomataceae ocupa a quinta posição³, sendo formada por cerca de 170 gêneros que incluem aproximadamente 5000 espécies⁴. Em função da sua ampla distribuição no território brasileiro, esta família tem proporcionado a realização de vários estudos, seja na área da taxonomia⁵ ou da composição química⁶, mas que ainda não refletem sua diversidade no país.

Miconia Ruiz & Pav. é o maior gênero da família Melastomataceae, com mais de 1050 espécies⁷. No Brasil, o gênero ocupa a quinta posição em diversidade e é representado por 282 espécies, das quais 125 são endêmicas³.

Extratos obtidos de espécies de *Miconia* e seus compostos isolados têm demonstrado o potencial terapêutico deste gênero. Entre as atividades biológicas relatadas, destacam-se os efeitos antimicrobiano⁸⁻²⁰, antioxidante^{12,20-24}, antitumoral²⁵⁻²⁷, tripanossomicida²⁸⁻³⁰, leishmanicida^{11,31}, esquistossomicida^{32,33}, antimalárico³⁴, inseticida^{35,36}, antibiobético³⁷, analgésico e anti-inflamatório^{24,38-44}.

Entretanto, do ponto de vista químico, poucos estudos foram realizados com espécies de *Miconia*. Estima-se que menos de 2% das espécies do gênero foram estudadas com este propósito até o ano de 2019⁴⁵. Das espécies até então investigadas foram isolados majoritariamente flavonoides^{8,9,14,19,21,23,36,37,46-49} e triterpenos^{15,17,23,26,28,29,31,32,35-37,41,46,50-56}.

Assim, no intuito de contribuir com a caracterização química e biológica de espécies vegetais do bioma Cerrado, este trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico de *Miconia burchellii* Triana (Melastomataceae) e avaliar seu potencial antibacteriano e citotóxico.

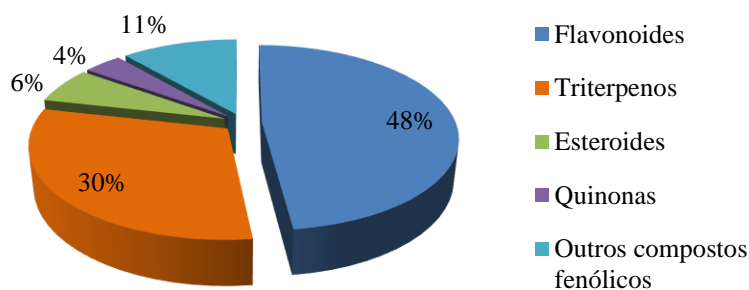
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PERFIL QUÍMICO DO GÊNERO *Miconia*

Das mais de 1900 espécies que compõem o gênero *Miconia*⁷, apenas 23 foram estudadas até o momento do ponto de vista de sua composição química: *M. affinis*, *M. albicans*, *M. alypifolia*, *M. cabucu*, *M. cannabina*, *M. fallax*, *M. ferruginata*, *M. ioneura*, *M. langsdorffii*, *M. latecrenata*, *M. lepidota*, *M. ligustroides*, *M. macrothyrsa*, *M. minutiflora*, *M. myriantha*, *M. pepericarpa*, *M. pilgeriana*, *M. prasina*, *M. rubiginosa*, *M. sellowiana*, *M. stenostachya*, *M. willdenowii* e *M. trailii*^{10,20,24,43–45}.

Destas espécies foram isoladas e identificadas 79 substâncias diferentes, pertencentes às classes dos flavonoides^{8,9,14,19,21,23,36,37,46–49}, triterpenos^{15,17,23,26,28,29,31,32,35–37,41,46,50–56}, esteroides^{36,46,51,53}, quinonas^{11,25,30,33} e outros compostos fenólicos^{9,14,35,47,48}. A proporção das classes de substâncias isoladas de espécies do gênero é mostrada na Figura 1.

Figura 1-Distribuição dos 79 compostos isolados de *Miconia* por classes.



Fonte: Autora.

No Quadro 1 estão descritas as substâncias isoladas, bem como as espécies e as partes das plantas de onde foram obtidas. As estruturas destas substâncias estão representadas na Figura 2 (página 32). Dos 38 flavonoides isolados e identificados de *Miconia*, 28 são flavonoides glicosilados que apresentam unidades de açúcar nos carbonos 3 ou 7, e 10 são agliconas. A unidade aglicona mais presente nestes compostos é a quercetina (**1**), seguida do matteucinol (**13**) e do kaempferol. Já entre os triterpenos, os de esqueleto pentacíclico se destacam, especialmente o ácido ursólico (**39**) e o ácido oleanólico (**40**) que são recorrentes em diferentes espécies como *M. albicans*, *M. ferruginata*, *M. fallax*, *M. langsdorffii*, *M. ligustroides*, *M. sellowiana* e *M. rubiginosa*^{15,17,23,26,28,29,31,32,36,37,41,50–52}.

Quadro 1-Substâncias isoladas e identificadas de espécies de *Miconia*.

(continua)

Classificação	Substância	Estrutura	Parte da planta	Espécie	Referências
Flavonoides	quercetina	(1)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Pieroni et al. ²³
	quercetina-3- <i>O</i> -glicosídeo	(2)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Pieroni et al. ²³
	quercetina-3- <i>O</i> -galactosídeo	(3)	Folhas	<i>M. alypifolia</i>	Mancini et al. ²¹
	quercetina-3- <i>O</i> - α -ramnopiranosídeo	(4)	Folhas	<i>M. cabucu</i> , <i>M. rubiginosa</i>	Rodrigues et al. ^{14,47,48}
	quercetina-3- <i>O</i> - β -arabinofuranosídeo	(5)	Folhas	<i>M. rubiginosa</i>	Rodrigues et al. ^{14,48}
	quercetina-3- <i>O</i> - α -arabinopiranosídeo	(6)	Folhas	<i>M. rubiginosa</i>	Rodrigues et al. ^{14,48}
	quercetina-3- <i>O</i> - β -arabinopiranosídeo	(7)	Folhas	<i>M. rubiginosa</i>	Rodrigues et al. ^{14,48}
	quercetina-3- <i>O</i> - β -glicopiranosídeo	(8)	Folhas	<i>M. cabucu</i>	Rodrigues et al. ^{14,47}
	quercetina-3- <i>O</i> - β -galactopiranosídeo	(9)	Folhas	<i>M. rubiginosa</i>	Rodrigues et al. ^{14,48}
	quercetina-3- <i>O</i> - α -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)- <i>O</i> - β -galactopiranosídeo	(10)	Folhas	<i>M. rubiginosa</i>	Rodrigues et al. ^{14,48}
	quercetina-3- <i>O</i> -(2"-galoil)- α -L-ramnopiranosídeo	(11)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Lima et al. ³⁷
	quercetina-3- <i>O</i> - β -xilopiranosil-(1 \rightarrow 2)- <i>O</i> - α -ramnopiranosídeo	(12)	Folhas	<i>M. cabucu</i>	Rodrigues et al. ^{14,47}
	matteucinol	(13)	Raízes, caule, galhos e folhas	<i>M. cannabina</i> , <i>M. prasina</i> , <i>M. trailii</i>	Miles et al. ⁸ , Tarawneh et al. ⁴⁹ , Zhang et al. ⁴⁶
	matteucinol-7- <i>O</i> - α -L-arabinopiranosil(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosídeo (miconiosídeo A)	(14)	Galhos e folhas	<i>M. trailii</i>	Zhang et al. ⁴⁶
	matteucinol-7- <i>O</i> - β -D-apiofuranosil(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosídeo	(15)	Galhos e folhas	<i>M. trailii</i>	Zhang et al. ⁴⁶

Cont. Quadro 1

(continua)

Classificação	Substância	Estrutura	Parte da planta	Espécie	Referências
	mattucinol-7- <i>O</i> - β -D-glicopiranosídeo	(16)	Galhos e folhas	<i>M. myriantha</i>	Li et al. ⁹
	mattucinol-7- <i>O</i> -[4'',6''-di- <i>O</i> -galoil]- β -D-glicopiranosídeo	(17)	Galhos e folhas	<i>M. myriantha</i>	Li et al. ⁹
	mattucinol-7- <i>O</i> -[4'',6''- <i>O</i> -(<i>S</i>)-hexahidroxidifenoil]- β -D-glicopiranosídeo	(18)	Galhos e folhas	<i>M. myriantha</i>	Li et al. ⁹
	demetoximatteucinol	(19)	Caule	<i>M. prasina</i>	Tarawneh et al. ⁴⁹
	7- <i>O</i> - β -D-apiofuranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosil-demetoximatteucinol (miconiosídeo C)	(20)	Caule	<i>M. prasina</i>	Tarawneh et al. ⁴⁹
	farrerol	(21)	Caule	<i>M. prasina</i>	Tarawneh et al. ⁴⁹
	farrerol-7- <i>O</i> - β -D-apiofuranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosídeo (miconiosídeo B)	(22)	Caule, galhos e folhas	<i>M. prasina</i> , <i>M. trailii</i>	Tarawneh et al. ⁴⁹ , Zhang et al. ⁴⁶
	miricetina-3- <i>O</i> - α -ramnopiranosídeo	(23)	Folhas	<i>M. cabucu</i> , <i>M. albicans</i>	Lima et al. ³⁷ , Rodrigues et al. ^{14,47}
	miricetina-3- <i>O</i> - β -xilopiranosil-(1 \rightarrow 2)- <i>O</i> - α -ramnopiranosídeo	(24)	Folhas	<i>M. cabucu</i>	Rodrigues et al. ¹⁴
	mearnsetina-3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo	(25)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Lima et al. ³⁷
	kaempferol-3- <i>O</i> -diglicosídeo	(26)	Folhas	<i>M. alypifolia</i>	Mancini et al. ²¹
	kaempferol-3- <i>O</i> -galactosídeo	(27)	Folhas	<i>M. alypifolia</i>	Mancini et al. ²¹
	kaempferol-3- <i>O</i> - β -galactopiranosídeo	(28)	Folhas	<i>M. rubiginosa</i>	Rodrigues et al. ⁴⁸
	kaempferol-3- <i>O</i> - α -L-arabinopiranosídeo	(29)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Lima et al. ³⁷
	kaempferol-3- <i>O</i> - β -(6''-cumaroil)-glicopiranosídeo	(30)	Folhas	<i>M. cabucu</i>	Rodrigues et al. ^{14,47}

Cont. Quadro 1

(continua)

Classificação	Substância	Estrutura	Parte da planta	Espécie	Referências
	rutina	(31)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Pieroni et al. ²³
	apigenina-7- <i>O</i> -glicosídeo	(32)	Folhas	<i>M. alypifolia</i>	Mancini et al. ²¹
	epicatequina	(33)	Folhas	<i>M. rubiginosa</i>	Rodrigues et al. ^{14,48}
	5,6,7-trihidroxi-4'-metoxiflavona	(34)	Folhas	<i>M. ferruginata</i>	Cunha et al. ³⁶
	5-hidroxi-7,4'-dimetoxi-8-metilflavona	(35)	Folhas	<i>M. ferruginata</i>	Cunha et al. ³⁶
	5,7,4'-trihidroxi-6,8-dimetilflavona	(36)	Folhas	<i>M. ferruginata</i>	Cunha et al. ³⁶
	5-hidroxi-2-(4-hidroxifenil)-7-metoxi-6,8-dimetil 4H-1-benzopiran-4-ona (sideroxilina)	(37)	Folhas	<i>M. ioneura</i>	Tracanna et al. ¹⁹
	5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavona-(6-C-6'')-5''-hidroxi-3''',4''',7''-trimetoxiflavona	(38)	Folhas	<i>M. cabucu</i>	Rodrigues et al. ^{14,47}
Triterpenos	ácido ursólico	(39)	Partes aéreas, folhas e caule	<i>M. albicans, M. fallax, M. ligustroides, M. sellowiana, M. langsdorffii, M. ferruginata, M. rubiginosa</i>	Cunha et al. ^{17,26,29,32,36} , Lima et al. ³⁷ , Furtado et al. ⁵⁰ , Macari et al. ⁵¹ , Peixoto et al. ³¹ , Pieroni et al. ²³ , Queiroz et al. ¹⁵ , Vasconcelos et al. ⁴¹
				<i>M. ferruginata, M. langsdorffii, M. ligustroides, M. fallax, M. albicans, M. rubiginosa</i>	Cunha et al. ^{17,26,28,29,32,36} , Furtado et al. ⁵⁰ , Lima et al. ³⁷ , Macari et al. ⁵¹ , Peixoto et al. ³¹ , Queiroz et al. ¹⁵ , Resende et al. ⁵²
	ácido oleanólico	(40)	Folhas, partes aéreas e caule	<i>M. langsdorffii, M. ligustroides, M. fallax, M. albicans, M. rubiginosa</i>	Furtado et al. ⁵⁰ , Lima et al. ³⁷ , Macari et al. ⁵¹ , Peixoto et al. ³¹ , Queiroz et al. ¹⁵ , Resende et al. ⁵²

Cont. Quadro 1

(continua)

Classificação	Substância	Estrutura	Parte da planta	Espécie	Referências
	α -amirina	(41)	Partes aéreas e folhas	<i>M. albicans</i> , <i>M. pepericarpa</i> , <i>M. sellowiana</i> , <i>M. falax</i> , <i>M.</i> <i>rubiginosa</i> , <i>M. ligustroides</i> <i>M. albicans</i> , <i>M. pepericarpa</i> ,	Crevelin et al. ⁵³ , Pieroni et al. ²³
	β -amirina	(42)	Partes aéreas	<i>M. sellowiana</i> , <i>M. falax</i> , <i>M.</i> <i>rubiginosa</i> , <i>M. ligustroides</i>	Crevelin et al. ⁵³
	acetato de α -amirina	(43)	Partes aéreas	<i>M. rubiginosa</i>	Crevelin et al. ⁵³
	acetato de β -amirina	(44)	Partes aéreas	<i>M. rubiginosa</i>	Crevelin et al. ⁵³
	ácido arjunólico	(45)	Partes aéreas, caule e raízes	<i>M. ligustroides</i> , <i>M. trailii</i> , <i>M.</i> <i>albicans</i> <i>M. affinis</i> , <i>M.</i> <i>pilgeriana</i>	Cunha et al. ²⁹ , Guldbrandsen et al. ³⁵ , Macari et al. ⁵¹ , Li et al. ⁵⁴ , Zhang et al. ⁴⁶
	ácido sumaresinólico	(46)	Partes aéreas e folhas	<i>M. stenostachya</i> , <i>M.</i> <i>albicans</i> , <i>M. fallax</i>	Chan et al. ⁵⁵ , Cunha et al. ²⁸ , Lima et al. ³⁷
	ácido 2- α -hidroxiursólico	(47)	Partes aéreas	<i>M. sellowiana</i>	Cunha et al. ²⁹
	ácido maslínico	(48)	Partes aéreas e folhas	<i>M. sellowiana</i> , <i>M. albicans</i>	Cunha et al. ²⁹ , Lima et al. ³⁷
	ácido 3- <i>O</i> - <i>cis</i> - <i>p</i> -cumaroil maslínico	(49)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Lima et al. ³⁷
	ácido 3- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -cumaroil maslínico	(50)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Lima et al. ³⁷
	ácido 3- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -cumaroil 2 α -hidroxidulcióico	(51)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Lima et al. ³⁷

Cont. Quadro 1

(continua)

Classificação	Substância	Estrutura	Parte da planta	Espécie	Referências
	ácido gipsogênico	(52)	Partes aéreas	<i>M. stenostachya</i>	Cunha et al. ²⁸
	ácido 2 α ,3 β ,19 α -trihidroxiolean-12-en-24,28-dióico (ácido bartogênico)	(53)	Galhos e folhas	<i>M. trailii</i>	Zhang et al. ⁴⁶
	3-(<i>E</i>)- <i>p</i> -cumaroil- α -amirina	(54)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Pieroni et al. ²³
	ácido oleanônico	(55)	Partes aéreas	<i>M. fallax</i>	Cunha et al. ²⁸
	acetato de 28-carboxi-3-oxoolean-12-en-21 α -il	(56)	Folhas	<i>M. macrothyrsa</i>	Diniz et al. ⁵⁶
	ácido 3- <i>epi</i> -sumaresinólico	(57)	Folhas	<i>M. albicans</i> , <i>M. stenostachya</i>	Chan et al. ⁵⁵ , Lima et al. ³⁷
	ácido 2 α ,3 α ,19 α , 23-tetrahidroxiurs-12-en-28-óico (ácido miriântico)	(58)	Galhos e folhas	<i>M. trailii</i>	Zhang et al. ⁴⁶
	ácido <i>epi</i> -ursólico	(59)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Pieroni et al. ²³
	friedelina	(60)	Partes aéreas	<i>M. rubiginosa</i> <i>M. albicans</i> , <i>M. pepericarpa</i> ,	Crevelin et al. ⁵³
	lupeol	(61)	Partes aéreas	<i>M. sellowiana</i> , <i>M. falax</i> , <i>M. ligustroides</i>	Crevelin et al. ⁵³
	ácido <i>epi</i> -betulínico	(62)	Folhas	<i>M. albicans</i> <i>M. ferruginata</i> , <i>M. albicans</i> ,	Pieroni et al. ²³
Esteroides	β -sitosterol	(63)	Folhas e partes aéreas	<i>M. pepericarpa</i> , <i>M. sellowiana</i> , <i>M. falax</i> , <i>M. rubiginosa</i> , <i>M. ligustroide</i>	Crevelin et al. ⁵³ , Cunha et al. ³⁶

Cont. Quadro 1

(continua)

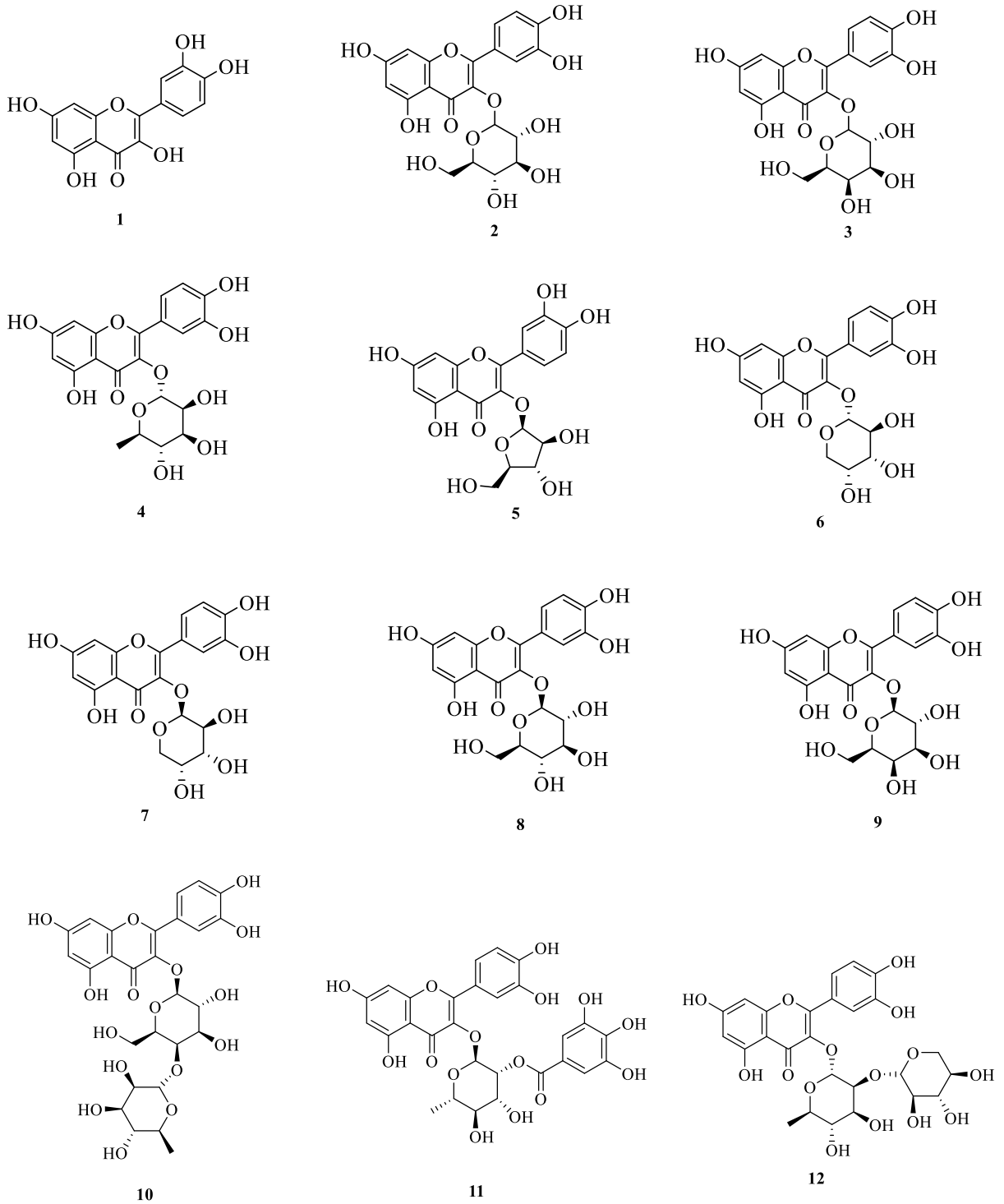
Classificação	Substância	Estrutura	Parte da planta	Espécie	Referências
Outros	estigmasterol	(64)	Folhas e partes aéreas	<i>M. ferruginata</i> , <i>M. albicans</i> , <i>M. pepericarpa</i> , <i>M.</i> <i>sellowiana</i> , <i>M. falax</i> , <i>M.</i> <i>rubiginosa</i>	Crevelin et al. ⁵³ , Cunha et al. ³⁶
	estigmast-4-en-3,6-diona	(65)	Galhos e folhas	<i>M. trailii</i>	Zhang et al. ⁴⁶
	campesterol	(66)	Partes aéreas	<i>M. albicans</i> , <i>M. pepericarpa</i> , <i>M. sellowiana</i>	Crevelin et al. ⁵³
	3- <i>O</i> -β-D-glicopiranosilsterol	(67)	Caule	<i>M. albicans</i>	Macari et al. ⁵¹
	ácido gálico	(68)	Galhos e folhas	<i>M. myriantha</i> , <i>M. cabucu</i> , <i>M.</i> <i>rubiginosa</i>	Li et al. ⁹ , Rodrigues et al. ^{14,47,48}
	ácido elágico	(69)	Galhos e folhas	<i>M. myriantha</i>	Li et al. ⁹
	ácido 3'- <i>O</i> -metil-3,4- <i>O</i> , <i>O</i> -metileno elágico	(70)	Caule	<i>M. affinis</i>	Guldbrandsen et al. ³⁵
	ácido 3',4',5'-tri- <i>O</i> -metil-3,4- <i>O</i> , <i>O</i> -metileno flavelágico	(71)	Caule	<i>M. affinis</i>	Guldbrandsen et al. ³⁵
	β-hidroxipropiovanilona	(72)	Caule	<i>M. affinis</i>	Guldbrandsen et al. ³⁵
	2-metoxi-6-pentil-1,4-benzoquinona (primina)	(73)	Folhas	<i>M. lepidota</i> , <i>M. willdenowii</i>	Gunatilaka et al. ²⁵ , Rosa ³⁰ , Viegas et al. ^{11,33}
	2-metoxi-6-heptil-1,4-benzoquinona	(74)	Folhas	<i>M. lepidota</i>	Gunatilaka et al. ²⁵
	2-metoxi-6- <i>n</i> -pentilhidroquinona (miconidina)	(75)	Folhas	<i>M. willdenowii</i>	Rosa ³⁰ , Viegas et al. ¹¹
	ácido 3,3'-di- <i>O</i> -metil-4- <i>O</i> -β-D-xilopiranosídeo elágico	(76)	Galhos e folhas	<i>M. myriantha</i>	Li et al. ⁹

Cont. **Quadro 1**

Classificação	Substância	Estrutura	Parte da planta	Espécie	Referências
	1- <i>O</i> -(<i>E</i>)-cafeoil-4,6-di- <i>O</i> -galoil- β -D-glicopiranosose	(77)	Folhas	<i>M. albicans</i>	Lima et al. ⁴²
	casuarictina	(78)	Folhas	<i>M. rubiginosa</i>	Rodrigues et al. ⁴⁸
	schizerisídeo	(79)	Folhas	<i>M. rubiginosa</i>	Rodrigues et al. ⁴⁸

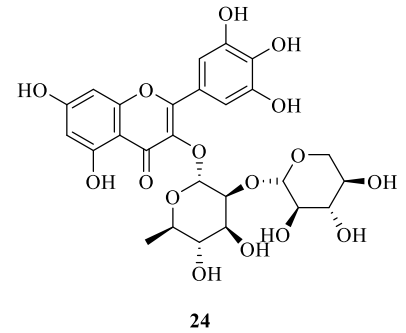
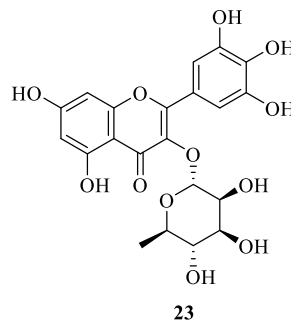
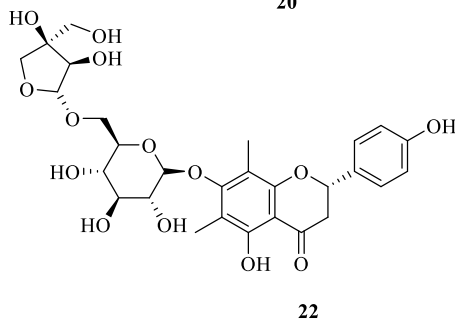
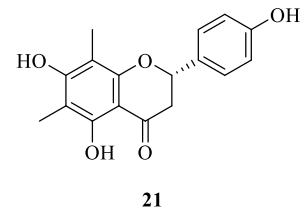
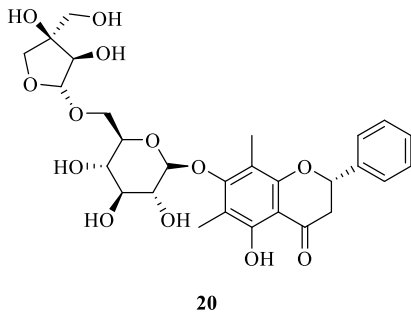
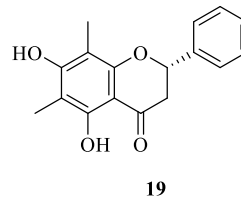
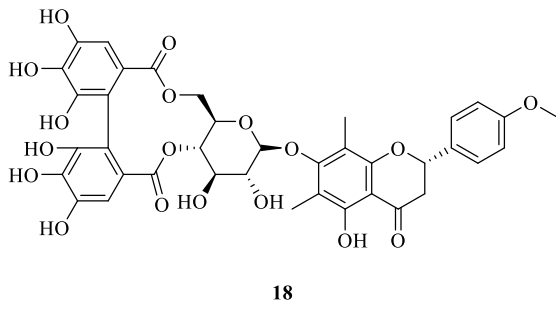
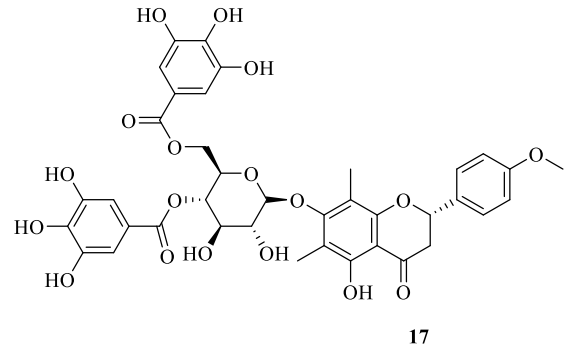
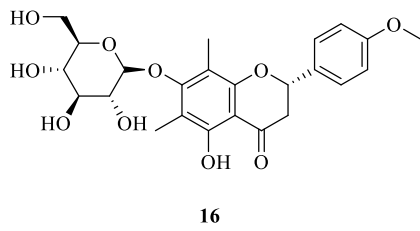
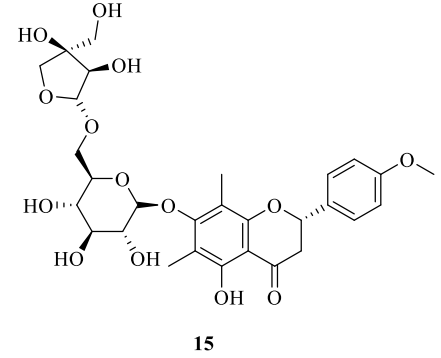
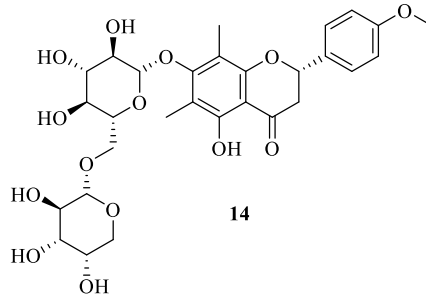
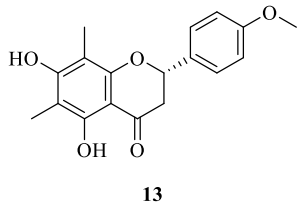
Na Figura 2 estão representadas as estruturas das substâncias identificadas de espécies de *Miconia*. O número abaixo de cada estrutura corresponde ao número citado no Quadro 1.

Figura 2-Estruturas das substâncias identificadas de espécies do gênero *Miconia*.

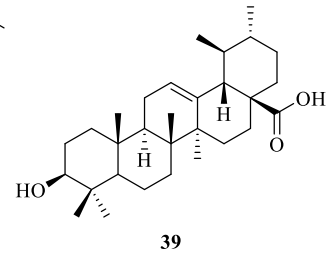
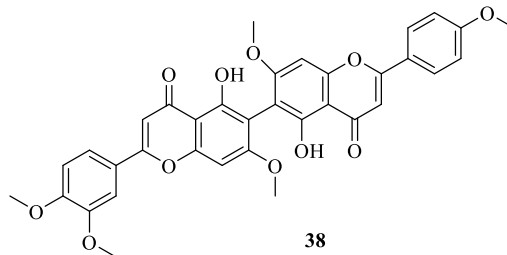
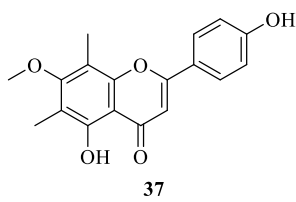
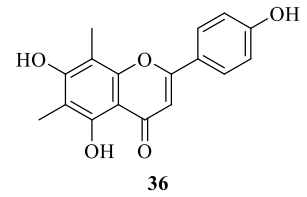
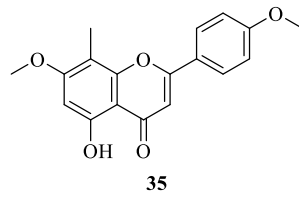
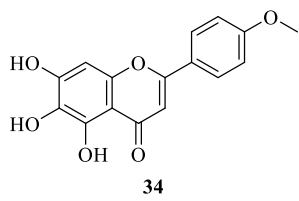
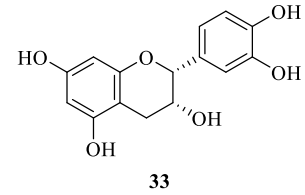
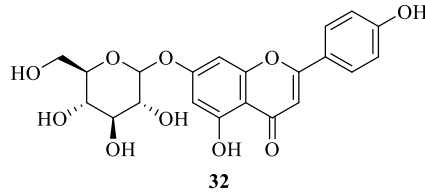
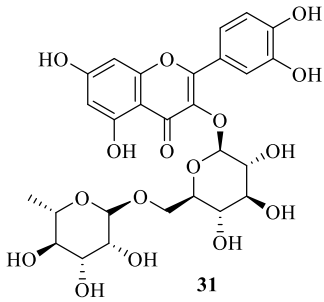
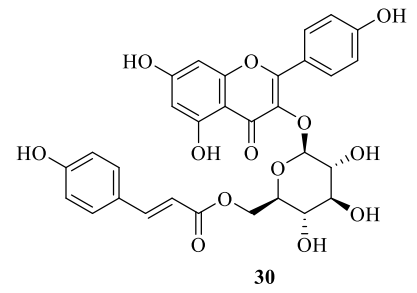
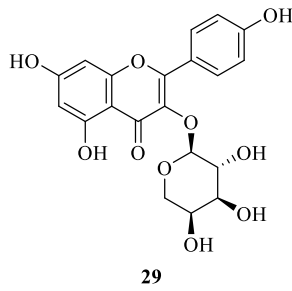
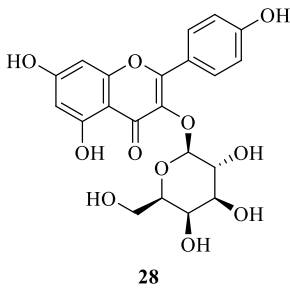
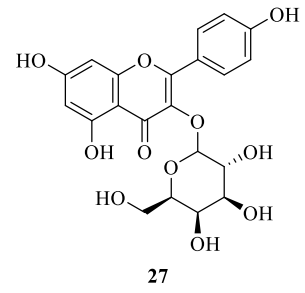
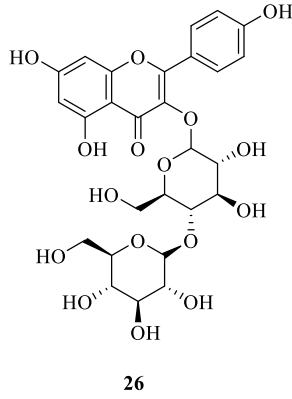
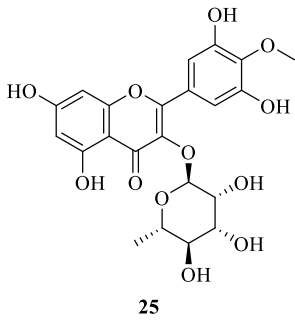


(continua)

Cont. Figura 2

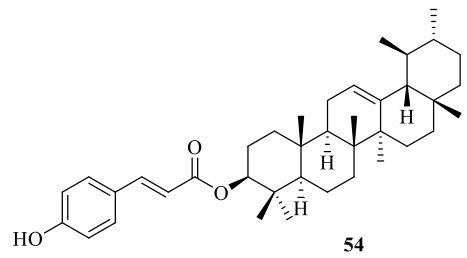
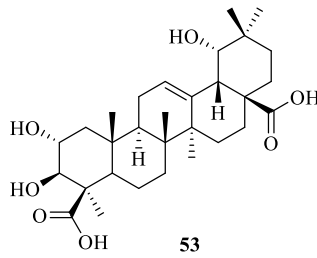
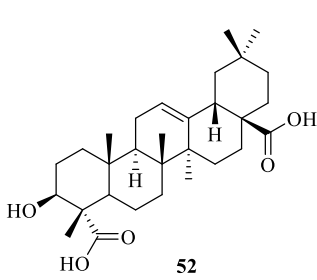
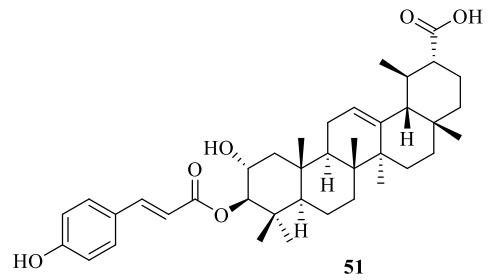
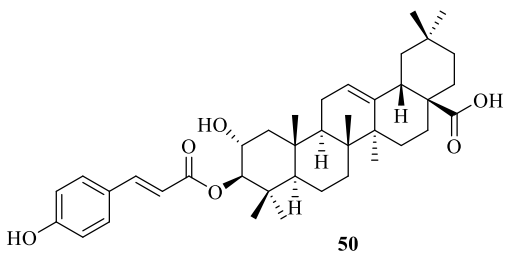
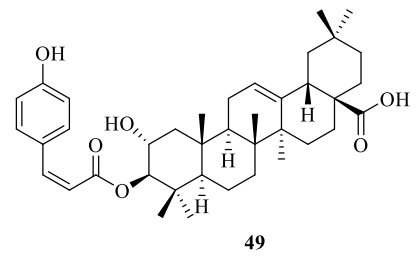
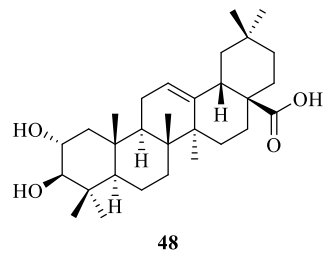
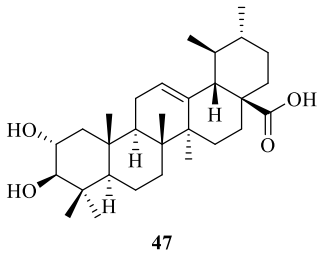
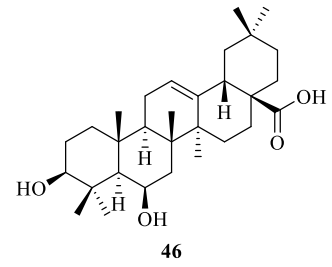
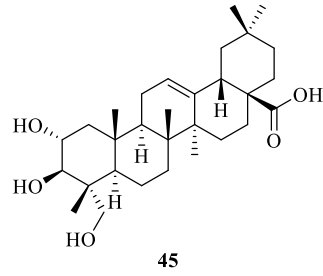
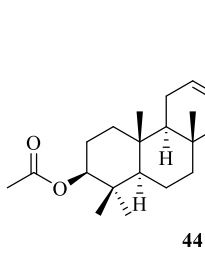
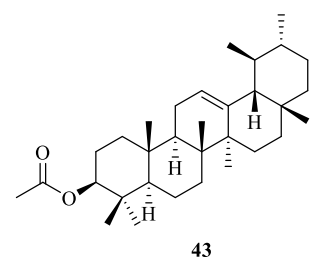
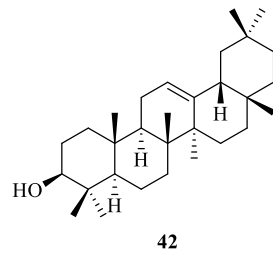
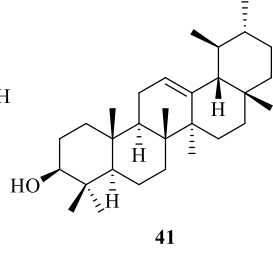
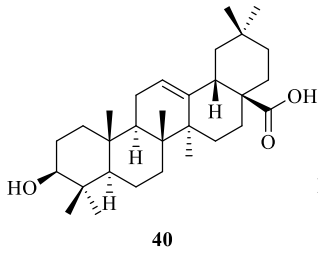


(continua)

Cont. **Figura 2**

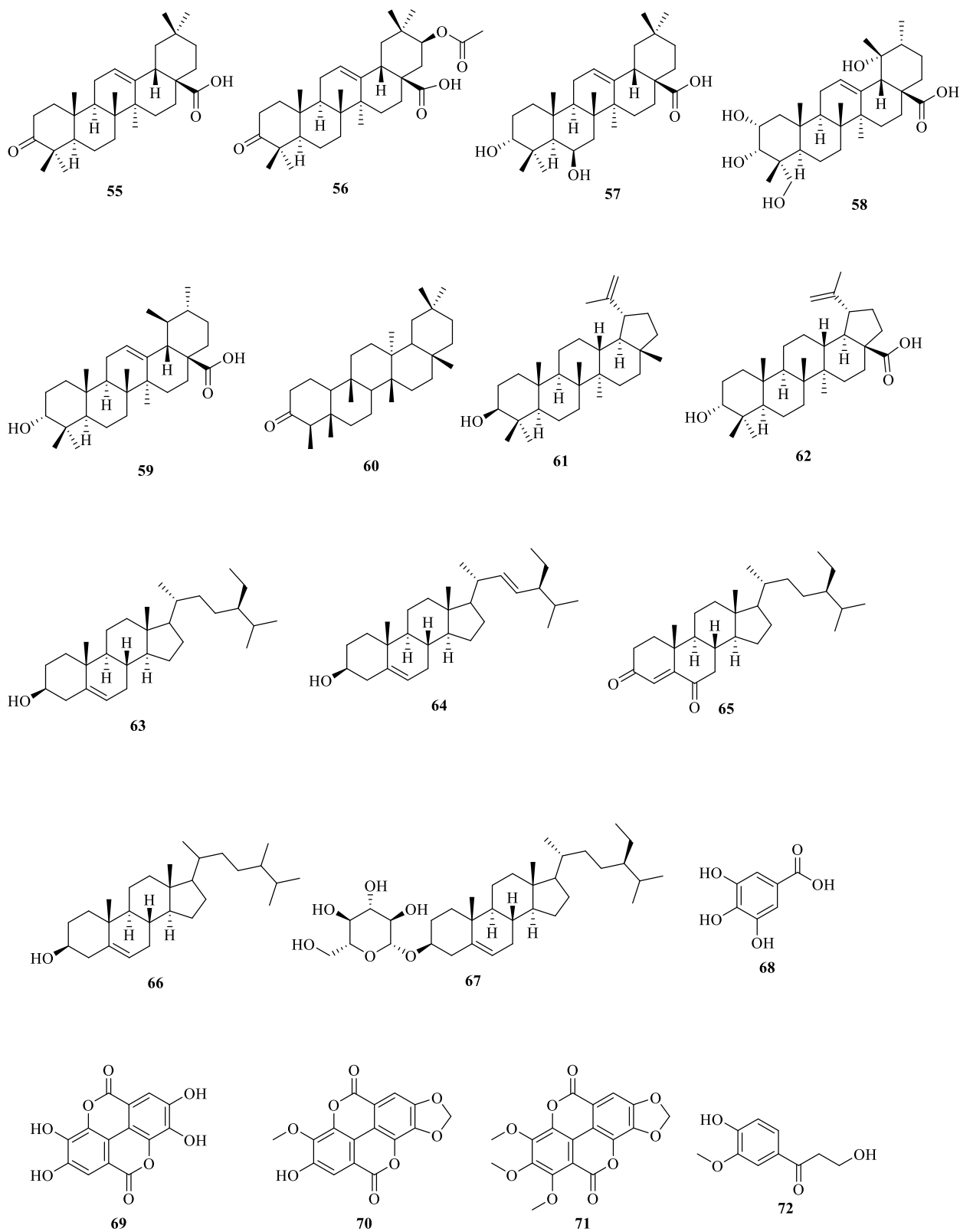
(continua)

Cont. Figura 2



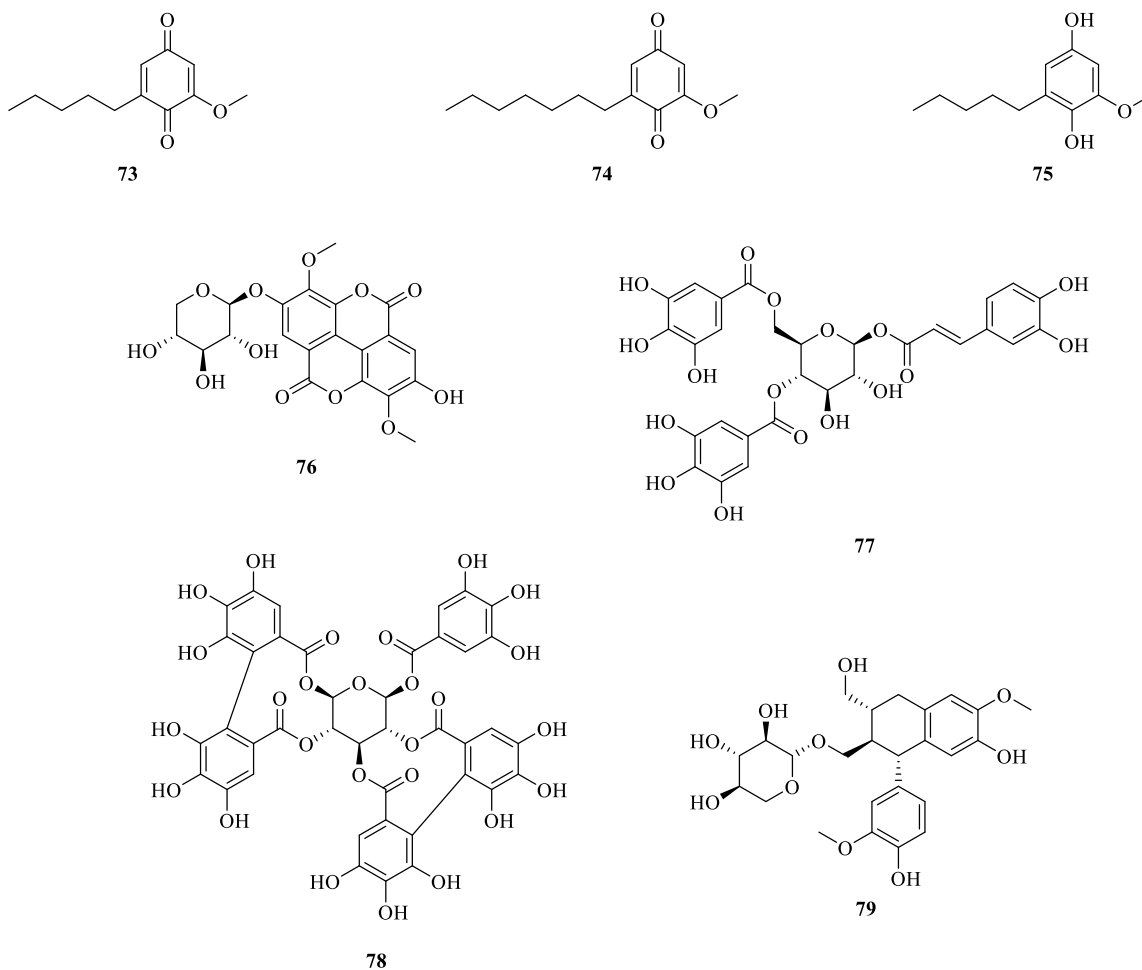
(continua)

Cont. Figura 2



(continua)

Cont. Figura 2



Fonte: Autora.

Os trabalhos mais recentes envolvendo o estudo fitoquímico de *Miconia* têm usado técnicas hífenadas, especialmente a cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC) combinada com espectrometria de massas (MS), para a identificação dos compostos presentes nos extratos vegetais, sem que seja feito o isolamento destes compostos. Gatis-Carrazzoni e colaboradores⁴⁴ detectaram a presença de oito triterpenos, além de seis elagitaninos e um flavonoide no extrato metanólico das folhas de *M. minutiflora* através de UPLC-DAD-MS/MS (cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada com matriz de diodos e espectrometria de massas). Utilizando a mesma técnica, Corrêa et al.²⁴ identificaram 35 substâncias no extrato metanólico dos frutos de *M. albicans*, incluindo flavonoides derivados da quercetina, da miricetina e do kaempferol, além de triterpenos, ácidos orgânicos e taninos. Adicionalmente, Quintas-Júnior e colaboradores⁴³ detectaram 23 compostos no extrato etanólico das folhas de *M. albicans*, sendo que os majoritários foram flavonoides glicosilados,

principalmente os derivados da quercetina e da rutina. Também por meio de UPLC-DAD-MS/MS, Gontijo et al.²⁰ e Rodrigues e colaboradores¹⁰ observaram a predominância de compostos fenólicos, principalmente taninos, nos extratos das folhas de *M. latecrenata*.

2.2 PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DE *Miconia*

Estudos envolvendo a avaliação das atividades biológicas de extratos obtidos de espécies de *Miconia* e de compostos isolados destes extratos têm relatado diversas propriedades farmacológicas, embora, assim como no caso dos estudos fitoquímicos, ainda sejam poucos em relação ao número de espécies que compõem o gênero. Destacam-se, entre elas, as atividades antimicrobiana, analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, antitumoral, tripanossomicida, leishmanicida, esquistossomicida, antimalárica, inseticida e antidiabética, as quais estão resumidas no Quadro 2 e serão apresentadas na próxima seção.

2.2.1 ATIVIDADE INSETICIDA

Em 2015, Guldbrandsen e colaboradores³⁵ conduziram um estudo que avaliou uma biblioteca de 600 extratos de plantas panamenhas quanto às atividades fungicida, inseticida e herbicida. O extrato em acetato de etila do caule de *Miconia affins* se mostrou ativo frente à *Magnaporthe oryzae* e *Septoria tritici*, que são fitopatógenos que atingem culturas de arroz e de trigo, respectivamente. Do extrato de *M.affins* foi isolado o ácido arjunólico (**45**), o qual também apresentou atividade fungicida frente aos fitopatógenos mencionados.

Em um de nossos trabalhos prévios com *Miconia*³⁶ avaliamos o efeito inseticida do extrato etanólico das folhas de *M. ferruginata* contra a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), uma das principais pragas do milho. As lagartas alimentadas com o extrato apresentaram um alongamento da fase larval de 16,56 dias em relação ao controle. A fase pupal também foi afetada, apresentando alongamento de 8,49 dias em relação ao controle. Adicionalmente, o extrato apresentou mortalidade larval de 56,67% na concentração de 1000 mg/mL.

Quadro 2-Atividades biológicas observadas no gênero *Miconia*.

(continua)

Espécie	Parte da planta	Local da coleta	Atividades biológicas	Referências
<i>M. aeruginosa</i>	Partes aéreas	Colômbia	Atividade antioxidante.	Mosquera, Corraera e Niño ²²
<i>M. affinis</i>	Caule	Panamá	Atividade fungicida.	Guldbrandsen et al. ³⁵
<i>M. albicans</i>	Folhas, partes aéreas, frutos	Brasil	Atividades antioxidante, antidiabética, analgésica, anti-inflamatória, antimicrobiana, citotóxica e antimutagênica.	Pieroni et al. ²³ , Lima et al. ^{37,42} , Vasconcelos et al. ^{40,41} , Cunha et al. ¹⁶ , Serpeloni et al. ⁵⁷ , Celoto et al. ¹³ , Corrêa et al. ²⁴ Quintans-Júnior et al. ⁴³
<i>M. alypifolia</i>	Folhas	Peru	Atividade antioxidante.	Mancini et al. ²¹
<i>M. cabucu</i>	Folhas, partes aéreas	Brasil	Atividades antimicrobiana, citotóxica e antimutagênica.	Rodrigues et al. ¹⁴ , Serpeloni et al. ⁵⁷
<i>M. cannabina</i>	Raízes	Peru	Atividade antifúngica.	Miles et al. ⁸
<i>M. chamissois</i>	Folhas	Brasil	Atividades antioxidante e antimicrobiana.	Gomes et al. ¹²
<i>M. fallax</i>	Partes aéreas	Brasil	Atividades antimutagênica, antitumoral, tripanossomicida e antibacteriana.	Resende et al. ⁵² , Cunha et al. ^{16,26,28}
<i>M. ferruginata</i>	Folhas	Brasil	Atividades inseticida e citotóxica.	Cunha et al. ^{27,36}
<i>M. ioneura</i>	Folhas	Argentina	Atividade antimicrobiana.	Tracanna et al. ¹⁹
<i>M. langsdorffii</i>	Partes aéreas	Brasil	Atividades leishmanicida e esquistossomicida.	Peixoto et al. ³¹ , Cunha et al. ³²
<i>M. latecrenata</i>	Folhas	Brasil	Atividades antioxidante e antibacteriana.	Gontijo et al. ²⁰ , Rodrigues et al. ¹⁰
<i>M. lepidota</i>	Folhas	Suriname	Atividade citotóxica.	Gunatilaka et al. ²⁵

Cont. Quadro 2

Espécie	Parte da planta	Local da coleta	Atividades biológicas	Referências
<i>M. lehmannii</i>	Partes aéreas	Colômbia	Atividade antioxidante.	Mosquera, Corraera e Niño ²²
<i>M. ligustroides</i>	Partes aéreas	Brasil	Atividades tripanossomicida e antimicrobiana.	Cunha et al. ^{17,29}
<i>M. minutiflora</i>	Folhas	Brasil	Atividades anti-inflamatória e antinociceptiva.	Gatis-Carrazzoni et al. ⁴⁴
<i>M. myriantha</i>	Galhos e folhas	Peru	Atividade antifúngica.	Li et al. ⁹
<i>M. nervosa</i>	Folhas	Brasil	Atividade antimalárica.	Lima et al. ³⁴
<i>M. pilgeriana</i>	Raízes	Peru	Efeitos inibidores da ácido graxo sintase.	Li et al. ⁵⁴
<i>M. salicifolia</i>	Não informado	Peru	Atividade antibacteriana.	Bussmann et al. ¹⁸
<i>M. sellowiana</i>	Partes aéreas	Brasil	Atividades tripanossomicida e antibacteriana.	Cunha et al. ^{16,29}
<i>M. stenostachya</i>	Folhas, partes aéreas	Brasil	Atividades antimicrobiana, tripanossomicida, citotóxica e antimutagênica.	Rodrigues et al. ¹⁴ , Cunha et al. ^{16,28} , Serpeloni et al. ⁵⁷ , Celoto et al. ¹³
<i>M. rubiginosa</i>	Folhas, partes aéreas	Brasil	Atividades antimicrobiana, analgésica, citotóxica e antimutagênica.	Rodrigues et al. ¹⁴ , Serpeloni et al. ⁵⁷ , Celoto et al. ¹³ , Spessoto et al. ³⁹
<i>M. willdenowii</i>	Folhas	Brasil	Atividades tripanossomicida, esquistossomicida, leishmanicida e antimicrobiana.	Rosa ³⁰ , Viegas et al. ^{11,33}

2.2.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

No estudo conduzido por Miles e colaboradores⁸ visando o isolamento de constituintes ativos de plantas peruanas, o extrato etanólico obtido das raízes de *M. cannabiana* se mostrou o mais ativo quando testado frente aos fungos *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* e *Helminthosporium teres* através do teste de disco difusão. Deste extrato foi isolado o flavonoide matteucinol (**13**), o qual demonstrou atividade antifúngica frente à *R. solani*, com 135% de atividade relativa.

O fracionamento biomonitorado do extrato etanólico de galhos e folhas de *M. myriantha* resultou na identificação de quatro compostos fenólicos. Entre estes compostos, o mattucinol-7-*O*-[4'',6''-*O*-(*S*)-hexahidroxi-difenil]- β -D-glicopiranosídeo (**18**) e o ácido elágico (**69**) apresentaram efeito inibitório da aspartil protease secretora (SAP) de *Candida albicans*, com IC₅₀ de 8,4 e 10,5 μ M, respectivamente⁹.

Celotto e colaboradores¹³ avaliaram, através da técnica de difusão em poço, a atividade antimicrobiana dos extratos brutos das partes aéreas de três espécies de *Miconia* (*M. albicans*, *M. rubiginosa* e *M. stenostachya*) frente à onze microrganismos, incluindo bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, além de uma espécie de levedura. Os resultados mostraram que os extratos etanólicos de *M. albicans* e *M. rubiginosa* (300 mg/mL) foram os mais ativos, inibindo o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumonia* e *Candida albicans* (halos de inibição variando de 11,0 a 20,7 mm), enquanto o extrato etanólico de *M. stenostachya* (300 mg/mL) foi ativo apenas frente à *C. albicans* (halo de inibição de 10,7 mm).

Posteriormente, Rodrigues et al.¹⁴ avaliaram os efeitos dos extratos metanólico e clorofórmico das folhas de *M. cabucu*, *M. rubiginosa* e *M. stenostachya* na inibição do crescimento de *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Salmonella*. Os resultados obtidos no teste de disco difusão mostraram que os extratos metanólicos de *M. rubiginosa* e *M. stenostachya* e o extrato clorofórmico de *M. cabucu* foram os mais ativos, com halos de inibição variando de 7 a 18 mm na concentração de 30 mg extrato/mL. Esses extratos foram então submetidos ao teste de microdiluição para determinação da concentração mínima inibitória (CMI). Entretanto, os valores de CMI foram maiores que 1000 μ g/mL frente a todos os microrganismos testados.

Triterpenos isolados de espécies de *Miconia* (*M. fallax*, *M. albicans*, *M. stenostachya* e *M. sellowiana*), bem como misturas desses triterpenos, além de derivados semissintéticos,

foram avaliados frente à *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus* e *Enterococcus faecalis*, que são microrganismos envolvidos no processo de formação de cárie dentária em humanos. Todas as substâncias testadas inibiram o crescimento dos patógenos, sendo que os melhores resultados foram obtidos para o ácido ursólico (**39**) e o ácido oleanólico (**40**), cujos valores de CMI variaram de 30 µg/mL a 80 µg/mL¹⁶.

Em um trabalho semelhante, Cunha e colaboradores¹⁷ avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato diclorometânico das partes aéreas de *M. ligustroides*, bem como dos ácidos ursólico e oleanólico, isolados à partir deste extrato, além da mistura dos dois triterpenos e de derivados do ácido ursólico. O método de microdiluição foi utilizado para determinar a CMI frente à *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella choleraesuis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Streptococcus pneumoniae*. O extrato diclorometânico apresentou baixa atividade antimicrobiana frente à maioria dos microrganismos selecionados, sendo ativo apenas frente à *B. cereus* com CMI de 625 µg/mL. Por outro lado, o ácido ursólico inibiu o crescimento de *B. cereus* com CMI de 20 µg/mL, enquanto o ácido oleanólico foi efetivo na inibição do crescimento de *B. cereus* e *S. pneumoniae* com CMI de 80 µg/mL. A mistura dos dois triterpenos não aumentou a atividade antimicrobiana. No entanto, os derivados preparados a partir do ácido ursólico aumentaram a atividade inibitória do crescimento de *S. pneumoniae*, com diminuição da CMI de 1000 µg/mL para 50 µg/mL.

Em 2010, Bussmann et al.¹⁸ avaliam a concentração mínima inibitória dos extratos de 141 espécies de plantas usadas no norte do Peru para tratar infecções bacterianas. Entre os extratos testados, o extrato etanólico de *M. salicifolia* exibiu alta atividade contra *Staphylococcus aureus*, com CMI de 62,5 µg/mL.

A atividade antifúngica do extrato em acetato de etila das folhas de *M. ioneuira* e da flavona sideroxilina (**37**), isolada deste extrato, foi avaliada por Tracanna et al.¹⁹. Os autores testaram o potencial antimicrobiano do extrato e da flavona frente à cinco cepas de *Candida* obtidas de amostras clínicas: *C. tropicalis*, *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei* e *C. glabrata*, sendo que os melhores resultados foram obtidos frente à *C. krusei*, seguida por *C. guilliermondii* e *C. albicans* (CMI variando de 31 a 245 µg/mL).

M. latecrenata é outra espécie de *Miconia* que foi avaliada recentemente quanto ao potencial antimicrobiano. No trabalho de Gontijo et al.²⁰ o extrato aquoso das folhas da espécie foi testado frente à duas cepas de *S. aureus* e uma de *E. coli*. Foram obtidos valores de CMI < 100 µg/mL para *S. aureus* 3993 e *S. aureus* 4125, e 7000 µg/mL < CMI < 8000 µg/mL para *E. coli* 24. Em outro estudo, Rodrigues e colaboradores¹⁰ avaliaram a atividade

antibacteriana de 88 extratos de árvores da Mata Atlântica brasileira e o extrato orgânico das folhas de *M. latecrenata*, obtido através da extração com diclorometano e metanol 1:1, foi o mais promissor, inibindo o crescimento de *S. aureus* (CMI 300 µg/mL) e de *P. aeruginosa* (CMI 2500 µg/mL). Após o fracionamento biomonitorado do extrato bruto, a fração em acetato de etila apresentou um valor de CMI duas vezes menor para *P. aeruginosa*. Além disso, o extrato bruto e a fração em acetato de etila mostraram sinergismo com ampicilina e tetraciclina para as duas bactérias.

O estudo bioguiado de *M. willdenowii*, conduzido por Viegas et al.¹¹, revelou potente atividade antimicrobiana da fração hexânica das folhas da espécie frente à *S. aureus* e *C. krusei*, com IC₅₀ de 15,6 e 62,5 µg/mL, respectivamente. A purificação desta fração levou ao isolamento da 2-metoxi-6-pentil-1,4-benzoquinona, conhecida como primina (**73**). Esta substância, além de apresentar efeito antifúngico à todas as cepas testadas, mostrou atividade frente à *S. aureus* (IC₅₀ 8,94 µM) com potência comparável à do medicamento de referência, cloranfenicol (IC₅₀ 6,19 µM), embora tenha apresentado também citotoxicidade para células mononucleares de sangue humano.

Por fim, o extrato aquoso das folhas de *M. chamissois*, embora não tenha apresentado inibição do crescimento de *E. coli*, foi ativo frente à *C. albicans* e *S. aureus* com CMI de 78,1 µg/mL e 312,5 µg/mL, respectivamente, conforme descrito por Gomes e colaboradores¹².

2.2.3 ATIVIDADES ANALGÉSICA E ANTI-INFLAMATÓRIA

Cunha e colaboradores³⁸ utilizaram o teste de contorção abdominal induzida por ácido acético para avaliar o efeito analgésico dos extratos hexânico, diclorometânico e etanólico das partes aéreas de *M. ligustroides*. Os resultados obtidos no teste foram estatisticamente significantes tanto para o extrato diclorometânico quanto para o extrato hexânico, os quais inibiram 57,3% e 62,5% da dor, respectivamente. Este efeito também foi observado, porém com menor intensidade, para o extrato etanólico, o qual inibiu 52,9% da dor.

O efeito analgésico dos extratos hexânico, diclorometânico e etanólico das partes aéreas de *M. rubiginosa* e *M. albicans* foram avaliados por Spessoto et al.³⁹ e Vasconcelos et al.⁴⁰, respectivamente. Os autores usaram os métodos de contorção abdominal induzida por ácido acético e teste da placa quente, em modelos experimentais com camundongos. Os extratos de *M. rubiginosa* produziram uma inibição significativa das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em todas as concentrações testadas (100, 200 e 300 mg/kg), bem como efeito antinociceptivo no teste da placa quente³⁹. Os extratos hexânico e

diclorometânico de *M. albicans* também apresentaram efeito antinociceptivo no teste de contorção abdominal, embora não tenham sido ativos no teste da placa quente⁴⁰.

Em outro trabalho conduzido pelo grupo de Vasconcelos e colaboradores⁴¹, os autores usaram modelos *in vivo* para avaliar os efeitos analgésico e anti-inflamatório dos ácidos ursólico (**39**) e oleanólico (**40**), os principais constituintes isolados do extrato diclorometânico das partes aéreas de *M. albicans*, a fim de verificar se estas substâncias eram responsáveis pelas propriedades analgésicas apresentadas anteriormente pelo extrato. No teste de contorção abdominal, os dois triterpenos inibiram, de maneira dose dependente, a contorção induzida por ácido acético em camundongos. O ácido ursólico (40 mg/kg) mostrou inibição semelhante à apresentada pelo ácido acetilsalicílico (100 mg/kg). A administração oral de ácido ursólico e ácido oleanólico (40 mg/kg) também levou à diminuição de edemas no teste de edema de pata induzido por carragenina, além de reduzir o número de lambidas de pata na segunda fase do teste da formalina⁴¹.

Recentemente, Lima et al.⁴² relataram que o tratamento de camundongos com o extrato das folhas de *M. albicans* reduziu a resposta inflamatória no teste de indução de edema de pata por carragenina e diminuiu a concentração de mediadores pró-inflamatórios (TNF- α e IL-1 β) envolvidos nesta resposta. Além disso, Quintans-Júnior et al.⁴³ demonstraram que o extrato etanólico das folhas de *M. albicans* reduziu a dor inflamatória em camundongos artríticos e inibiu a produção/liberação de citocinas (TNF- α , IL-1 β e IL-6), sem causar lesão hepática.

Adicionalmente, o efeito anti-inflamatório do extrato metanólico dos frutos de *M. albicans* foi avaliado por Corrêa et al.²⁴ quanto à propriedade de inibir o edema e o recrutamento de leucócitos para o tecido inflamado da orelha de camundongos. Os autores relatam que o tratamento tópico com o extrato reduziu significativamente a intensidade do edema da orelha em 58,48% (2,5 mg/orelha). O número de leucócitos recrutados para o tecido da orelha foi determinado por quantificação indireta da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) e os resultados mostraram que o tratamento com o extrato reduziu a atividade da enzima em 84,48% em comparação com o grupo não tratado.

Gatis-Carrazoni e colaboradores⁴⁴ avaliaram o efeito anti-inflamatório do extrato metanólico das folhas de *M. minutiflora* através de modelos de inflamação induzida por carragenina e permeabilidade vascular induzida por ácido acético. Os efeitos antinociceptivos do extrato foram avaliados através do teste de nocicepção induzida por ácido acético intraperitoneal ou por injeção subplantar de formalina. Os resultados demonstraram que o extrato (100 mg/kg) reduziu o edema da pata induzido por carragenina e a permeabilidade

vascular, além de diminuir os níveis de mediadores pró-inflamatórios (TNF- α e IL-1 β). A administração do extrato reduziu também o número de contorções em 58,9% e aumentou o limiar de dor no teste da formalina.

2.2.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Do extrato metanólico das folhas de *M. alypifolia* Mancini et al.²¹ isolaram quatro flavonoides: quercetina-3-*O*-galactosídeo (**3**), kaempferol-3-*O*-diglicosídeo (**26**), kaempferol-3-*O*-galactosídeo (**27**) e apigenina-7-*O*-glicosídeo (**32**), os quais tiveram a atividade antioxidante avaliada através do teste de captura do radical ABTS [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiozolina-6-ácido sulfônico)]. Na concentração de 100 μ M, os flavonoides (**3**), (**26**), (**27**) e (**32**) apresentaram inibição na absorvância de 70, 96, 43 e 41%, respectivamente.

Mosquera, Corraera e Niño²² avaliaram a atividade antioxidante de 46 extratos metanólicos de plantas das famílias Asteraceae, Euphorbiaceae, Melastomataceae, Rubiaceae e Solanaceae, coletadas na Colômbia, através do ensaio de captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). Entre as espécies de *Miconia* avaliadas, *M. lehmannii* e *M. aeruginosa* apresentaram atividade antioxidante de 45,3 e 36,2%, respectivamente.

A atividade antioxidante do extrato metanólico das folhas de *M. albicans*, da fração butanólica e de flavonoides isolados deste extrato foi avaliada por Pieroni e colaboradores²³ por meio dos ensaios de radicais DPPH e AAPH [dicloreto de 2,2'-azobis (2-amidinopropano)]. Os resultados mostraram que a fração butanólica apresentou atividade antioxidante significativa em ambos os testes realizados, possivelmente, segundo os autores, devido ao efeito sinérgico relacionado ao seu conteúdo de flavonoides.

Recentemente, Corrêa et al.²⁴ avaliaram o potencial antioxidante do extrato metanólico dos frutos de *M. albicans* usando uma combinação de ensaios: capacidade de redução de Folin-Ciocalteu, captura de radicais DPPH e ABTS, e determinação do poder de redução do íon ferro (FRAP). No ensaio DPPH, o potencial antioxidante foi definido em termos de IC₅₀, a partir das absorvâncias de diferentes diluições do extrato dos frutos. O valor encontrado neste ensaio foi de 1,33 mg/mL e os autores destacaram que este valor é melhor que o de outros extratos de frutos considerados potenciais fontes de antioxidantes, como goji berry, noni e jambolão. No ensaio FRAP, a capacidade de redução do extrato dos frutos de *M. albicans* foi de 8,15 mmol Fe²⁺/g de extrato, também melhor, de acordo com os autores, que o de outros frutos brasileiros conhecidos por seu potencial antioxidante, como jaboticaba e jussara.

O extrato aquoso das folhas de *M. latecrenata* também foi avaliado quanto ao potencial antioxidante por meio de diferentes testes, conforme descrito por Gontijo et al.²⁰. No teste de captura do radical livre DPPH, o extrato apresentou efeito antioxidante mais significativo (IC₅₀ 1,1 µg/mL) do que o padrão sintético, hidroxitolueno butilado (BHT, IC₅₀ 2,6 µg/mL). O mesmo aconteceu no ensaio com β-caroteno/ácido linoleico, onde o extrato de *M. latecrenata* apresentou 36,1% de inibição da oxidação, enquanto o extrato padronizado de *Ginkgo biloba* inibiu a oxidação em 0,9%.

Por fim, o extrato aquoso das folhas de *M. chamissois* também apresentou bons resultados nos testes conduzidos recentemente por Gomes e colaboradores¹². A atividade antioxidante estimada pelo teste DPPH demonstrou um IC₅₀ de 2,9 µg/mL, equivalente ao observado para o padrão ácido gálico (IC₅₀ 2,8 µg/mL) e menor que o observado para o padrão BHT (IC₅₀ 13,6 µg/mL).

2.2.5 ATIVIDADE ANTITUMORAL

No trabalho conduzido por Gunatilaka et al.²⁵ foi realizado o fracionamento biomonitorado do extrato em acetato de etila das folhas de *M. lepidota*, visando a obtenção de substâncias com potencial antitumoral. O trabalho levou ao isolamento de duas benzoquinonas que se mostraram ativas nos ensaios de citotoxicidade. Tanto a primina (**73**) quanto a 2-metoxi-6-heptil-1,4-benzoquinona (**74**) apresentaram IC₅₀ de 10 µg/mL frente às células do carcinoma de pulmão de Madison (M109). Já no ensaio envolvendo células do carcinoma de ovário (A2780), os valores de IC₅₀ foram 2,9 e 7,9 µg/mL para as substâncias (**73**) e (**74**), respectivamente.

Cunha e colaboradores²⁶, por sua vez, avaliaram o potencial antitumoral da espécie *M. fallax*. Neste estudo, o extrato etanólico das partes aéreas de *M. fallax* foi avaliado quanto à capacidade de inibir o crescimento de células de adenocarcinoma do colo uterino humano, HeLa (ATCC-CCL-2). Os autores relatam que tanto o extrato bruto quanto a mistura dos triterpenos ácido ursólico (**39**) e ácido oleanólico (**40**), obtida a partir do extrato, foram capazes de inibir o crescimento das células tumorais de maneira dose dependente.

Compostos isolados e derivados semissintéticos das folhas de *M. ferruginata* foram avaliados por nosso grupo quanto à citotoxicidade em linhagens de células tumorais e frente às catepsinas B e K²⁷. Entre os compostos avaliados, a mistura dos triterpenos esterificados, ursolato e oleanato de metila, mostrou citotoxicidade frente às linhagens celulares de melanoma (MDA-MB435) e câncer de cólon (HCT-8), com 98,1 e 98,6%, respectivamente,

de inibição de crescimento. Além disso, também foi demonstrado que a mistura dos ácidos ursólico (**39**) e oleanólico (**40**) inibiu a cathepsina B, uma enzima proteolítica relacionada com a invasão, a proliferação e metástases de células tumorais, com IC₅₀ de 13,02 µM.

2.2.6 ATIVIDADE TRIPANOSSOMICIDA

No estudo conduzido por Cunha e colaboradores²⁸, triterpenos isolados dos extratos diclorometânicos das partes aéreas de *M. fallax* e de *M. stenostachya* tiveram a atividade tripanossomicida avaliada. Os ácidos ursólico (**39**), oleanólico (**40**) e gipsogênico (**52**) foram ativos frente à forma tripomastigota sanguínea de *Trypanosoma cruzi*, com IC₅₀ de 21,3; 80,4 e 56,6 µM, respectivamente.

Dos extratos diclorometânicos das partes aéreas de *M. sellowiana* e de *M. ligustroides* também foram isolados os ácidos ursólico (**39**) e oleanólico (**40**), além do ácido arjunólico (**45**) e da mistura dos ácidos 2- α -hidroxiursólico (**47**) e maslínico (**48**). Estes triterpenos, juntamente com o sal de potássio do ácido ursólico, foram avaliados frente à forma tripomastigota sanguínea de *T. cruzi*. Os resultados do estudo *in vitro* mostraram que o ácido ursólico (IC₅₀ 17,1 µM), o ácido oleanólico (IC₅₀ 12,8 µM) e o sal de potássio do ácido ursólico (IC₅₀ 8,9 µM) foram os mais ativos²⁹.

Posteriormente, em um trabalho de bioprospecção visando a obtenção de substâncias com potencial antichagástico, Rosa³⁰ avaliou a atividade tripanossomicida de 10 espécies de plantas brasileiras, incluindo *M. willdenowii*, através de testes *in vitro* contra a forma epimastigota de *T. cruzi*. No ensaio inicial, o extrato com maior potencial anti-epimastigota foi o das folhas de *M. willdenowii*, o qual, por esta razão, foi fracionado e levou ao isolamento de duas substâncias: primina (**73**) e miconidina (**75**). Estas quinonas, quando submetidas ao ensaio anti *T. cruzi*, apresentaram potencial tripanossomicida (IC₅₀ 17,0 e 3,3 µg/mL, respectivamente) maior do que o do fármaco de referência (benznidazol, IC₅₀ 48,5 µg/mL).

2.2.7 ATIVIDADE LEISHMANICIDA

Peixoto e colaboradores³¹ avaliaram a atividade do extrato hidroalcoólico das partes aéreas de *M. langsdorffii* frente à forma promastigota de *Leishmania amazonensis*, o agente causador da leishmaniose cutânea em humanos. O fracionamento biomonitorado do extrato permitiu a identificação dos ácidos ursólico (**39**) e oleanólico (**40**) como os principais constituintes da fração que apresentou maior atividade, com valores de IC₅₀ de 360,3 e 439,5

μM , respectivamente. Adicionalmente, a mistura dos dois triterpenos apresentou um aumento na atividade antileishmania, com IC_{50} de $199,6 \mu\text{M}$, o que, segundo os autores, indica um possível efeito sinérgico entre as substâncias.

Mais recentemente, a atividade leishmanicida do extrato etanólico das folhas de *M. willdenowii* foi avaliada por Viegas et al.¹¹, apresentando 99,7% de inibição da forma promastigota de *L. amazonensis* na concentração de $80 \mu\text{g/mL}$. Deste extrato foi isolada a benzoquinona primina (**73**), que apresentou efeito leishmanicida (IC_{50} $1,25 \mu\text{M}$) mais potente do que a droga padrão, anfotericina B (IC_{50} $5,08 \mu\text{M}$).

2.2.8 ATIVIDADE ESQUISTOSSOMICIDA

Os estudos conduzidos por Cunha et al.³² indicaram que o extrato bruto e as frações das partes aéreas de *M. langsdorffii* e de outras espécies do Cerrado brasileiro foram capazes de induzir a morte de vermes no ensaio esquistossomicida *in vitro* contra *Schistosoma mansoni*. No primeiro dia de incubação, o extrato bruto de *M. langsdorffii*, na concentração de $100 \mu\text{g/mL}$, causou 25% de mortalidade de vermes adultos, tendo alcançado 100% de mortalidade do parasita no quinto dia de incubação.

Viegas et al.³³, por sua vez, avaliaram a atividade esquistossomicida dos extratos de oito plantas nativas da Mata Atlântica brasileira. Entre as espécies avaliadas, o extrato etanólico bruto das folhas de *M. willdenowii*, na concentração de $200 \mu\text{g/mL}$, apresentou os resultados mais promissores, matando aproximadamente 65% dos vermes de *S. mansoni* em comparação com o controle, praziquantel. Este extrato foi então submetido a um estudo fitoquímico bioguiado, levando ao isolamento da primina (**73**). Esta benzoquinona apresentou efeito esquistossomicida contra vermes adultos, com IC_{50} de $7,08 \mu\text{g/mL}$, embora também tenha se mostrado tóxica para células mononucleares do sangue periférico humano.

2.2.9 ATIVIDADE ANTIMALÁRICA

Lima e colaboradores³⁴ avaliaram os extratos de 11 espécies de plantas da região amazônica brasileira, incluindo *M. nervosa*, na busca por espécies que apresentassem atividade frente às cepas K1 e W2 de *Plasmodium falciparum*. O extrato metanólico das folhas de *M. nervosa* esteve entre os mais ativos, com IC_{50} de $9,9 \mu\text{g/mL}$, enquanto os extratos aquoso das folhas, e clorofórmico das folhas e das cascas apresentaram atividade moderada, com IC_{50} de 10,2; 12,4 e $13,3 \mu\text{g/mL}$, respectivamente.

2.2.10 ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA

Lima et al.³⁷ avaliaram o extrato em acetato de etila das folhas de *M. albicans* quanto ao potencial de inibição da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B), uma enzima que, segundo os autores, é responsável por diminuir a função do receptor de insulina. O extrato bruto apresentou atividade com IC₅₀ de 4,92 µg/mL. Neste extrato foram identificados oito triterpenos que também apresentaram atividade inibitória da PTP1B: ácido ursólico (**39**, IC₅₀ 2,18 µg/mL), ácido oleanólico (**40**, IC₅₀ 2,88 µg/mL), , ácido sumaresinólico (**46**, IC₅₀ 1,84 µg/mL), ácido maslínico (**48**, IC₅₀ 3,21 µg/mL), ácido 3-*O*-*cis*-*p*-cumaroil maslínico (**49**, IC₅₀ 0,46 µg/mL), ácido 3-*O*-*trans*-*p*-cumaroil maslínico (**50**, IC₅₀ 1,08 µg/mL), ácido 3-*O*-*trans*-*p*-cumaroil 2 α -hidroxidulcióico (**51**, IC₅₀ 1,6 µg/mL) e ácido 3-*epi*-sumaresinólico (**57**, IC₅₀ 2,87 µg/mL).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar o estudo fitoquímico dos extratos etanólicos das folhas e das cascas do caule de *Miconia burchellii* e testar os extratos e as frações para atividades antibacteriana e citotóxica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar e identificar o material vegetal;
- Obter os extratos etanólicos e as frações hexânica, em acetato de etila e metanólica das folhas e das cascas do caule de *M. burchellii*;
- Isolar e caracterizar substâncias presentes nos extratos das folhas e das cascas do caule de *M. burchellii*;
- Avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* dos extratos e das frações em quatro microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*;
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* dos extratos e das frações em quatro linhagens de células tumorais: SNB-19 (astrocitoma), HCT-116 (carcinoma de cólon), PC-3 (carcinoma de próstata) e HL-60 (leucemia promielocítica);
- Verificar a seletividade dos extratos e das frações em relação à proliferação de células tumorais e não tumorais.

4 METODOLOGIA

4.1 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS GERAIS

A secagem do material vegetal foi realizada em estufa com circulação de ar MA035, da marca Marconi, e a pulverização foi feita em moinho de facas tipo Willey MA580, da mesma marca. Para a evaporação dos solventes dos extratos e das frações, foi utilizado evaporador rotativo microprocessado Q344M2, da marca Quimis. O fracionamento foi feito após incorporação do extrato à celulose microcristalina D, da marca Loba Chemie.

Para cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), foram utilizadas cromatoplasmas de sílica gel 60 UV₂₅₄ em alumínio, fabricadas pela Macherey-Nagel. Como fases móveis, foram utilizadas misturas de solventes orgânicos das marcas Neon, Anidrol, Dinâmica e Ultraquímica. As placas foram observadas em luz UV a 254 nm e 365 nm, e reveladas pela nebulização de vanilina sulfúrica seguida por aquecimento.

Na cromatografia em coluna (CC) utilizou-se sílica gel 60 (70-230 Mesh e 230-400 Mesh, Macherey-Nagel), Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich) e Diaion HP-20 (Sigma Aldrich) como fases estacionárias. Como fases móveis foram utilizadas misturas de solventes orgânicos das marcas Neon, Anidrol, Dinâmica e Ultraquímica. Foram utilizadas colunas de tamanhos variados, dependendo das quantidades de amostras a serem aplicadas.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) 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 (¹³C). Foram usados clorofórmio (CDCl₃) ou metanol (MeOD) deuterados da Cambridge Isotope Laboratories como solventes para obtenção dos espectros, além do tetrametilsilano (TMS) como padrão de referência interno para os deslocamentos químicos (δ , ppm).

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos no Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação da Universidade Federal de Goiás (CRTI/UFG) através de infusão direta no espectrômetro de massas Q-Exactive Orbitrap (Thermo Scientific), equipado com fonte de ionização aquecida do tipo eletrospray (HESI) e analisador Orbitrap. As amostras foram preparadas na concentração de 40 ppm em metanol e o fluxo de injeção foi de 20 μ L/min. A fonte de íons foi operada nos modos positivo e negativo a 4 kV. A temperatura do vaporizador da fonte foi ajustada em 37 °C e a do capilar em 350 °C.

4.2 MATERIAL BOTÂNICO

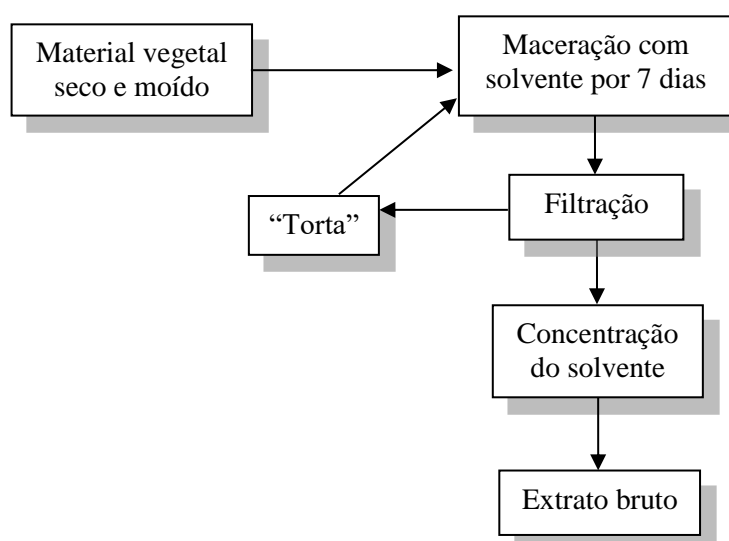
As folhas e as cascas do caule de *Miconia burchellii* (fotografia no Apêndice A) foram coletadas em junho de 2018 em três pontos diferentes da Serra dos Pirineus, localizada entre os municípios de Pirenópolis, Cocalzinho de Goiás e Corumbá de Goiás: latitude 15°47'3"S, longitude 48°48'37"O, 1140 metros de altitude; latitude 15°47'57"S, longitude 48°49'10"O, 1270 metros de altitude e latitude 15°47'52"S, longitude 48°49'53"O, 1310 metros de altitude.

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético foi cadastrada no SisGen (número A4E65A0). A identificação do material vegetal foi feita pela Profa. Dra. Mirley Luciene dos Santos e as exsiccatas foram depositadas no herbário da Universidade Estadual de Goiás (registros HUEG 13.931, 13.932 e 13.933).

4.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS

As folhas foram secas por 24 horas e as cascas do caule por 72 horas, ambos em estufa de circulação de ar a 45 °C. Posteriormente, foram pulverizados, separadamente, em moinho de facas tipo Willey. A extração do material moído foi realizada por maceração em etanol 99,5%, à temperatura ambiente, durante sete dias, seguida pela evaporação do solvente em rotaevaporador. O resíduo vegetal resultante (torta) foi extraído por mais três vezes de maneira análoga à descrita anteriormente, conforme representado na Figura 3.

Figura 3-Esquema de obtenção do extrato etanólico bruto das folhas e das cascas do caule de *M. burchellii*.

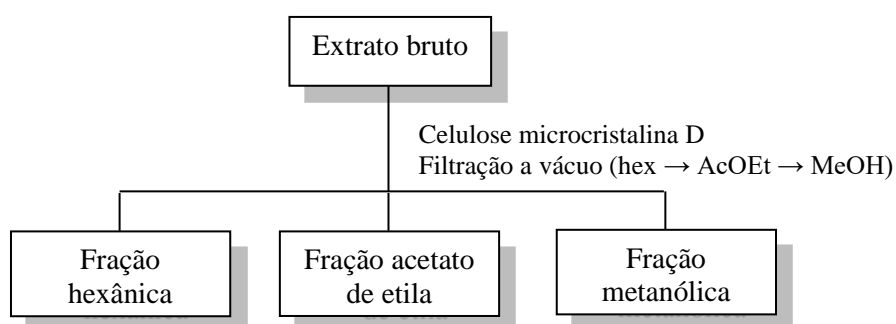


Fonte: Autora.

4.4 FRACIONAMENTO DOS EXTRATOS BRUTOS

Parte do extrato etanólico bruto das folhas (MBFE) e das cascas do caule (MBCE) de *M. burchellii* foi fracionado por meio de filtração a vácuo com a incorporação de celulose microcristalina D e passagem de solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, acetato de etila e metanol, conforme representado na Figura 4.

Figura 4-Esquema do fracionamento dos extratos etanólicos brutos das folhas e das cascas do caule de *M. burchellii*.



Fonte: Autora.

Após o fracionamento, os solventes foram rotaevaporados, originando as frações hexânica (MBFE-H), acetato de etila (MBFE-A) e metanólica (MBFE-M) das folhas e hexânica (MBCE-H), acetato de etila (MBCE-A) e metanólica (MBCE-M) das cascas do caule.

4.5 ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *M. burchellii*

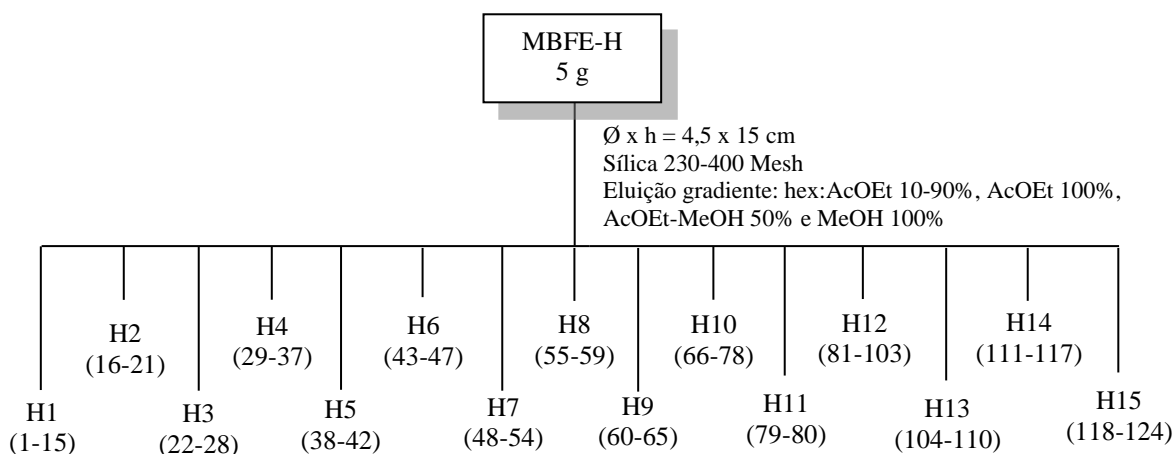
Para o isolamento dos constituintes químicos de *M. burchellii* foram empregadas técnicas cromatográficas, conforme descrito nas seções seguintes, as quais estão organizadas de modo a apresentar, em primeiro momento, o estudo fitoquímico das folhas e, em seguida, o estudo fitoquímico das cascas do caule de *M. burchellii*.

4.5.1 ESTUDO FITOQUÍMICO DE MBFE-H

Parte da fração hexânica das folhas (5 g) foi submetida à cromatografia por adsorção em coluna (\emptyset x h = 4,5 x 15 cm) utilizando sílica gel (230-400 Mesh) como fase estacionária

e eluição gradiente com hex/AcOEt/MeOH [hex/AcOEt (9:1/8:2/7:3/6:4/5:5/3:7/1:9) → AcOEt → AcOEt/MeOH 1:1 → MeOH]. Foram obtidas 124 frações, as quais, de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA, foram reunidas em 15: H1 - H15 (Figura 5).

Figura 5-Esquema de refracionamento da fração hexânica das folhas de *M. burchellii*.



Fonte: Autora.

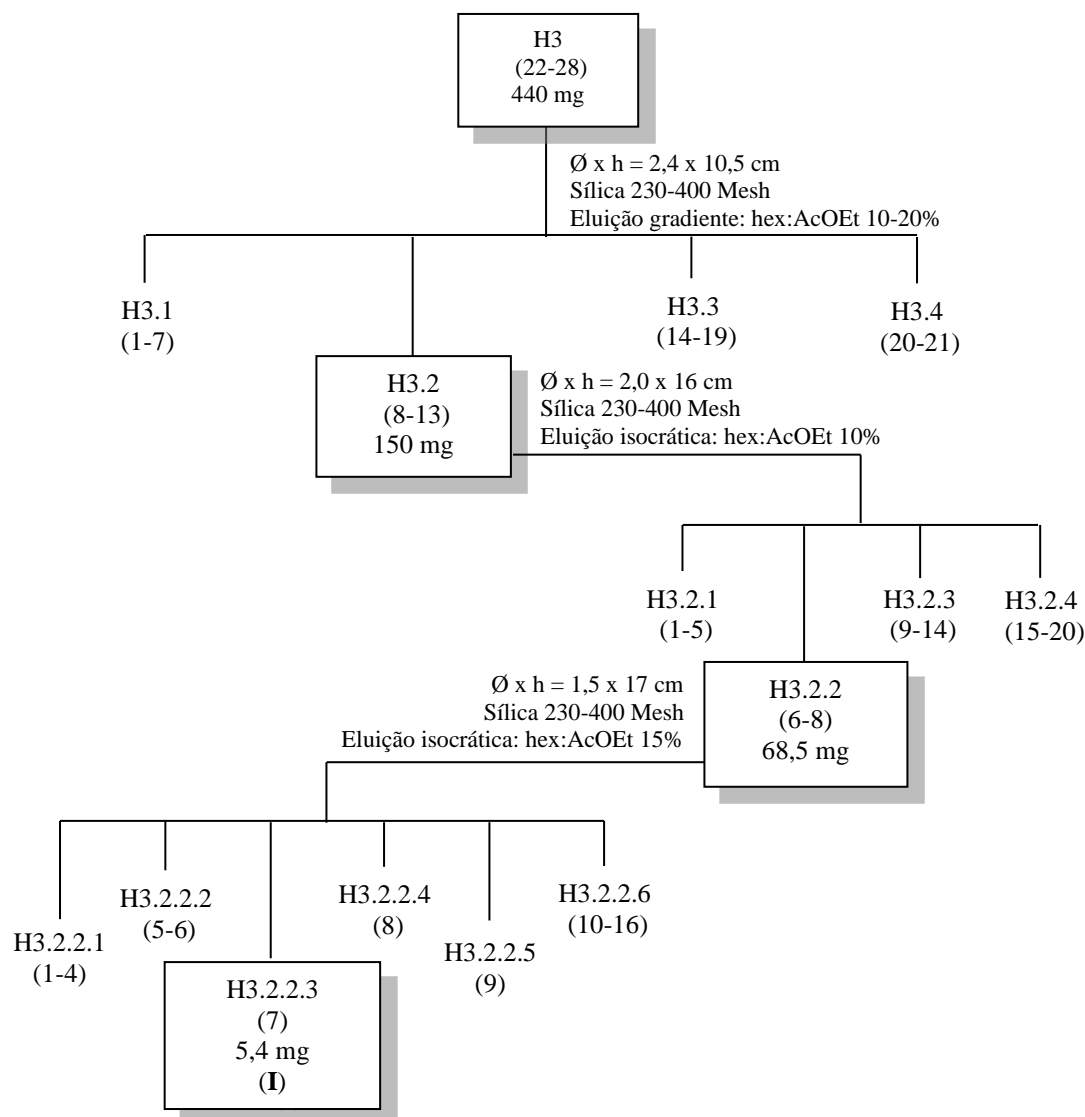
4.5.1.1 Isolamento da substância I

A fração H3 (440 mg) foi recromatografada em coluna de vidro ($\emptyset \times h = 2,4 \times 10,5$ cm) com sílica gel (230-400 Mesh) e eluição gradiente com hex/AcOEt (9:1/8:2). Foram obtidas 21 frações, que foram agrupadas em quatro após análise por CCDA: H3.1 - H3.4.

A fração H3.2 (170 mg) foi recromatografada em coluna de vidro ($\emptyset \times h = 2,0 \times 16$ cm) com sílica gel (230-400 Mesh) eluída com hex/AcOEt (9:1) em eluição isocrática. Foram recolhidas 20 frações, que foram reunidas em quatro: H3.2.1 - H3.2.4.

A fração H3.2.2 (68,5 mg) foi recromatografada em coluna de vidro ($\emptyset \times h = 1,5 \times 17$ cm) com sílica gel (230-400 Mesh) eluída com hex/AcOEt (8,5:1,5) em eluição isocrática. Foram obtidas 16 frações, as quais foram reunidas em seis após análise por CCDA: H3.2.2.1 - H3.2.2.6. A fração H3.2.2.3 (5,4 mg) mostrou uma única mancha na CCDA, que apresentou coloração roxa ao ser revelada com vanilina ácida e foi identificada por RMN de ^1H e ^{13}C como sendo a substância I. A Figura 6 apresenta um fluxograma do processo de isolamento desta substância.

Figura 6-Fluxograma do processo de isolamento da substância **I**.



Fonte: Autora.

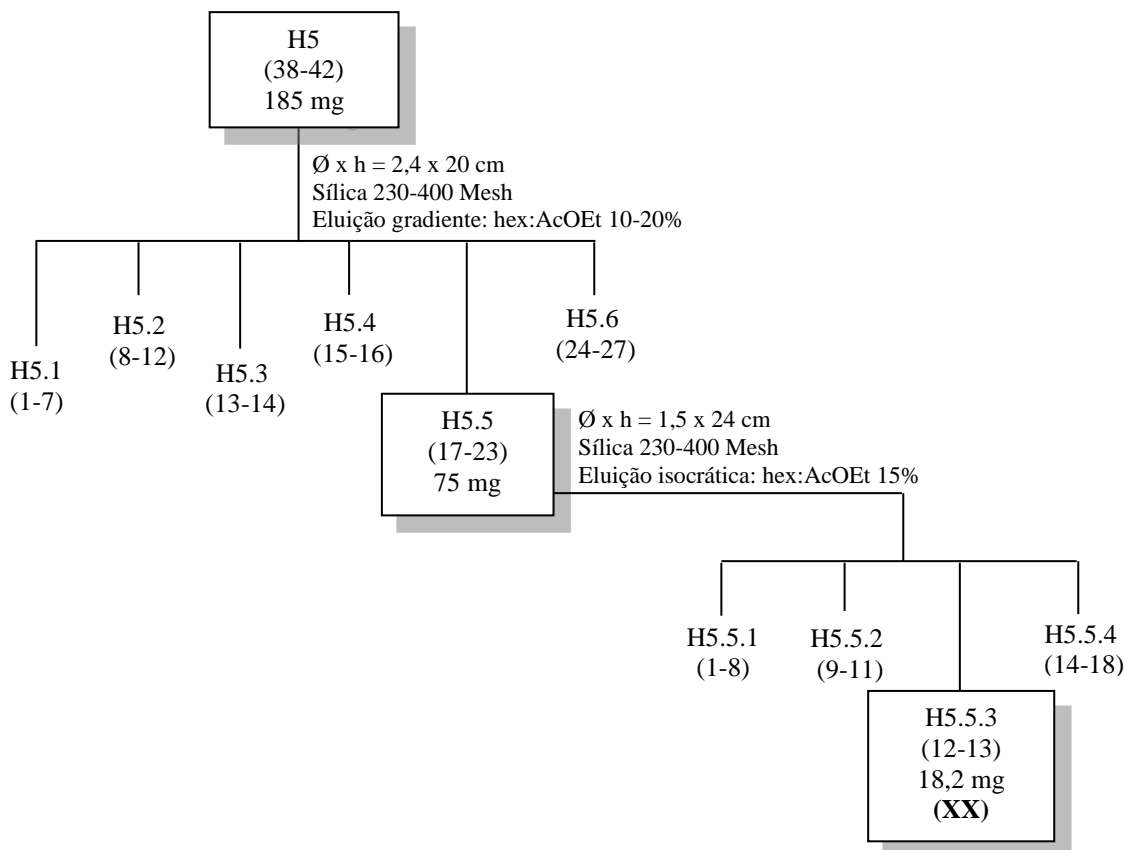
4.5.1.2 Isolamento da substância XX

A fração H5 (185 mg) foi submetida à cromatografia em coluna ($\emptyset \times h = 2,4 \times 20$ cm) utilizando sílica gel (230-400 Mesh) como fase estacionária e eluição gradiente com hex/AcOEt (9:1/8:2). Foram obtidas 27 frações, as quais, de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA, foram agrupadas em seis: H5.1 - H5.6.

A fração H5.5 (75 mg) foi recromatografada em coluna de vidro ($\emptyset \times h = 1,5 \times 24$ cm) com sílica gel (230-400 Mesh) eluída com hex/AcOEt (8,5:1,5) de modo isocrático, resultando em 18 frações, que foram reunidas quatro: H5.5.1 - H5.5.4.

A fração H5.5.3 (18,2 mg) mostrou uma única mancha na CCDA, que apresentou coloração roxa ao ser revelada com vanilina ácida e foi identificada por RMN de ^1H e ^{13}C como sendo a substância **XX**. A Figura 7 apresenta um fluxograma do processo de isolamento desta substância.

Figura 7-Fluxograma do processo de isolamento da substância **XX**.

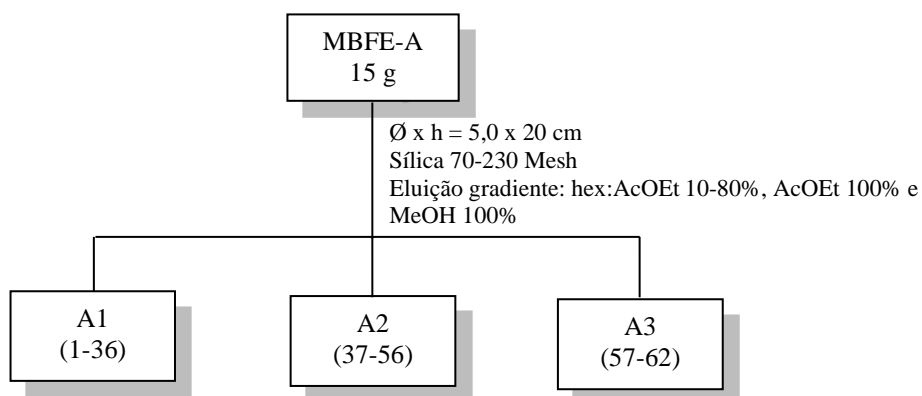


Fonte: Autora.

4.5.2 ESTUDO FITOQUÍMICO DE MBFE-A

Parte da fração em acetato de etila das folhas (15 g) foi submetida à cromatografia por adsorção em coluna ($\text{Ø} \times \text{h} = 5,0 \times 20 \text{ cm}$) utilizando sílica gel (70-230 Mesh) e eluição gradiente com hex/AcOEt/MeOH [hex/AcOEt (9:1/8,5:1,5/8:2/7:3/6:4/5:5/4:6/3:7/2:8) \rightarrow AcOEt \rightarrow MeOH]. Foram obtidas 62 frações, que foram reunidas de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA em três frações: A1 - A3 (Figura 8).

Figura 8-Esquema de refracionamento da fração em acetato de etila das folhas de *M. burchellii*.

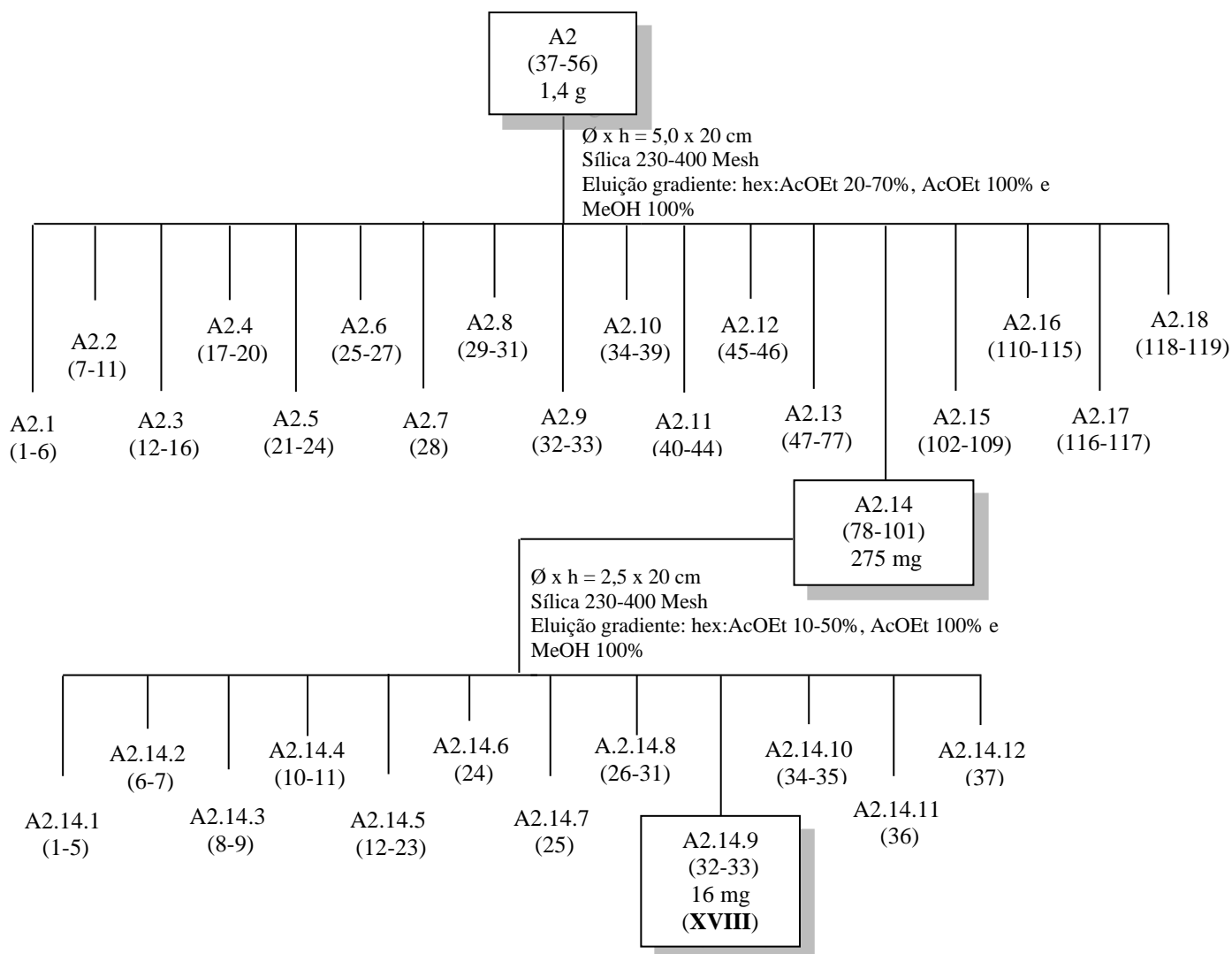


Fonte: Autora.

4.5.2.1 Isolamento da substância XVIII

A fração A2 (1,4 g) foi recromatografada em coluna ($\varnothing \times h = 5,0 \times 20$ cm) utilizando sílica gel (230-400 Mesh) como fase estacionária e eluição gradiente com hex/AcOEt/MeOH [hex/AcOEt (8:2/7:3/6:4/5:5/4:6/3:7) \rightarrow AcOEt \rightarrow MeOH]. Foram obtidas 119 frações, as quais, de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA, foram agrupadas em 18: A2.1 - A2.18.

A fração A2.14 (275 mg) foi submetida à cromatografia em coluna ($\varnothing \times h = 2,5 \times 20$ cm) utilizando sílica gel (230-400 Mesh) como fase estacionária e eluição gradiente com hex/AcOEt/MeOH [hex/AcOEt (9:1/8:2/7:3/5:5) \rightarrow AcOEt \rightarrow MeOH]. As 37 frações obtidas foram reunidas de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA em 12 frações: A2.14.1 - A2.14.12. A fração A2.14.9 (16 mg) mostrou uma única mancha na CCDA, que apresentou coloração verde ao ser revelada com vanilina ácida e foi identificada através de experimentos de RMN em uma e duas dimensões como sendo a substância **XVIII**. A Figura 9 apresenta um fluxograma do processo de isolamento desta substância.

Figura 9-Fluxograma do processo de isolamento da substância **XVIII**.

Fonte: Autora.

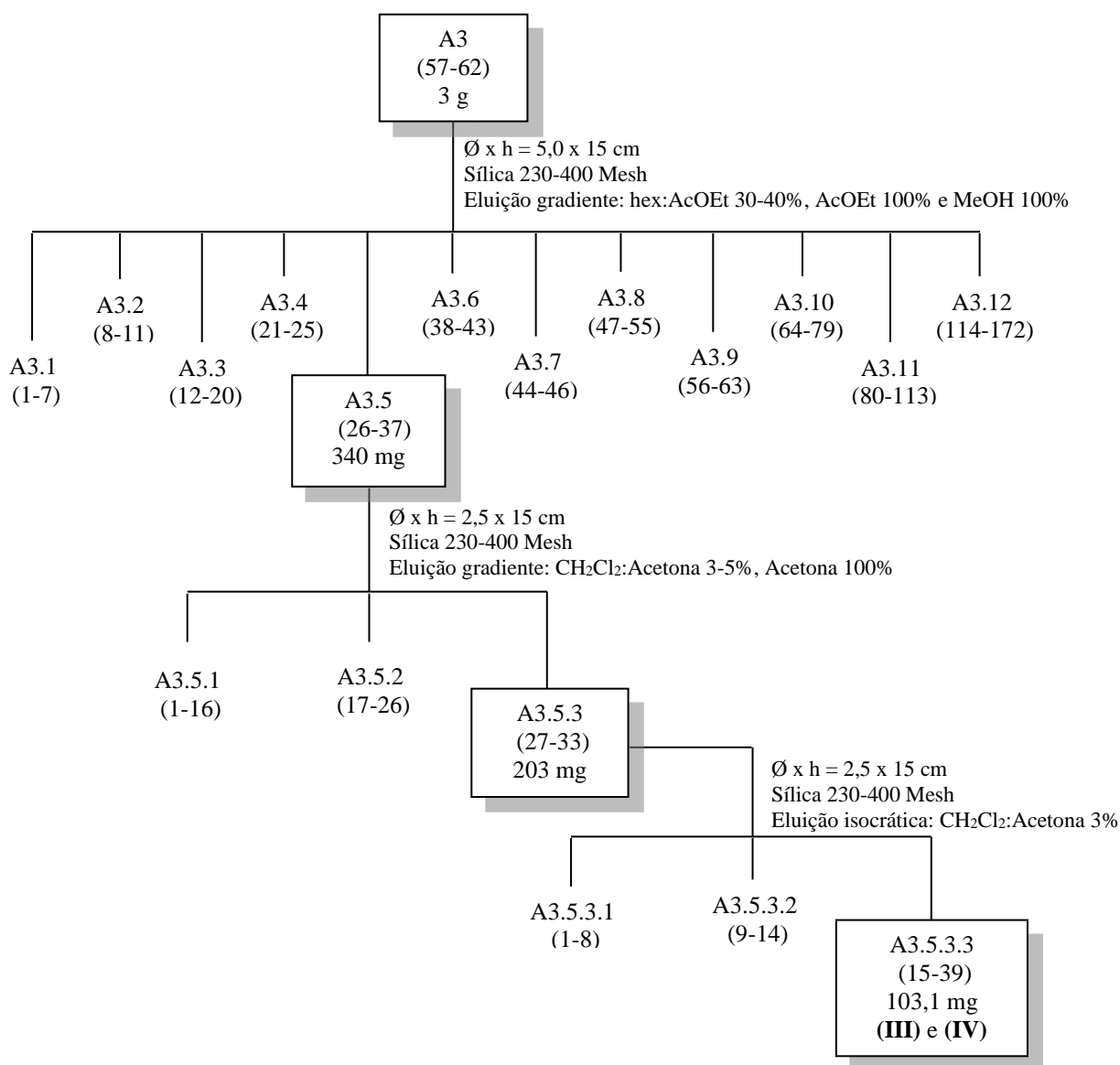
4.5.2.2 Isolamento das substâncias III e IV

A fração A3 (3 g) foi recromatografada em coluna (\varnothing x h = 5,0 x 15 cm) utilizando sílica gel (230-400 Mesh) como fase estacionária e eluição gradiente com hex/AcOEt/MeOH [hex/AcOEt (7:3/6,5:3,5/6:4) \rightarrow AcOEt \rightarrow MeOH]. Foram obtidas 172 frações, as quais, de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA, foram reunidas em 12: A3.1 - A3.12.

A fração A3.5 (340 mg) foi submetida à cromatografia em coluna (\varnothing x h = 2,5 x 15 cm) utilizando sílica gel (230-400 Mesh) como fase estacionária e eluição gradiente com CH₂Cl₂/Acetona [CH₂Cl₂/Acetona (9,7:0,3/9,5:0,5) \rightarrow Acetona]. Foram obtidas 33 frações, que foram agrupadas em três: A3.5.1 - A3.5.3.

A fração A3.5.3 (203 mg) foi submetida à cromatografia em coluna ($\varnothing \times h = 2,5 \times 15$ cm) utilizando sílica gel (230-400 Mesh) como fase estacionária e eluição isocrática com CH_2Cl_2 / Acetona (9,7:0,3). A fração A3.5.3.3 (103,1 mg) mostrou uma única mancha na CCDA, que apresentou coloração roxa ao ser revelada com vanilina ácida e foi identificada por RMN de ^1H e ^{13}C como sendo uma mistura das substâncias **III** e **IV**. A Figura 10 apresenta um fluxograma do processo de isolamento destas substâncias.

Figura 10-Fluxograma do processo de isolamento das substâncias **III** e **IV**.

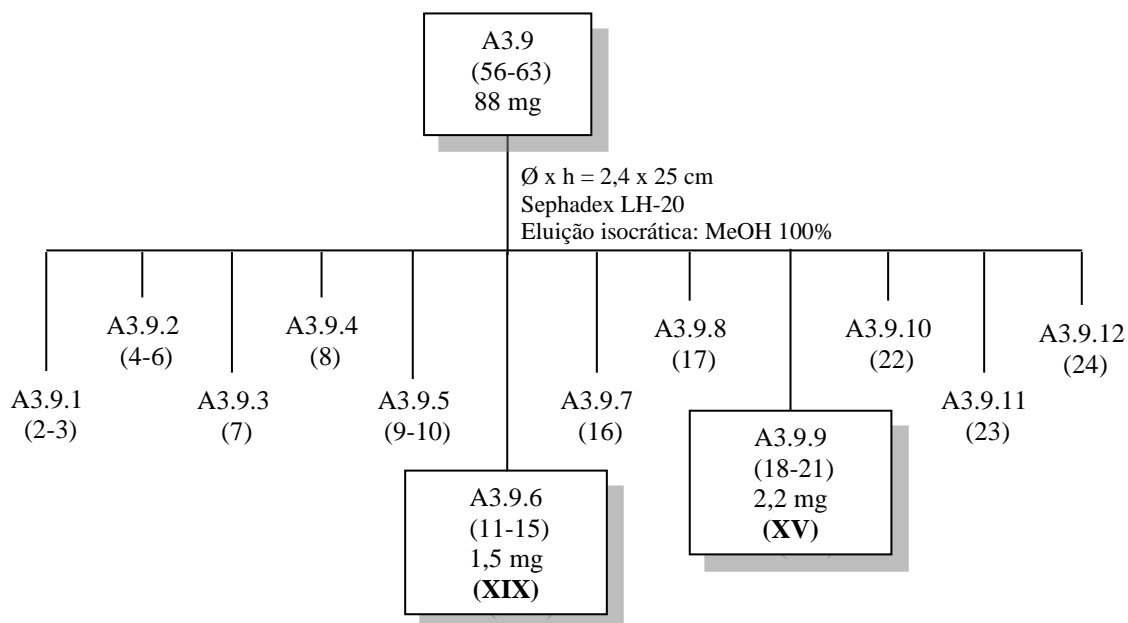


Fonte: Autora.

4.5.2.3 Isolamento das substâncias XV e XIX

A fração A3 foi recromatografada conforme descrito no tópico anterior, originando 12 frações: A3.1 - A3.12. A fração A3.9 (88 mg) foi submetida à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 ($\emptyset \times h = 2,4 \times 25$ cm) eluída de modo isocrático com MeOH 100%. Foram recolhidas 24 frações, que foram reunidas de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA em 12 frações: A3.9.1 - A3.9.12. A fração A3.9.6 (1,5 mg) mostrou uma única mancha na CCDA, que apresentou coloração verde ao ser revelada com vanilina ácida, e foi identificada através de experimentos de RMN em uma e duas dimensões como sendo a substância **XIX**. A fração A3.9.9 (2,2 mg) também mostrou uma única mancha na CCDA, de coloração amarela ao ser revelada com vanilina ácida, e foi identificada por RMN em uma e duas dimensões como sendo a substância **XV**. A Figura 11 apresenta um fluxograma do processo de isolamento destas substâncias.

Figura 11-Fluxograma do processo de isolamento das substâncias **XV** e **XIX**.



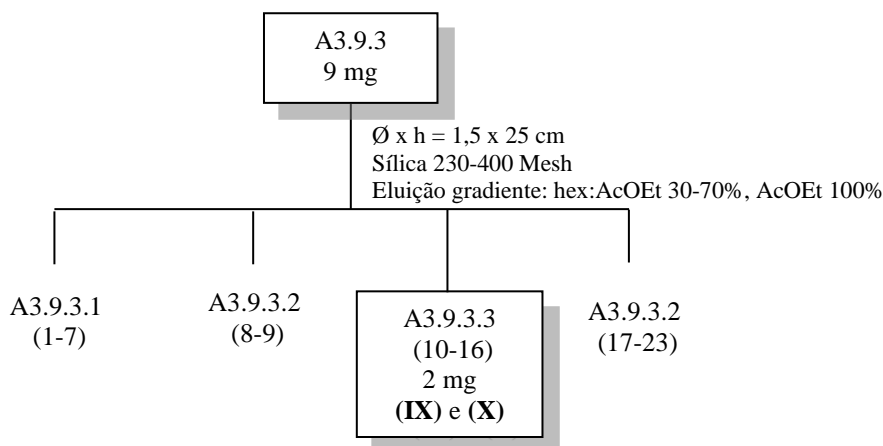
Fonte: Autora.

4.5.2.4 Isolamento das substâncias IX e X

A fração A3.9.3 (9 mg) foi submetida à cromatografia em coluna ($\emptyset \times h = 1,5 \times 25$ cm) utilizando sílica gel (230-400 Mesh) como fase estacionária e eluição gradiente com [hex/AcOEt (7:3/5:5/3:7) → AcOEt]. As 23 frações recolhidas foram agrupadas em quatro:

A3.9.3.1 - A3.9.3.4. A fração A3.9.3.3 (2 mg) mostrou uma única mancha na CCDA, que apresentou coloração azul ao ser revelada com vanilina ácida e foi identificada através de experimentos de RMN em uma e duas dimensões e espectrometria de massas de alta resolução como sendo uma mistura das substâncias **IX** e **X**. A Figura 12 apresenta um fluxograma do processo de isolamento destas substâncias.

Figura 12-Fluxograma do processo de isolamento das substâncias **IX** e **X**.

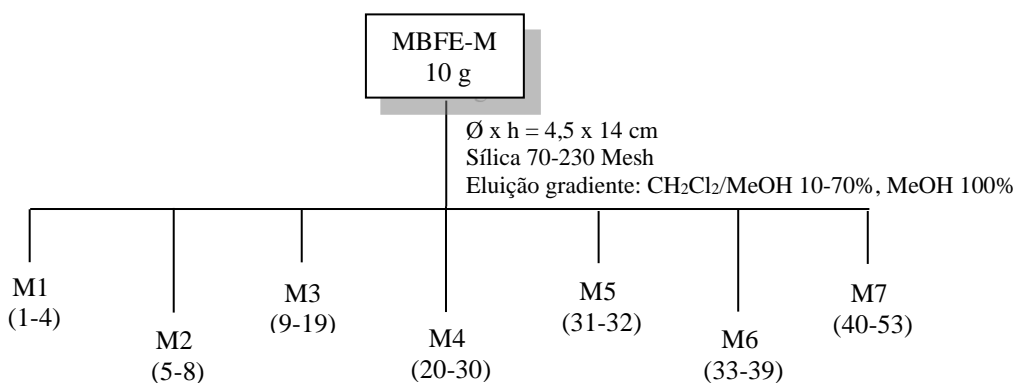


Fonte: Autora.

4.5.3 ESTUDO FITOQUÍMICO DE MBFE-M

Parte da fração metanólica das folhas (10 g) foi submetida à cromatografia por adsorção em coluna ($\emptyset \times h = 4,5 \times 14$ cm) utilizando sílica gel (70-230 Mesh) e eluição gradiente com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9:1/8:2/7:3/6:4/5:5/4:6/3:7) \rightarrow MeOH]. Foram obtidas 53 frações, que foram reunidas de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA em sete: M1 - M7 (Figura 13).

Figura 13-Esquema de refração da fração metanólica das folhas de *M. burchellii*.



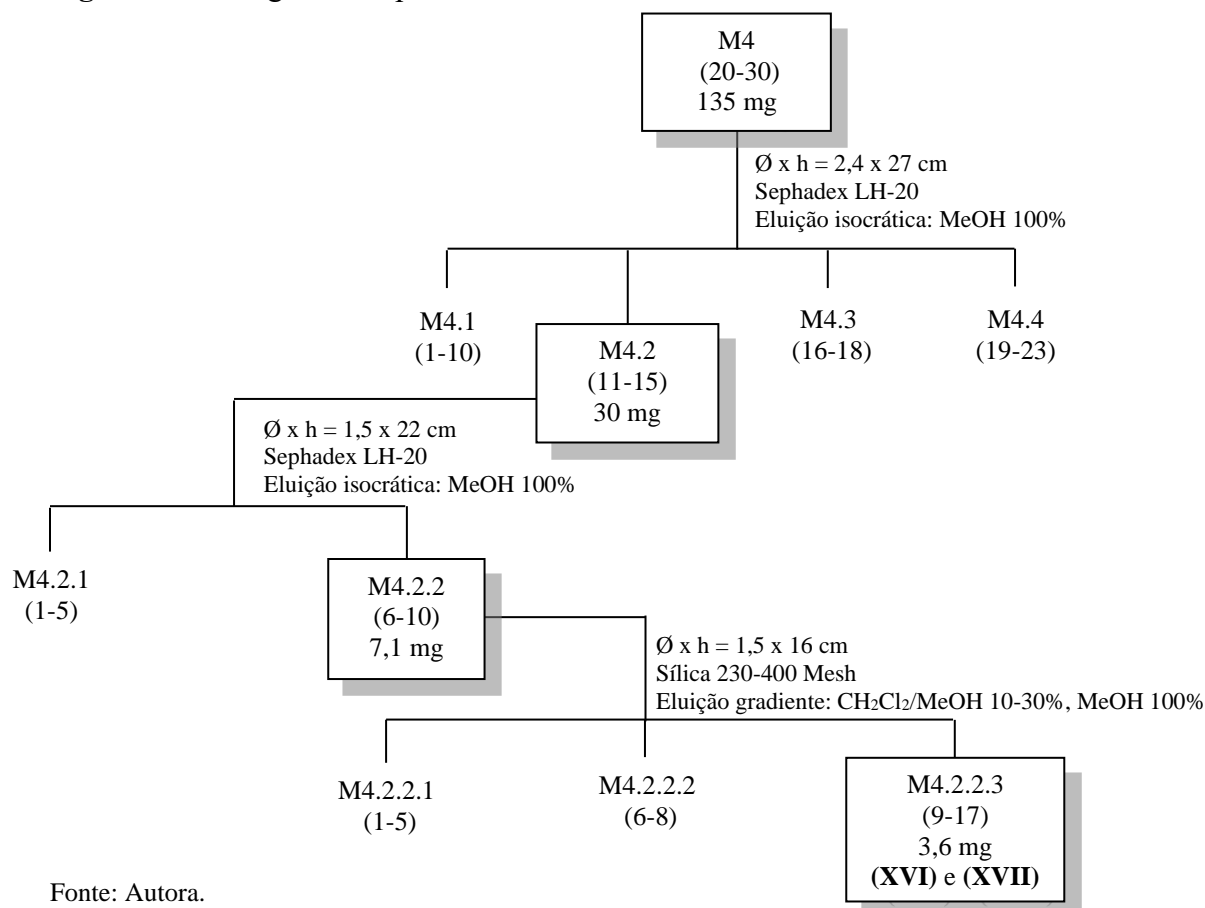
Fonte: Autora.

4.5.3.1 Isolamento das substâncias XVI e XVII

A fração M4 (135 mg) foi recromatografada em coluna de Sephadex LH-20 ($\emptyset \times h = 2,4 \times 27$ cm) eluída de modo isocrático com MeOH 100%. Foram obtidas 23 frações, que foram agrupadas em quatro: M4.1 - M4.4. A fração M4.2 (30 mg) foi submetida à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 ($\emptyset \times h = 1,5 \times 22$ cm) eluída de modo isocrático com MeOH 100%. Foram obtidas 10 frações, as quais foram reunidas de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA em duas frações: M4.2.1 - M4.2.2.

A fração M4.2.2 (7,1 mg) foi recromatografada em coluna ($\emptyset \times h = 1,5 \times 16$ cm) de sílica (230-400 Mesh), eluída de modo gradiente com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9:1/8:2/7:3) \rightarrow MeOH]. A fração M4.2.2.3 (3,6 mg) mostrou uma única mancha na CCDA, que apresentou coloração amarela ao ser revelada com vanilina ácida e foi identificada através de experimentos de RMN em uma e duas dimensões e espectrometria de massas de alta resolução como sendo uma mistura das substâncias XVI e XVII. A Figura 14 apresenta um fluxograma do processo de isolamento destas substâncias.

Figura 14-Fluxograma do processo de isolamento das substâncias XVI e XVII.

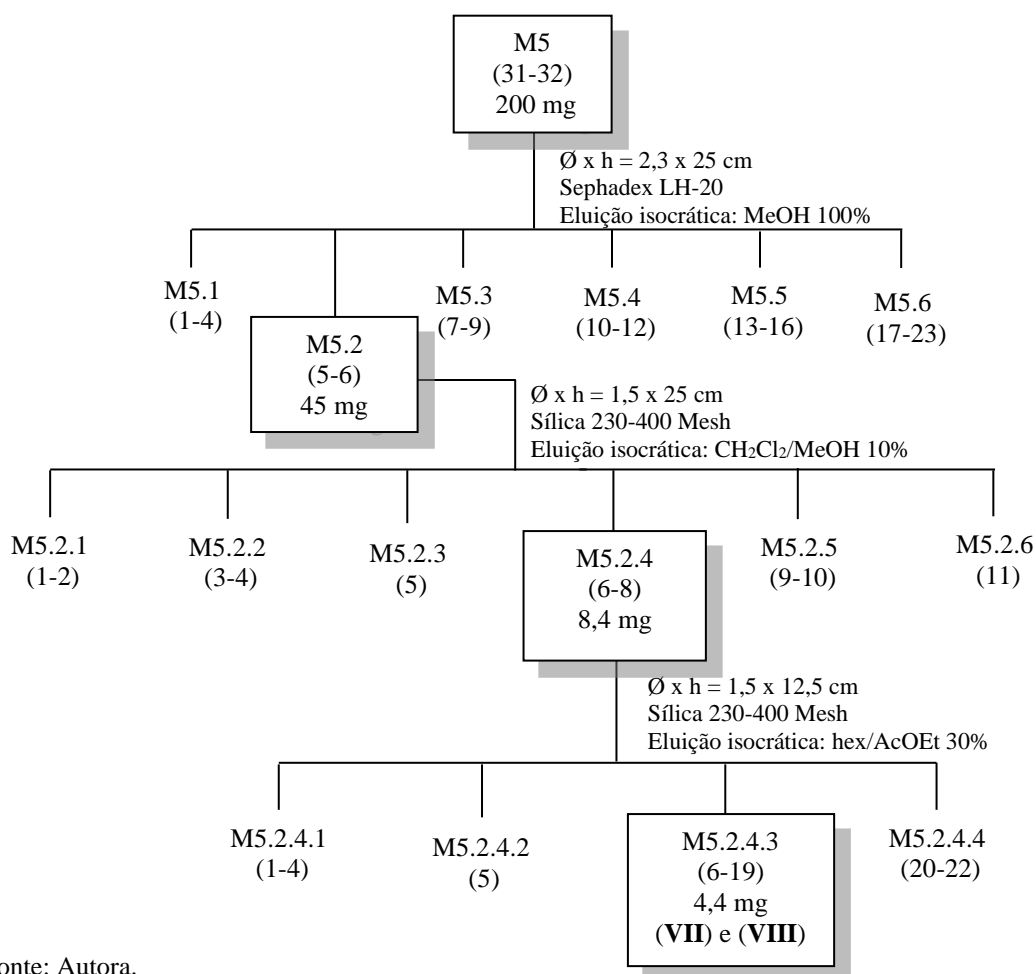


4.5.3.2 Isolamento das substâncias VII e VIII

A fração M5 (200 mg) foi submetida à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 ($\text{Ø} \times h = 2,3 \times 25 \text{ cm}$) eluída de modo isocrático com MeOH 100%. As 23 frações obtidas foram agrupadas em seis: M5.1 - M5.6. A fração M5.2 (45 mg) foi recromatografada em coluna ($\text{Ø} \times h = 1,5 \times 25 \text{ cm}$) de sílica (230-400 Mesh), eluída de modo isocrático com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1. As 11 frações resultantes foram agrupadas em seis: M5.2.1 - M5.2.6.

A fração M5.2.4 (8,4 mg) foi submetida à cromatografia em coluna ($\text{Ø} \times h = 1,5 \times 12,5 \text{ cm}$) eluída de modo isocrático com hex/AcOEt 7:3. Foram obtidas 22 frações, as quais foram agrupadas em quatro: M5.2.4.1 - M5.2.4.4. A fração M5.2.4.3 (4,4 mg) mostrou uma única mancha na CCDA, que apresentou coloração azul ao ser revelada com vanilina ácida e foi identificada através de experimentos de RMN em uma e duas dimensões como sendo uma mistura das substâncias VII e VIII. A Figura 15 apresenta um fluxograma do processo de isolamento destas substâncias.

Figura 15-Fluxograma do processo de isolamento das substâncias VII e VIII.



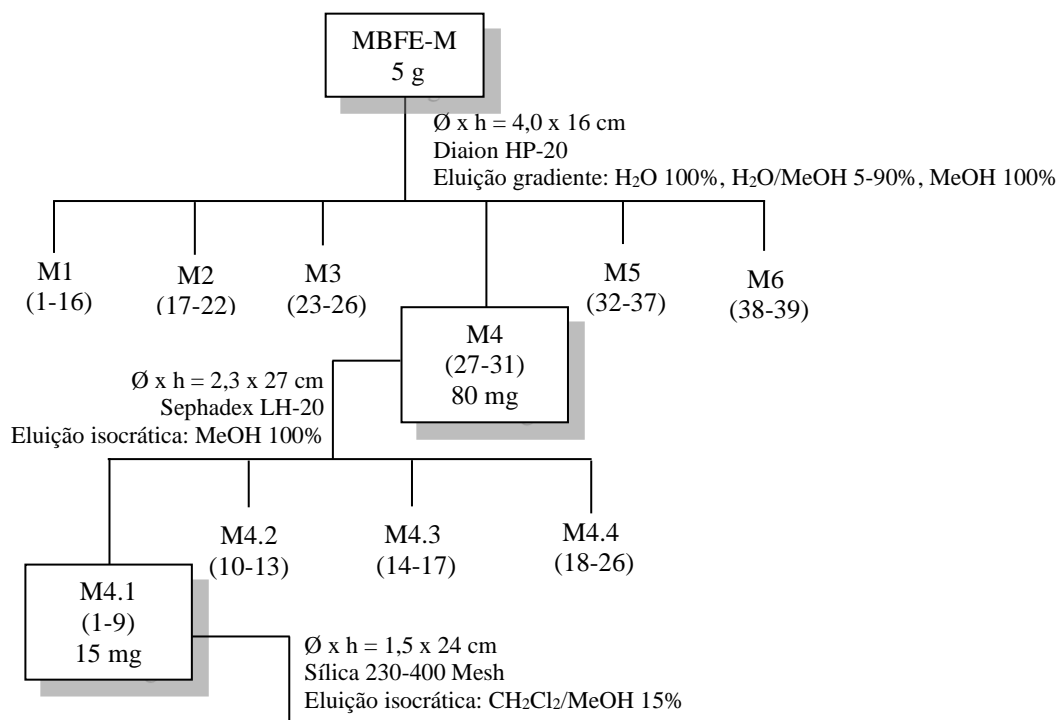
Fonte: Autora.

4.5.3.3 Isolamento das substâncias XI, XII, XIII e XIV

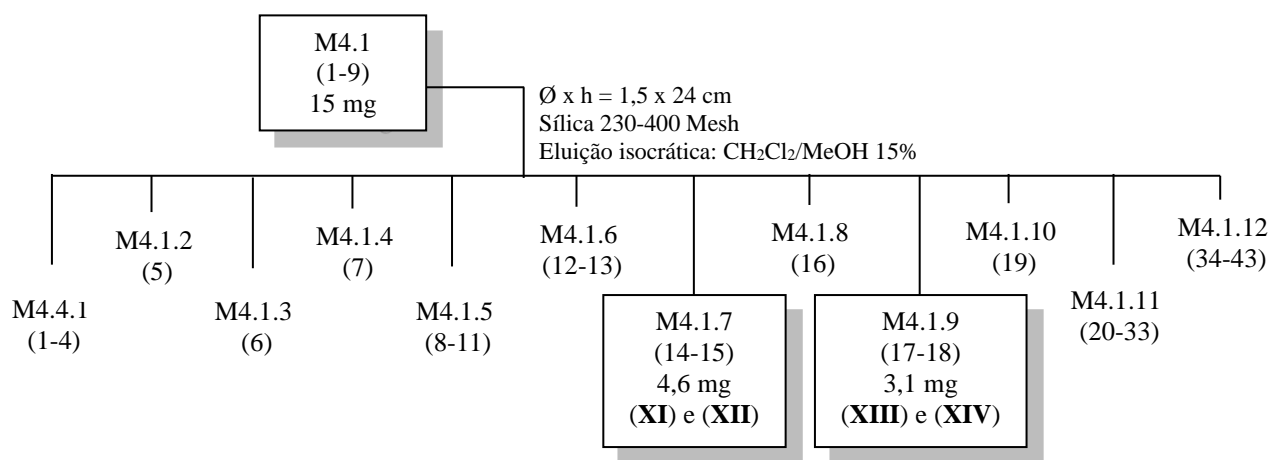
Devido ao alto grau de retenção de material na coluna feita em sílica gel, outra parte da fração metanólica das folhas (5 g) foi submetida à cromatografia em coluna (\emptyset x h = 4,0 x 16 cm) utilizando Diaion HP-20 como fase estacionária e eluição gradiente com H₂O/MeOH [H₂O → H₂O/MeOH (9,5:0,5/9:1/8:2/7:3/5:5/3:7/1:9) → MeOH]. Foram obtidas 39 frações, que foram reunidas de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA em seis: M1 - M6. A fração M4 (80 mg) foi submetida à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 (\emptyset x h = 2,3 x 27 cm) eluída de modo isocrático com MeOH 100%. As 26 frações obtidas foram agrupadas em quatro: M4.1 - M4.4.

A fração M4.1 (15 mg) foi recromatografada em coluna (\emptyset x h = 1,5 x 24 cm) de sílica (230-400 Mesh), eluída de modo isocrático com CH₂Cl₂/MeOH 8,5:1,5. As 43 frações resultantes foram agrupadas em 12: M4.1.1 - M4.1.12. As frações M4.1.7 (4,6 mg) e M4.1.9 (3,1 mg) mostraram uma única mancha na CCDA, de coloração azul ao ser revelada com vanilina ácida, e foram identificadas através de experimentos de RMN em uma e duas dimensões e espectrometria de massas de alta resolução como sendo uma mistura das substâncias XI e XII (M4.1.7) e XIII e XIV (M4.1.9). A Figura 16 apresenta um fluxograma do processo de isolamento destas substâncias.

Figura 16-Fluxograma do processo de isolamento das substâncias XI, XII, XIII e XIV.



(continua)

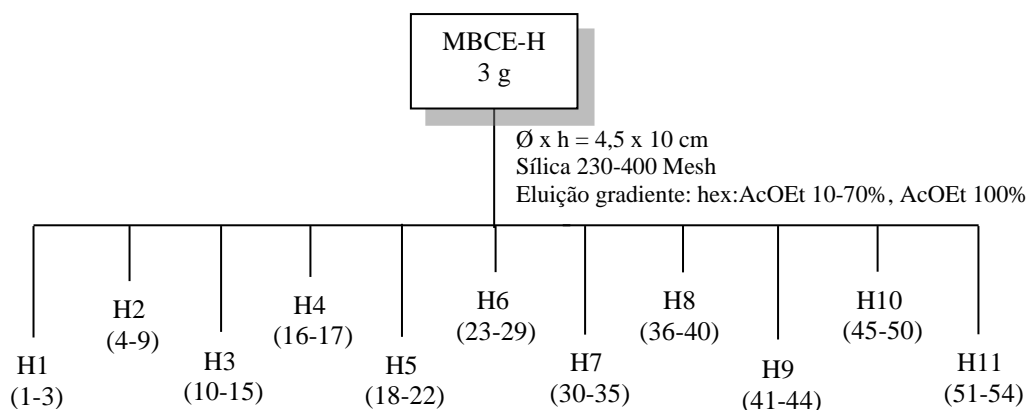
Cont. **Figura 16**

Fonte: Autora.

4.5.4 ESTUDO FITOQUÍMICO DE MBCE-H

Parte da fração hexânica das cascas do caule (3 g) foi submetida à cromatografia por adsorção em coluna ($\varnothing \times h = 4,5 \times 10 \text{ cm}$) utilizando sílica gel (70-230 Mesh) e eluição gradiente com hex/AcOEt [hex/AcOEt (9:1/8:2/7:3/6:4/5:5/4:6/3:7) \rightarrow AcOEt]. Foram obtidas 54 frações, que foram reunidas de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA em 11: H1 - H11 (Figura 17).

Figura 17-Esquema de refração da fração hexânica das cascas do caule de *M. burchellii*.

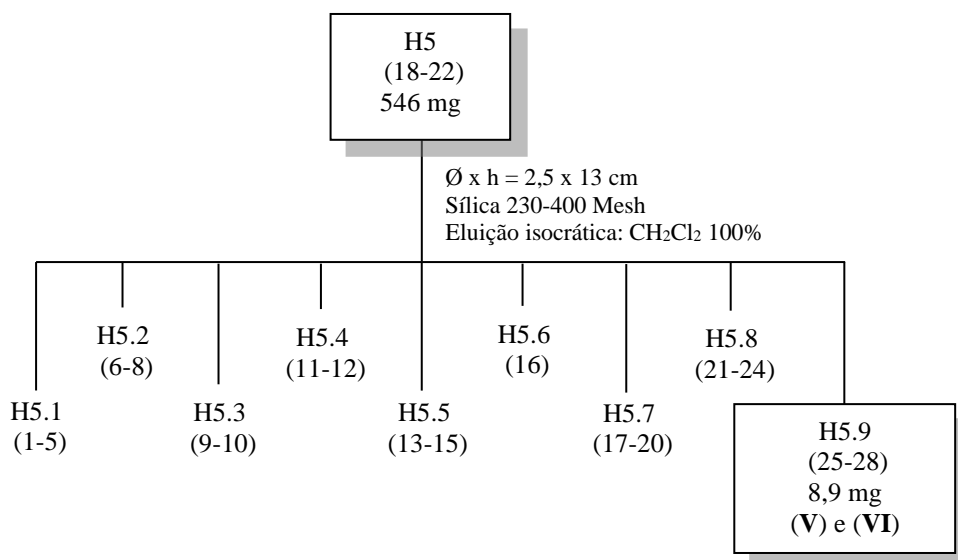


Fonte: Autora.

4.5.4.1 Isolamento das substâncias V e VI

A fração H5 (546 mg) foi recromatografada em coluna (\emptyset x h = 2,5 x 13 cm) utilizando sílica gel (230-400 Mesh) como fase estacionária e eluição isocrática com CH_2Cl_2 100%. As 28 frações resultantes foram agrupadas em nove: H5.1 - H5.9. A fração H5.9 (8,9 mg) mostrou uma única mancha na CCDA, que apresentou coloração roxa ao ser revelada com vanilina ácida e foi identificada por RMN de ^1H e ^{13}C como sendo uma mistura das substâncias V e VI. A Figura 18 apresenta um fluxograma do processo de isolamento destas substâncias.

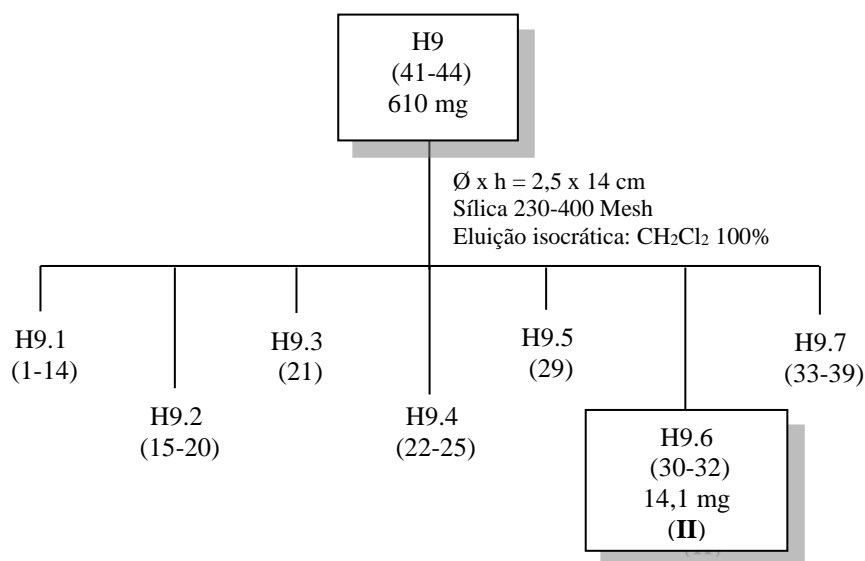
Figura 18-Fluxograma do processo de isolamento das substâncias V e VI.



Fonte: Autora.

4.5.4.2 Isolamento da substância II

A fração H9 (610 mg) foi recromatografada em coluna (\emptyset x h = 2,5 x 14 cm) utilizando sílica gel (230-400 Mesh) como fase estacionária e eluição isocrática com CH_2Cl_2 100%. Foram obtidas 39 frações, as quais foram agrupadas em sete: H9.1 - H9.7. A fração H9.6 (14,1 mg) mostrou uma única mancha na CCDA, que apresentou coloração roxa ao ser revelada com vanilina ácida e foi identificada por RMN de ^1H e ^{13}C como sendo a substância II. A Figura 19 apresenta um fluxograma do processo de isolamento desta substância.

Figura 19-Fluxograma do processo de isolamento da substância **II**.

Fonte: Autora.

4.5.5 ESTUDO FITOQUÍMICO DE MBCE-A

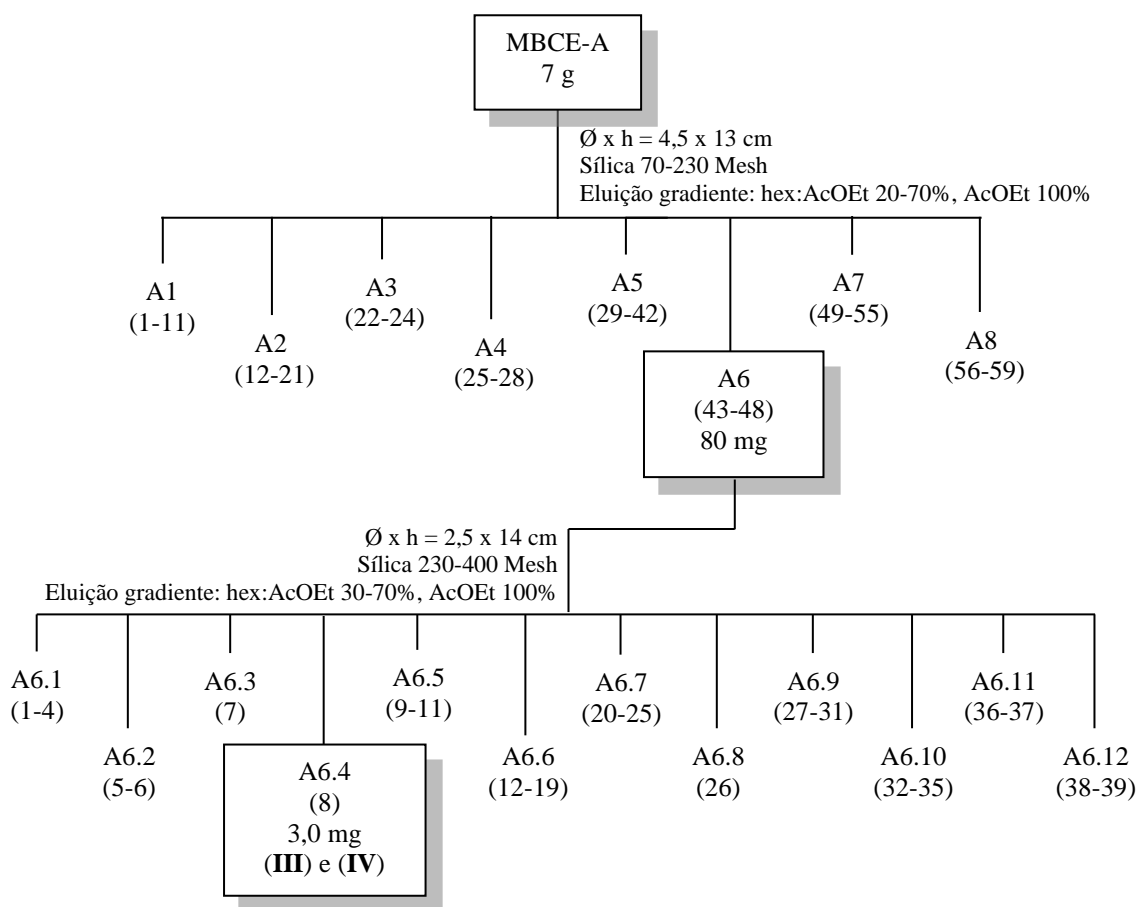
4.5.5.1 Isolamento das substâncias **III** e **IV**

Parte da fração em acetato de etila das cascas do caule (7 g) foi submetida à cromatografia por adsorção em coluna ($\text{Ø} \times h = 4,5 \times 13 \text{ cm}$) utilizando sílica gel (70-230 Mesh) e eluição gradiente com hex/AcOEt [hex/AcOEt (8:2/7:3/6:4/5:5/3:7) \rightarrow AcOEt]. Foram obtidas 59 frações, as quais, de acordo com as semelhanças apresentadas na análise por CCDA, foram reunidas em oito: A1 - A8.

A fração A6 (80 mg) foi recromatografada em coluna ($\text{Ø} \times h = 2,5 \times 14 \text{ cm}$) utilizando sílica gel (230-400 Mesh) como fase estacionária e eluição gradiente com hex/AcOEt [hex/AcOEt (7:3/6:4/5:5/3:7) \rightarrow AcOEt]. As 39 frações resultantes foram agrupadas em 12: A6.1 - A6.12.

A fração A6.4 (3 mg) mostrou uma única mancha na CCDA, que apresentou coloração roxa ao ser revelada com vanilina ácida e foi identificada por RMN de ^1H e ^{13}C como sendo uma mistura das substâncias **III** e **IV**. A Figura 20 apresenta um fluxograma do processo de isolamento destas substâncias.

Figura 20-Fluxograma do processo de isolamento das substâncias **III** e **IV**.



Fonte: Autora.

4.6 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os extratos brutos e as frações das folhas e das cascas do caule de *M. burchellii* foram testadas quanto ao potencial antibacteriano e citotóxico, conforme descrito nas seções seguintes. Adicionalmente, algumas das substâncias isoladas tiveram a citotoxicidade avaliada.

4.6.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A determinação da atividade antibacteriana dos extratos brutos e das frações foi realizada pelo teste de microdiluição em caldo, conforme o protocolo recomendado pela *Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)*⁵⁸ para testes de susceptibilidade antimicrobiana por diluição de agentes antimicrobianos em caldo. Foram utilizadas cepas

padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) mantidas no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Goiás (UEG), conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1- Microrganismos utilizados na determinação da concentração mínima inibitória (CMI).

	Microrganismos	ATCC
Bactérias Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	25923
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228
Bactérias Gram (-)	<i>Escherichia coli</i>	25312
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853

As amostras foram solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO) a 5% e diluídas em caldo Mueller Hinton (MH) para obtenção das concentrações 2000, 1000, 500, 250 e 125 µg/mL. Em microplacas estéreis de 96 poços com fundo em “U” foram colocados 50 µL/poço de caldo MH com inóculo bacteriano a 1×10^6 UFC/mL e 50 µL/poço da amostra diluída em MH, de modo que as concentrações finais das amostras foram 1000, 500, 250, 125 e 62,5 µg/mL.

Os antibióticos cloranfenicol (Fisher Bioreagents) nas concentrações 64, 32, 16, 8, 4 e 2 µg/mL e gentamicina (Sigma-Aldrich) nas concentrações 8, 4, 2, 1, e 0,5 µg/mL foram utilizados como controle de técnica para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, respectivamente⁵⁸. Para controle de viabilidade foram utilizados caldo MH estéril (100 µL/poço) e caldo MH estéril com 5% de DMSO (100 µL/poço), além das amostras nas concentrações testadas.

As microplacas foram tampadas e incubadas a 35 °C por 24 horas. Após o período de incubação, foram adicionados 10 µL de resazurina sódica a 0,01% em cada poço, e após 30 minutos de incubação a 35 °C foi realizada a leitura visual dos resultados. O predomínio da cor azul foi considerado indicativo de inibição do crescimento bacteriano e o predomínio do vermelho rosáceo indicou a atividade metabólica devido ao crescimento bacteriano. A concentração mínima inibitória (CMI) foi definida como a menor concentração do composto, em µg/mL, capaz de inibir totalmente o crescimento bacteriano visível a olho nu.

A determinação da concentração mínima bactericida (CMB) consistiu em avaliar a concentração subsequente àquela onde se observou CMI, através de semeadura em placa com ágar MH e incubação da placa a 35 °C por 24 horas. Após incubação, foi verificado se houve

ou não crescimento de colônias. Os experimentos foram realizados em triplicata e repetidos três vezes, independentemente.

4.6.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

Os extratos, as frações e algumas substâncias isoladas foram submetidos à avaliação da citotoxicidade *in vitro* em quatro linhagens de células tumorais e uma não tumoral, conforme descrito na Tabela 2, no Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará.

Tabela 2-Linhagens celulares utilizadas no ensaio de citotoxicidade.

	Linhagem celular	Descrição
Tumoral	SNB-19	Astrocitoma
	HCT-116	Carcinoma de cólon
	PC-3	Carcinoma de próstata
	HL-60	Leucemia promielocítica
Não tumoral	L-929	Fibroblasto murinho

As linhagens tumorais foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), e a não tumoral pelo Banco de células do Rio de Janeiro. Todas as células tumorais foram cultivadas em meio RPMI 1640 e a não tumoral em *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos (penicilina 100 U/mL e estreptomicina 100 µg/mL), mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

A análise de citotoxicidade foi realizada pelo método MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio), conforme descrito por Mosman⁵⁹. As células foram plaqueadas nas concentrações de 0,7 x 10⁵ céls/mL (HCT-116 e L-929); 0,1 x 10⁶ céls/mL (SNB-19 e PC-3) e 0,3 x 10⁶ céls/mL (HL-60). As amostras foram solubilizadas em DMSO 0,05%, e testadas na concentração única de 100 µg/mL (extratos/frações) e 10 µg/mL (substâncias puras). As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ e 37 °C. Ao término deste tempo, as placas foram centrifugadas e o sobrenadante foi removido. Em seguida, foram adicionados 100 µL da solução de MTT e as placas foram incubadas por 3 horas. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 100 µL de DMSO puro em

espectrofotômetro de placa a 595 nm. A doxorrubicina foi utilizada como controle positivo em concentração inicial de 5 µg/mL.

Cada amostra foi testada em triplicata em três experimentos independentes. Os experimentos foram analisados segundo a média \pm desvio padrão da média da porcentagem de inibição do crescimento celular, usando o programa *GraphPad Prism 6.01*. As amostras foram classificadas como citotóxicas quando o percentual de inibição de crescimento das células (IC%) foi maior que 75% em pelo menos duas linhagens avaliadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DO EXTRATO E DAS FRAÇÕES

A parte vegetal utilizada no preparo do extrato bruto de *M. burchellii*, assim como a quantidade de solvente utilizada na extração e a massa de extrato obtida está descrita na Tabela 3.

Tabela 3- Massa de material vegetal, volume de solvente e quantidade de extrato obtido.

Material vegetal seco (g)	Solvente (L)	Massa de extrato obtida (g)	Rendimento (%)	Código
Folhas (2250)	Etanol (16)	189,6	8,4	MBFE
Casca do caule (2735)	Etanol (12)	103,9	3,8	MBCE

MBFE = *M. burchellii* - folhas - etanol. MBCE = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol.

Após o fracionamento de parte dos extratos de *M. burchellii*, conforme apresentado na Tabela 4, foram obtidas três frações das folhas: hexânica (MBFE-H), em acetato de etila (MBFE-A) e metanólica (MBFE-M), e três frações das cascas do caule: hexânica (MBCE-H), em acetato de etila (MBCE-A) e metanólica (MBCE-M).

Tabela 4- Massas obtidas e volume de solvente gasto no fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas e das cascas do caule de *M. burchellii*.

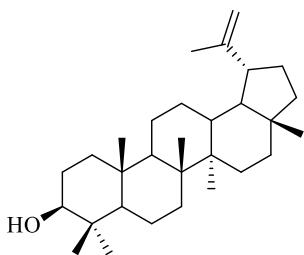
Extrato (g)	Solvente (L)	Massa obtida (g)	Rendimento (%)	Código
Folhas (145)	Hexano (20)	7,1	4,9	MBFE-H
	Acetato de etila (20)	22,8	15,7	MBFE-A
	Metanol (2)	99,6	68,7	MBFE-M
Cascas do caule (92)	Hexano (6)	3,6	3,9	MBCE-H
	Acetato de etila (4)	9,0	9,8	MBCE-A
	Metanol (2)	25,3	27,5	MBCE-M

MBFE-H = *M. burchellii* - folhas - etanol - fração hexânica. MBFE-A = *M. burchellii* - folhas - etanol - fração em acetato de etila. MBFE-M = *M. burchellii* - folhas - etanol - fração metanólica. MBCE-H = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol - fração hexânica. MBCE-A = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol - fração em acetato de etila. MBCE-M = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol - fração metanólica.

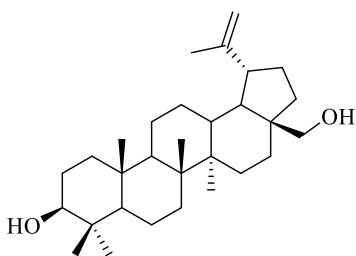
5.2 SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS

O estudo fitoquímico de *Miconia burchellii* levou à identificação de 20 substâncias (Figura 21), pertencentes às classes dos triterpenos, das saponinas, dos flavonoides, dos feoforbídeos e dos esteroides.

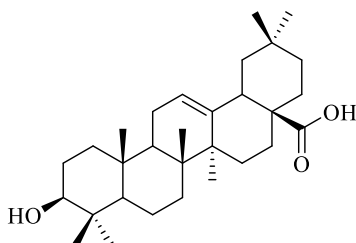
Figura 21-Estruturas das substâncias identificadas e dados de isolamento e identificação.



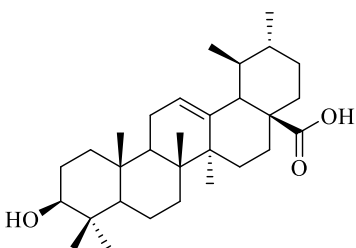
Lupeol (I)
m: 5,4 mg
Procedência: fração hexânica das folhas
Isolamento: página 51
Identificação: página 73



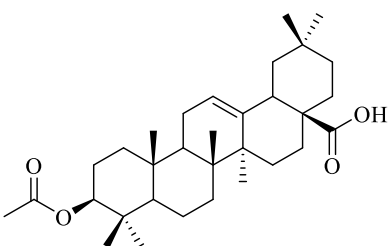
Betulina (II)
m: 14,1 mg
Procedência: fração hexânica das cascas do caule
Isolamento: página 63
Identificação: página 78



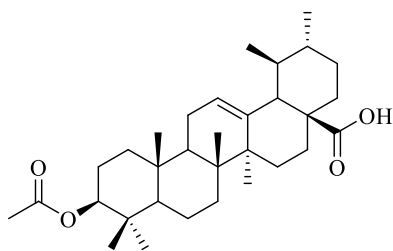
Ácido oleanólico (III) (mistura com IV)
m: 106,1 mg
Procedência: fração em acetato de etila das folhas e das cascas do caule
Isolamento: páginas 55 e 64
Identificação: página 82



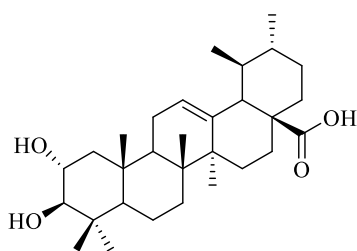
Ácido ursólico (IV) (mistura com III)
m: 106,1 mg
Procedência: fração em acetato de etila das folhas e das cascas do caule
Isolamento: páginas 55 e 64
Identificação: página 82



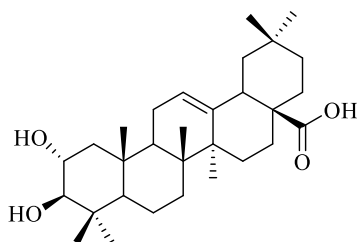
Ácido 3-O-β-acetil oleanólico (V) (mistura com VI)
m: 8,9 mg
Procedência: fração hexânica das cascas do caule
Isolamento: página 63
Identificação: página 87



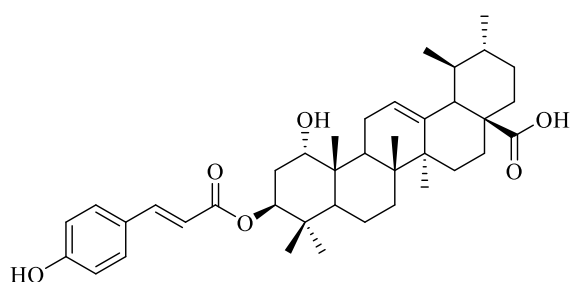
Ácido 3-*O*-β-acetil ursólico (**VI**) (mistura com **V**)
 m: 8,9 mg
 Procedência: fração hexânica das cascas do caule
 Isolamento: página 63
 Identificação: página 87



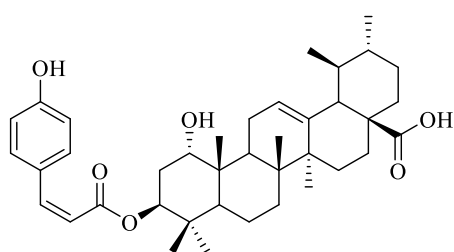
Ácido corosólico (**VII**) (mistura com **VIII**)
 m: 4,4 mg
 Procedência: fração metanólica das folhas
 Isolamento: página 60
 Identificação: página 92



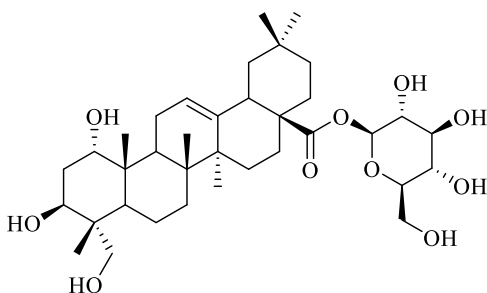
Ácido maslínico (**VIII**) (mistura com **VII**)
 m: 4,4 mg
 Procedência: fração metanólica das folhas
 Isolamento: página 60
 Identificação: página 92



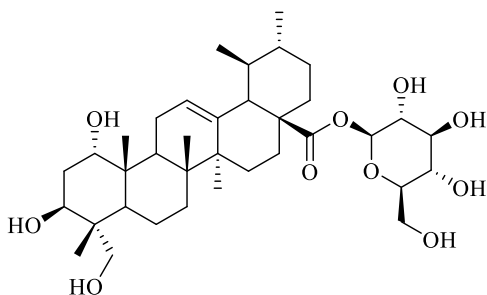
Ácido 3-*O*-β-*trans*-*p*-curamoil-1α-hidroxi-urs-12-en-28-oico (**IX**) (mistura com **X**) (INÉDITA)
 m: 2,0 mg
 Procedência: fração em acetato de etila das folhas
 Isolamento: página 57
 Identificação: página 99



Ácido 3-*O*-β-*cis*-*p*-curamoil-1α-hidroxi-urs-12-en-28-oico (**X**) (mistura com **IX**) (INÉDITA)
 m: 2,0 mg
 Procedência: fração em acetato de etila das folhas
 Isolamento: página 57
 Identificação: página 99



Éster 28-*O*-β-glicopiranosídeo do ácido 1α,3β,23-tri-hidroxi-olean-12-en-28-oico (**XI**) (mistura com **XII**) (INÉDITA)
 m: 4,6 mg
 Procedência: fração metanólica das folhas
 Isolamento: página 61
 Identificação: página 112



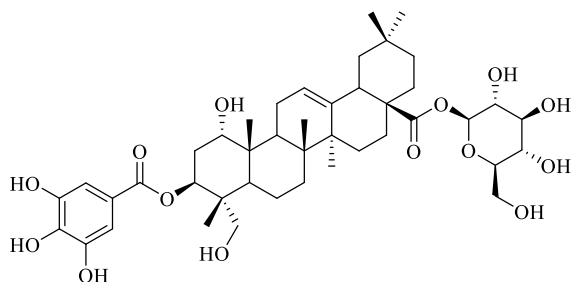
Éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-urs-12-en-28-oico (**XII**) (mistura com **XI**) (INÉDITA)

m: 4,6 mg

Procedência: fração metanólica das folhas

Isolamento: página 61

Identificação: página 112



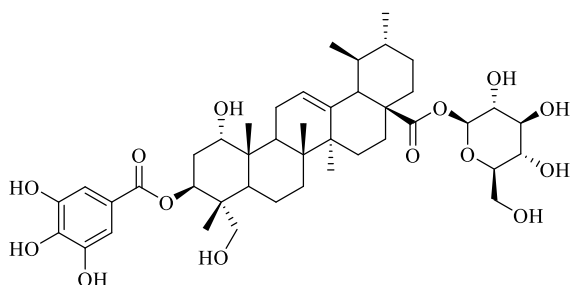
Éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-olean-12-en-28-oico (**XIII**) (mistura com **XIV**) (INÉDITA)

m: 3,1 mg

Procedência: fração metanólica das folhas

Isolamento: página 61

Identificação: página 135



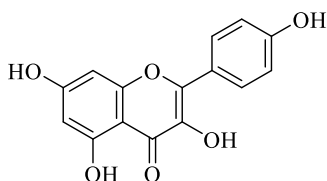
Éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-urs-12-en-28-oico (**XIV**) (mistura com **XIII**) (INÉDITA)

m: 3,1 mg

Procedência: fração metanólica das folhas

Isolamento: página 61

Identificação: página 135



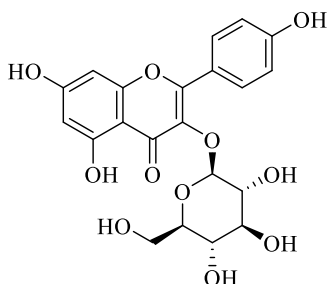
Kaempferol (**XV**)

m: 2,2 mg

Procedência: fração em acetato de etila das folhas

Isolamento: página 57

Identificação: página 153



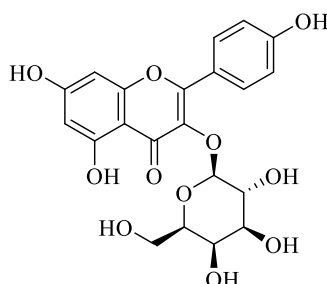
Kaempferol-3-*O*- β -glicopiranosídeo (**XVI**) (mistura com **XVII**)

m: 3,6 mg

Procedência: fração metanólica das folhas

Isolamento: página 59

Identificação: página 158



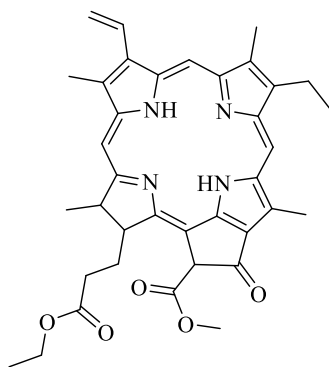
Kaempferol-3-*O*- β -galactopiranosídeo (**XVII**) (mistura com **XVI**)

m: 3,6 mg

Procedência: fração metanólica das folhas

Isolamento: página 59

Identificação: página 158

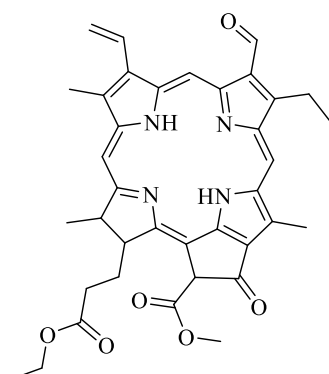
Etil feoforbídeo A (**XVIII**)

m: 16 mg

Procedência: fração em acetato de etila das folhas

Isolamento: página 54

Identificação: página 169

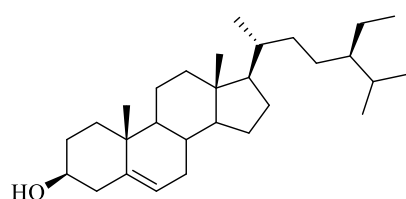
Etil feoforbídeo B (**XIX**)

m: 1,5 mg

Procedência: fração em acetato de etila das folhas

Isolamento: página 57

Identificação: página 185

 β -sitosterol (**XX**)

m: 18,2 mg

Procedência: fração hexânica das folhas

Isolamento: página 52

Identificação: página 194

Fonte: autora.

A determinação estrutural destas substâncias é apresentada a seguir, dividida por classes.

5.2.1 IDENTIFICAÇÃO DOS TRITERPENOS

5.2.1.1 Identificação da substância I

A substância **I** foi isolada da fração hexânica das folhas, apresentando-se como um sólido amorfo branco. Esta substância foi identificada através da análise de experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C , além de comparação com dados da literatura^{60,61}.

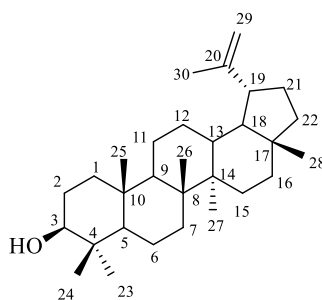
No espectro de RMN de ^1H (Figura 23) foi observado um duplete em δ_{H} 4,68 (1H, *d*, $^2J = 1,9$ Hz) e um multiplete em δ_{H} 4,57 (1H, *m*), referentes aos hidrogênios olefínicos H-29 que são característicos de triterpenos com esqueleto lupano. O sinal centrado em δ_{H} 3,18 (1H,

dd, $^3J = 11,3$ e $4,9$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico. A constante de acoplamento de $11,3$ Hz indicou que H-3 está na posição axial e acopla com o hidrogênio H-2 β com J diaxial⁶².

Foram observados ainda seis simpletos referentes à hidrogênios metílicos em δ_H 1,03 (3H, *s*), δ_H 0,97 (3H, *s*), δ_H 0,94 (3H, *s*), δ_H 0,83 (3H, *s*), δ_H 0,79 (3H, *s*), δ_H 0,76 (3H, *s*), atribuídos aos hidrogênios H-26, H-23, H-27, H-25, H-28 e H-24 respectivamente; além de um simpleto em δ_H 1,68 (3H, *s*) característico de hidrogênios de metila ligada a um carbono insaturado.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 24) mostrou sinais em δ_C 150,9 e δ_C 109,3 atribuídos respectivamente aos carbonos olefínicos C-20 e C-29. O sinal em δ_C 79,0 foi atribuído ao carbono carbinólico C-3. A comparação dos dados de RMN de 1H e ^{13}C com os valores descritos por Macías, Simonet e Esteban⁶⁰ e Mahato e Kundu⁶¹ (Tabela 5) tornou possível identificar a substância **I** como sendo o lupeol (Figura 22), um triterpeno cuja presença já foi observada nos extratos hexânicos de *M. rubiginosa*, *M. fallax*, *M. sellowiana*, *M. albicans* e *M. pepericarpa*, conforme descrito por Crevelin e colaboradores⁵³.

Figura 22-Estrutura da substância **I**, identificada como lupeol.



Fonte: Autora.

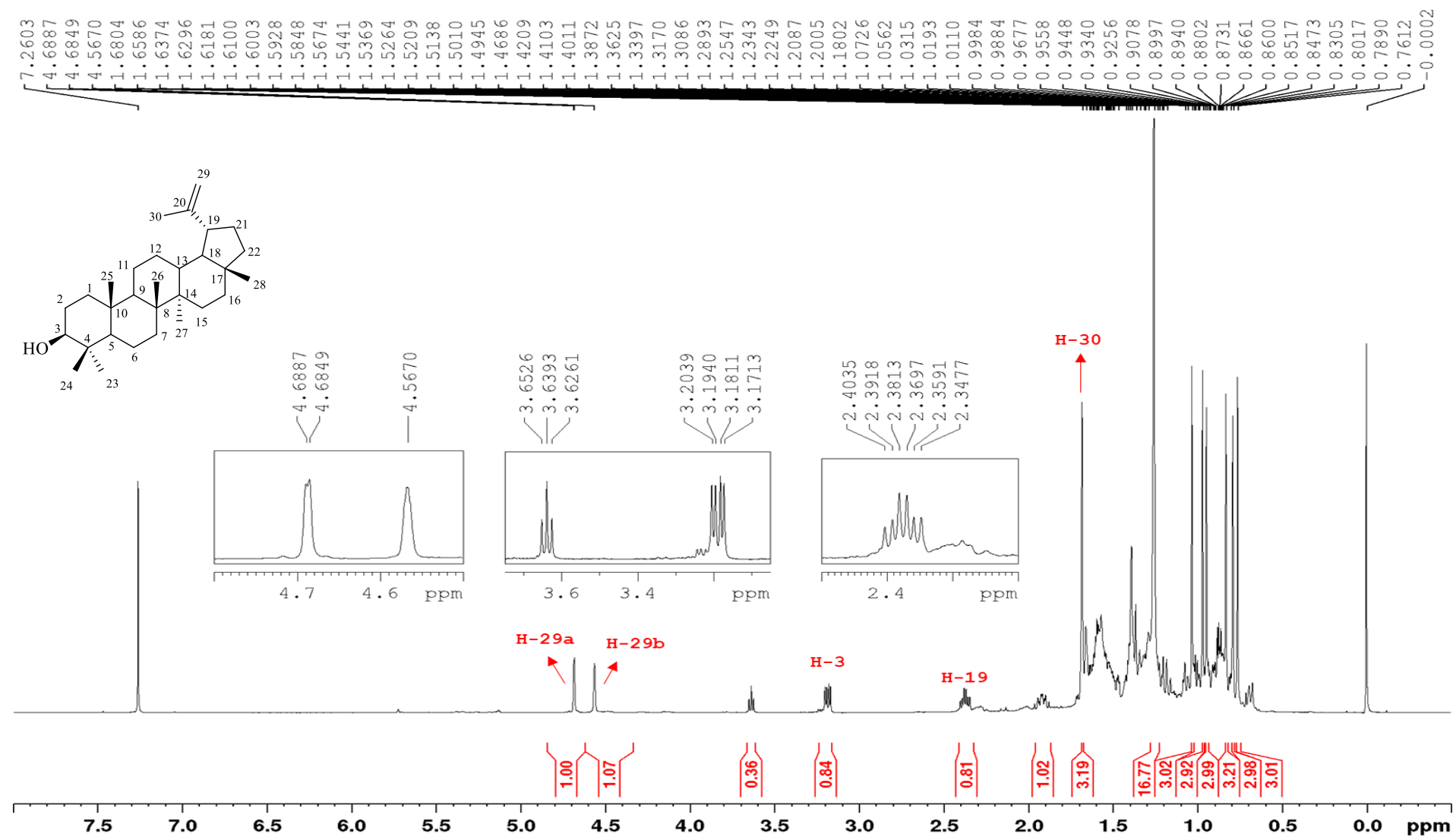
Tabela 5-Dados de RMN de 1H ($CDCl_3$, 500 MHz) e ^{13}C ($CDCl_3$, 125 MHz) da substância **I** em comparação com os dados de RMN de 1H ($CDCl_3$, 400 MHz) e ^{13}C ($CDCl_3$, 75 MHz) do lupeol. (continua)

H/C	δ_H (ppm), J (Hz)		δ_C (ppm)	
	Substância I	Macías, Simonet e Esteban ⁶⁰	Substância I	Mahato e Kundu ⁶¹
1			38,7	38,7
2			27,4	27,4
3	3,18 (<i>dd</i> , $^3J = 11,3$ e $4,9$)	3,18 (<i>dd</i> , $^3J = 11,1$ e $5,0$)	79,0	78,9

Cont. Tabela 5

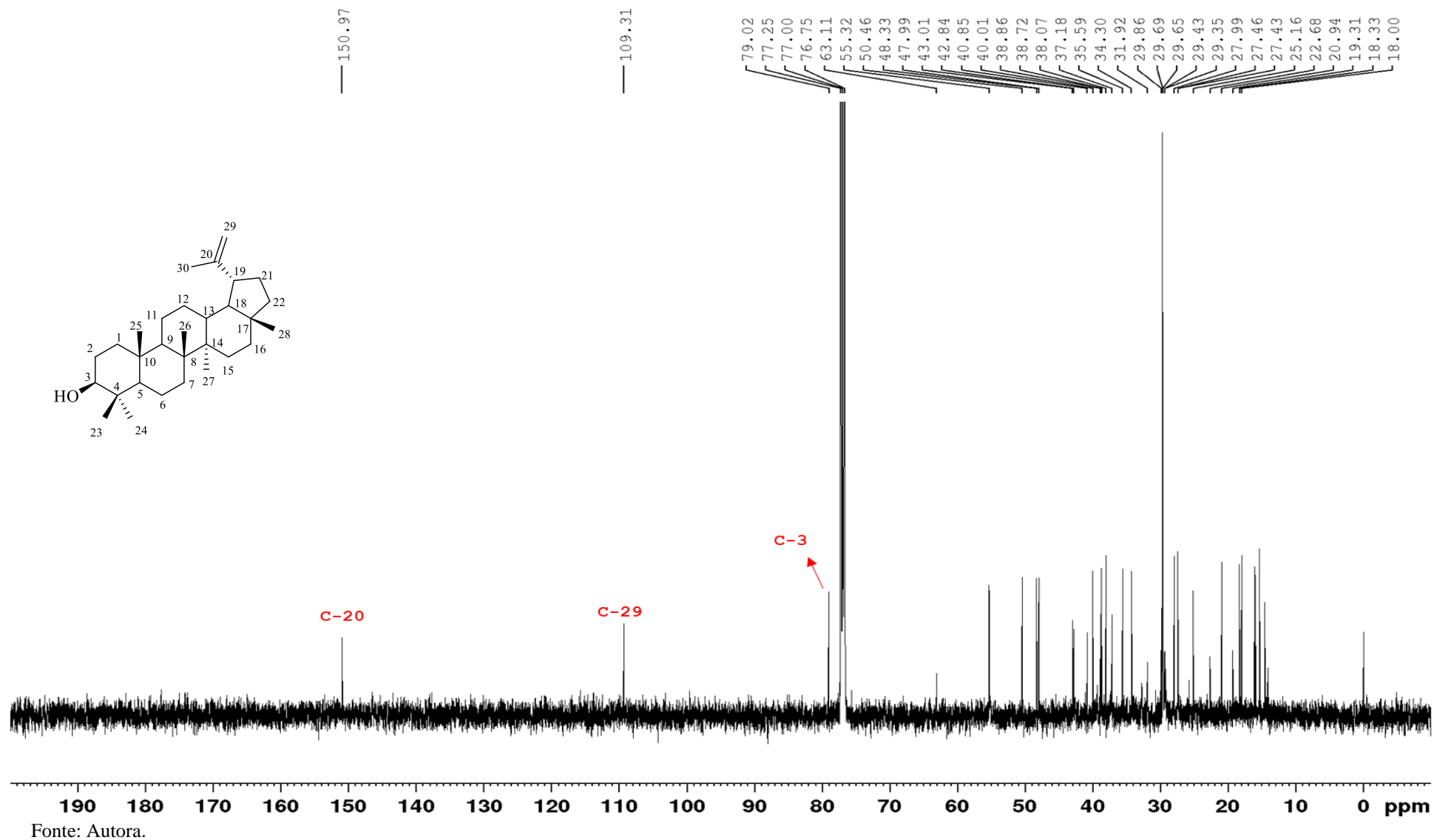
H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância I	Macías, Simonet e Esteban ⁶⁰	Substância I	Mahato e Kundo ⁶¹
4			38,9	38,8
5			55,3	55,3
6			18,3	18,3
7			34,3	34,2
8			40,8	40,8
9			50,5	50,4
10			37,2	37,1
11			20,9	20,9
12			25,2	25,1
13			38,1	38,0
14			42,8	42,8
15			27,4	27,4
16			35,6	35,5
17			43,0	43,0
18			48,3	48,2
19	2,37 (<i>m</i>)	2,37(<i>ddd</i> , $^3J = 19,0$; 11,1 e 5,4)	47,9	47,9
20			150,9	150,9
21			29,7	29,8
22			40,0	40,0
23	0,97 (<i>s</i>)	0,95 (<i>s</i>)	28,0	28,0
24	0,76 (<i>s</i>)	0,75 (<i>s</i>)	15,3	15,4
25	0,83 (<i>s</i>)	0,81 (<i>s</i>)	16,1	16,1
26	1,03 (<i>s</i>)	1,02 (<i>s</i>)	15,9	15,9
27	0,94 (<i>s</i>)	0,95 (<i>s</i>)	14,5	14,5
28	0,79 (<i>s</i>)	0,77 (<i>s</i>)	18,0	18,0
29	4,68 (<i>d</i> , $^2J = 1,5$); 4,57 (<i>m</i>)	4,67 (<i>d</i> , $^2J = 1,9$); 4,55 (<i>m</i>)	109,3	109,3
30	1,68 (<i>s</i>)	1,67 (<i>s</i>)	19,3	19,3

Figura 23-Espectro de RMN de ^1H da substância I (CDCl_3 , 500 MHz).



Fonte: Autora.

Figura 24-Espectro de RMN de ^{13}C da substância I (CDCl_3 , 125 MHz).



5.2.1.2 Identificação da substância II

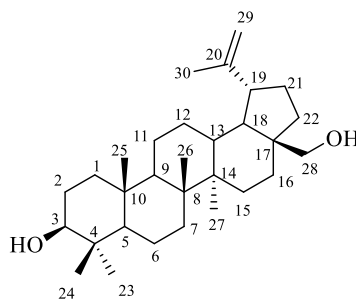
A substância **II** foi isolada da fração hexânica das cascas do caule, apresentando-se como um sólido amorfo branco. Esta substância foi identificada através da análise de experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C , além de comparação com dados da literatura^{61,63}.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 26) foi observado um duplete em δ_{H} 4,70 (1H, *d*, $^2J = 1,8$ Hz) e um multiplete em δ_{H} 4,60 (1H, *m*), referentes aos hidrogênios olefínicos H-29, característicos de triterpenos com esqueleto lupano. Os sinais observados em δ_{H} 3,81 (1H, *dd*, $^2J = 10,8$ e 1,2 Hz) e δ_{H} 3,35 (1H, *d*, $^2J = 10,8$ Hz) foram atribuídos aos átomos de hidrogênio metilênicos diastereotópicos ligados à hidroxila (H-28). O sinal centrado em δ_{H} 3,20 (1H, *dd*, $^3J = 11,4$ e 4,9 Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico. A constante de acoplamento de 11,4 Hz indicou que H-3 está na posição axial e acopla com o hidrogênio H-2 β com *J* diaxial⁶².

O sinal centrado em δ_{H} 2,40 (1H, *m*) foi atribuído ao hidrogênio H-19. Foram observados ainda cinco simpletos referentes à hidrogênios metílicos em δ_{H} 1,04 (3H, *s*), δ_{H} 1,00 (3H, *s*), δ_{H} 0,99 (3H, *s*), δ_{H} 0,85 (3H, *s*) e δ_{H} 0,78 (3H, *s*), atribuídos aos hidrogênios H-26, H-23, H-27, H-25 e H-24 respectivamente; além de um simpleto em δ_{H} 1,70 (3H, *s*) característico de hidrogênios de metila ligada a um carbono insaturado.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 27) mostrou sinais em δ_{C} 150,5 e δ_{C} 109,7 atribuídos respectivamente aos carbonos olefínicos C-20 e C-29. Os sinais em δ_{C} 79,0 e δ_{C} 60,6 foram atribuídos aos carbonos carbinólicos C-3 e C-28, respectivamente. A comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C com os valores descritos por Raza et al.⁶³ e Mahato e Kundu⁶¹ (Tabela 6) tornou possível identificar a substância **II** como sendo a betulina (Figura 25), um triterpeno cuja presença está sendo relatada pela primeira vez no gênero *Miconia*.

Figura 25-Estrutura da substância **II**, identificada como betulina.

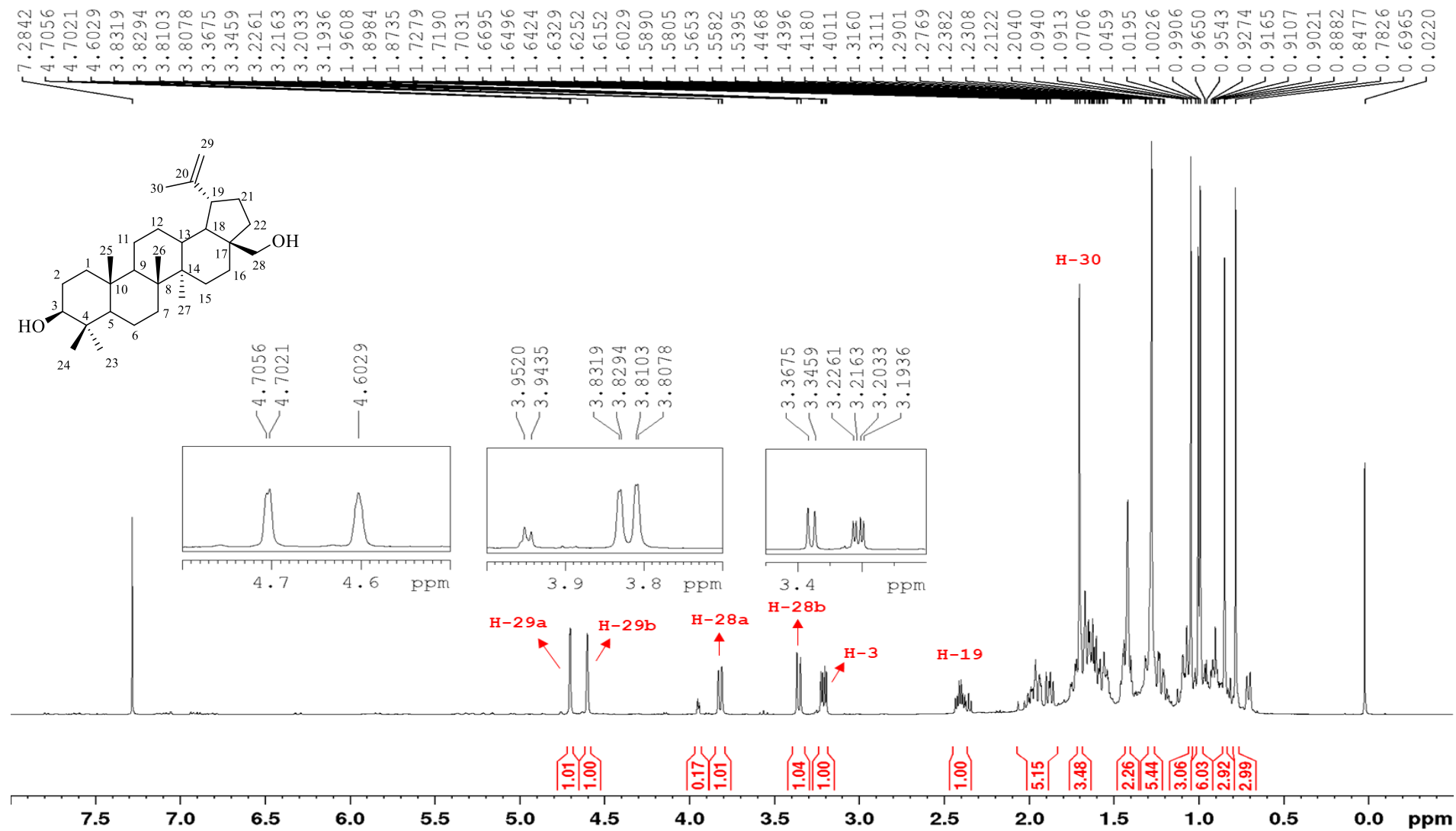


Fonte: autora.

Tabela 6-Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância **II** em comparação com os dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) da betulina.

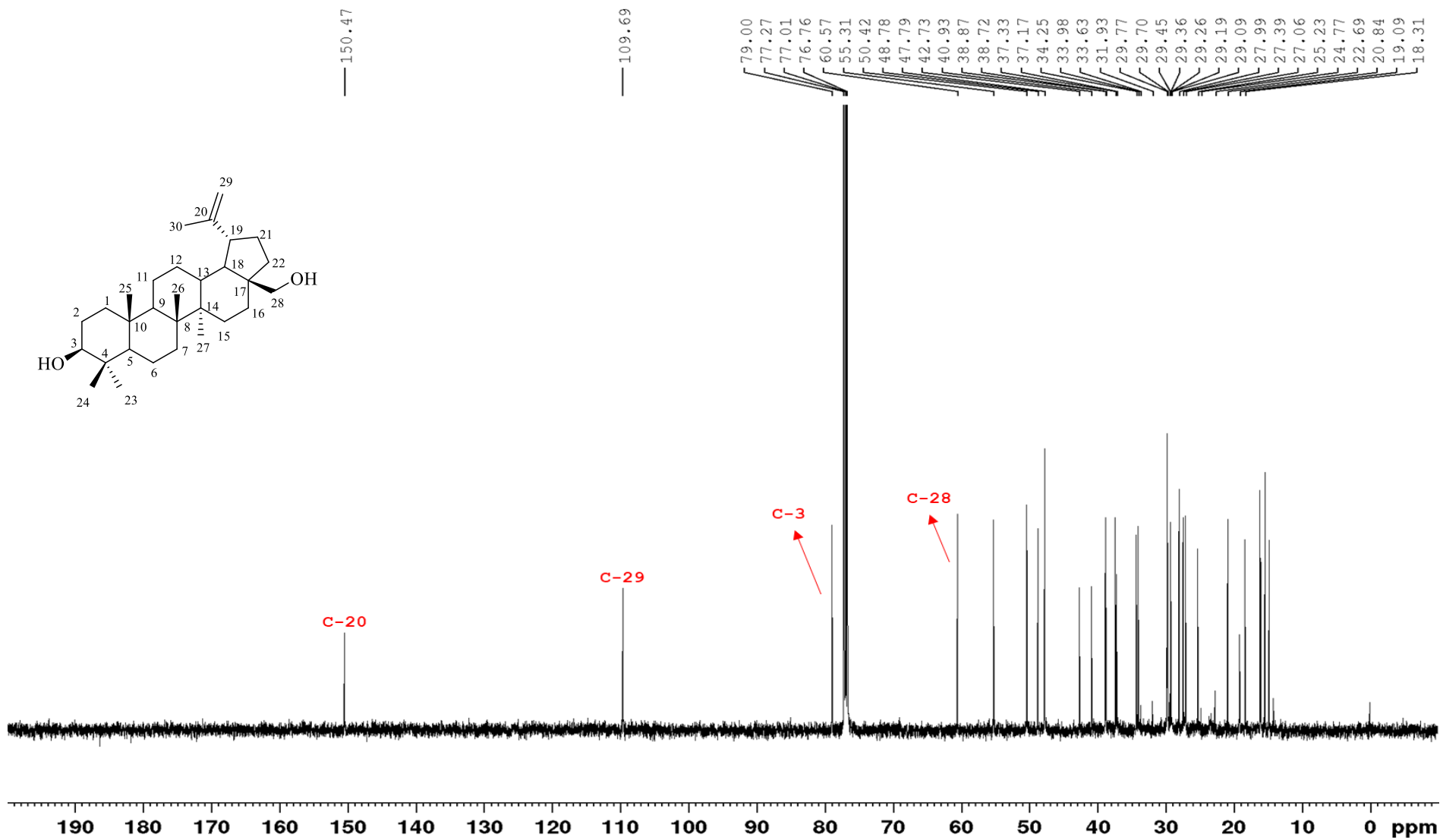
H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância II	Raza et al. ⁶³	Substância II	Mahato e Kundo ⁶¹
1			38,7	38,8
2			27,4	27,2
3	3,20 (<i>dd</i> , $^3J = 11,4$ e $4,9$)	3,10 (<i>dd</i> , $^3J = 11,4$ e $4,8$)	79,0	78,9
4			38,9	38,9
5			55,3	55,3
6			18,3	18,3
7			34,2	34,3
8			40,9	40,9
9			50,4	50,4
10			37,2	37,2
11			20,8	20,9
12			25,2	25,3
13			37,3	37,3
14			42,7	42,7
15			27,1	27,0
16			29,2	29,2
17			47,8	47,8
18			48,8	48,8
19	2,40 (<i>m</i>)	2,94 (<i>m</i>)	47,8	47,8
20			150,5	150,6
21			29,8	29,8
22			34,0	34,0
23	1,00 (<i>s</i>)		27,9	28,0
24	0,78 (<i>s</i>)		15,3	15,4
25	0,85 (<i>s</i>)	0,80 (<i>s</i>)	16,1	16,1
26	1,04 (<i>s</i>)		16,0	16,0
27	0,99 (<i>s</i>)		14,8	14,8
28	3,81 (<i>dd</i> , $^2J = 10,8$ e $1,2$); 3,35 (<i>d</i> , $^2J = 10,8$)	3,72 (<i>d</i> , $^2J = 10,8$); 3,33 (<i>d</i> , $^2J = 10,8$)	60,6	60,2
29	4,70 (<i>d</i> , $^2J = 1,8$); 4,60 (<i>m</i>)	4,67 (<i>s</i>); 4,56 (<i>s</i>)	109,6	109,6
30	1,70 (<i>s</i>)		19,1	19,1

Figura 26-Espectro de RMN de ^1H da substância II (CDCl_3 , 500 MHz).



Fonte: Autora.

Figura 27-Espectro de RMN de ^{13}C da substância II (CDCl_3 , 125 MHz).



Fonte: Autora.

5.2.1.3 Identificação das substâncias III e IV

A substância **III** (majoritária) foi identificada em mistura com a substância **IV** (minoritária). Elas foram obtidas da fração em acetato de etila, tanto das folhas quanto das cascas do caule, apresentando-se como um sólido amorfo branco. Estas substâncias foram identificadas através da análise de experimentos de RMN de ^1H e de ^{13}C e por comparação com dados da literatura^{61,64}.

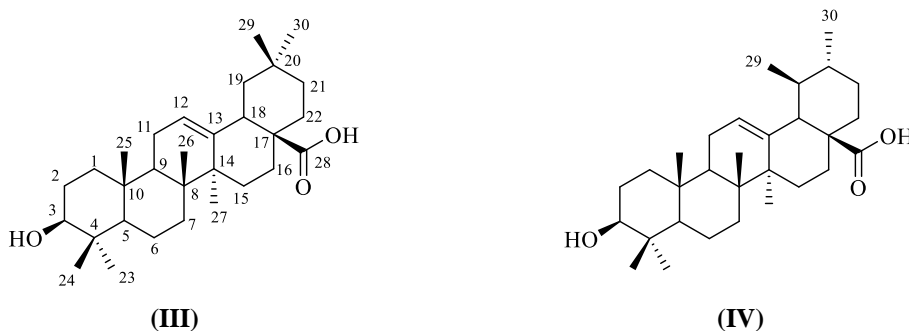
O espectro de RMN de ^1H (Figura 29) mostrou sinais centrados em δ_{H} 5,28 e δ_{H} 5,24 (1H, *t*, $^3J = 3,5$ Hz), referentes aos H-12 olefínicos característicos de um esqueleto triterpênico com dupla ligação entre os carbonos C-12 e C-13. Esta proposta foi corroborada pelos sinais em δ_{H} 2,82 (1H, *dd*, $^3J = 13,8$ e $4,2$ Hz); referente ao hidrogênio H-18 do esqueleto oleano e δ_{H} 2,18 (1H, *d*, $^3J = 11,1$ Hz); referente ao hidrogênio H-18 do esqueleto ursano.

O sinal centrado em δ_{H} 3,21 (1H, *dd*, $^3J = 11,3$ e $4,3$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico, e a constante de acoplamento de 11,3 Hz indicou que H-3 está na posição axial e acopla com o hidrogênio H-2 β com *J* diaxial⁶². Os sinais entre δ_{H} 2,01-0,72 foram atribuídos aos H metílicos, metilênicos e metínicos.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 30) mostrou sinais em δ_{C} 122,7 e δ_{C} 143,6 referentes aos carbonos C-12 e C-13 característicos de um triterpeno pentacíclico $^{12}\Delta$ oleano⁶¹. O sinal em δ_{C} 79,1 foi atribuído ao carbono carbinólico C-3, e o sinal em δ_{C} 183,0 ao carbono carboxílico do esqueleto oleano. A presença do esqueleto ursano foi confirmada pelos sinais em δ_{C} 182,4 (C-28), δ_{C} 138,0 (C-13) e δ_{C} 125,9 (C-12).

A comparação dos dados de RMN de ^{13}C com os valores descritos por Mahato e Kundu⁶¹ e Falcão, Fernandes e Menezes⁶⁴ (Tabela 7) tornou possível identificar as substâncias como sendo o ácido oleanólico (**III**) (majoritário) e o ácido ursólico (**IV**) (Figura 28), cujas presenças já foram relatadas em diversas outras espécies do gênero *Miconia*^{15,17,26,28,29,31,32,36,37,41,50-52}.

Figura 28-Estruturas das substâncias **III** e **IV**, identificadas como ácidos oleanólico e ursólico.



Fonte: autora.

Tabela 7-Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) das substâncias **III** e **IV** em comparação com os dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz/50 MHz) dos ácidos oleanólico e ursólico.

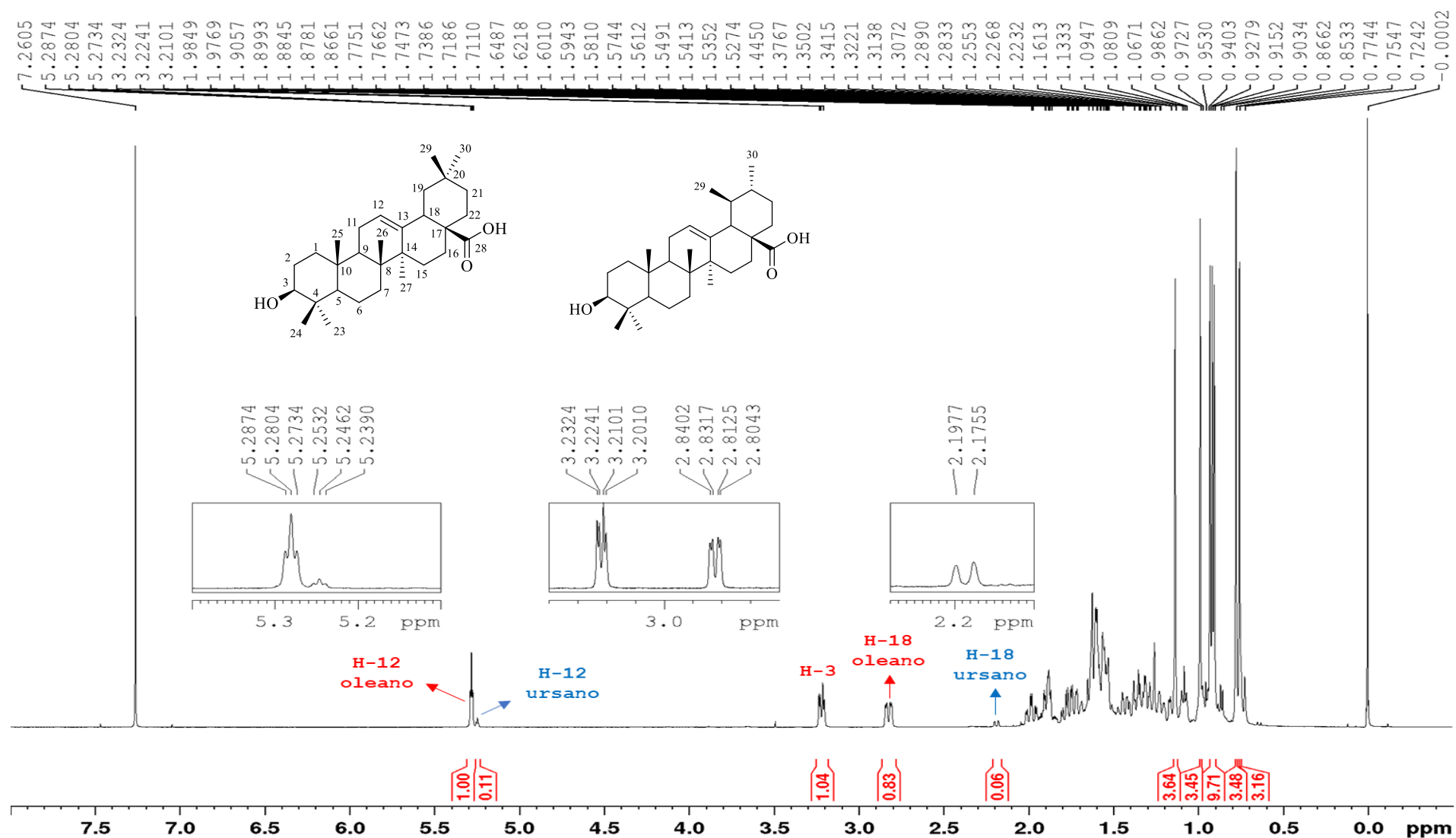
(continua)

δ_{C} (ppm)				
C	Substância III	Mahato e Kundo ⁶¹ (75 MHz)	Substância IV	Falcão, Fernandes e Menezes ⁶⁴ (50 MHz)
1	38,4	38,5	38,6	38,8
2	27,2	27,4	27,2	27,3
3	79,0	78,7	79,0	78,8
4	38,7	38,7	38,8	38,8
5	55,2	55,2	55,2	55,4
6	18,3	18,3	18,3	18,4
7	32,6	32,6	32,9	33,0
8	39,3	39,3	39,5	39,6
9	47,6	47,6	47,5	47,5
10	37,1	37,0	37,0	37,0
11	22,9	23,6	23,3	23,3
12	122,7	122,1	125,9	125,5
13	143,6	143,4	138,0	138,0
14	41,6	41,6	41,9	42,0
15	27,7	27,7	28,0	28,2
16	23,4	23,4	24,1	24,3
17	46,5	46,6	47,9	48,1
18	41,0	41,3	52,6	52,8
19	45,9	45,8	39,0	39,1
20	30,7	30,6	39,0	38,8
21	33,8	33,8	30,6	30,7

Cont. Tabela 7

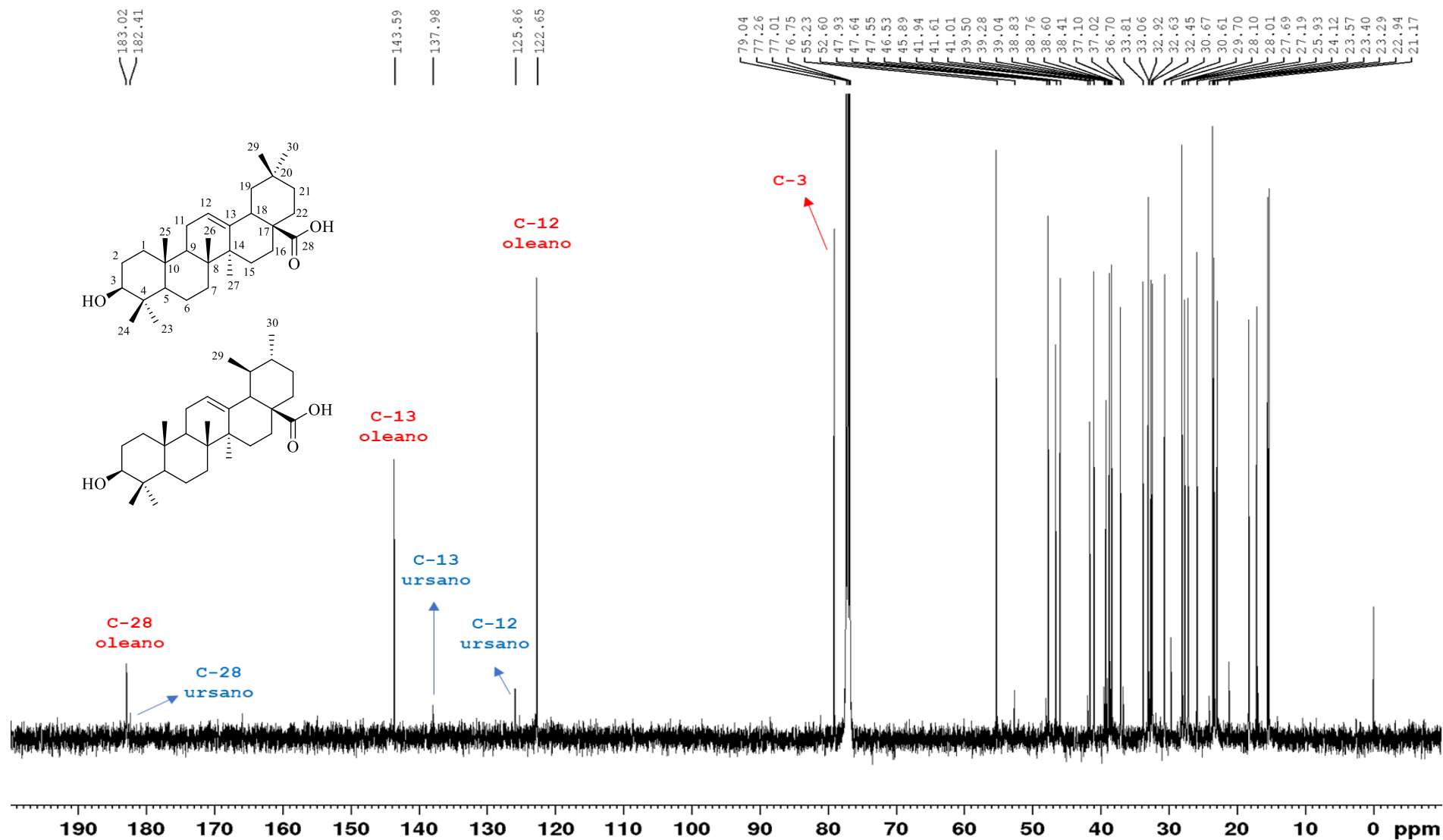
δ_c (ppm)				
C	Substância III	Mahato e Kundo⁶¹ (75 MHz)	Substância IV	Falcão, Fernandes e Menezes⁶⁴ (50 MHz)
22	32,5	32,3	36,7	36,7
23	28,1	28,1	28,0	28,2
24	15,6	15,6	16,5	15,5
25	15,3	15,3	15,6	15,7
26	17,1	16,8	16,9	16,9
27	25,9	26,0	23,6	23,6
28	183,0	181,0	182,4	180,0
29	33,1	33,1	16,9	16,9
30	23,6	23,6	21,2	21,2

Figura 29-Espectro de RMN de ^1H das substâncias **III** e **IV** (CDCl_3 , 500 MHz).



Fonte: Autora.

Figura 30-Espectro de RMN de ^{13}C das substâncias **III** e **IV** (CDCl_3 , 125 MHz).



Fonte: Autora.

5.2.1.4 Identificação das substâncias V e VI

A substância **V** foi identificada em mistura com a substância **VI**. Elas foram obtidas da fração hexânica das cascas do caule, apresentando-se como cristais incolores, e foram identificadas através da análise de experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C , além de comparação com dados da literatura^{65,66}.

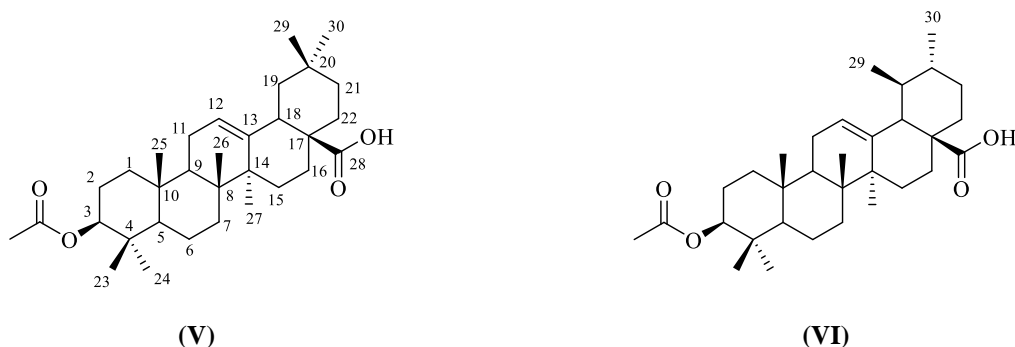
O espectro de RMN de ^1H (Figura 32) mostrou sinais centrados em δ_{H} 5,30 e δ_{H} 5,27 (1H, *t*, $^3J = 3,5$ Hz), referentes aos H-12 olefínicos característicos de um esqueleto triterpênico com dupla ligação entre os carbonos C-12 e C-13. Esta proposta foi corroborada pelos sinais em δ_{H} 2,84 (1H, *dd*, $^3J = 13,8$ e $4,3$ Hz) e δ_{H} 2,21 (1H, *d*, $^3J = 12,2$ Hz), referentes aos hidrogênios H-18 dos esqueletos oleano e ursano, respectivamente.

O multipletto em δ_{H} 4,52 (1H, *m*) foi atribuído ao hidrogênio H-3. O fato deste sinal estar mais desblindado em relação ao sinal do H-3 das substâncias **III** e **IV** (ácidos oleanólico e ursólico) sugere a presença de um grupo éster na posição C-3, ao invés da hidroxila. Esta sugestão foi confirmada pelo simpleto em δ_{H} 2,07 atribuído aos hidrogênios da metila ligada à carbonila de éster.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 33) mostrou sinais em δ_{C} 122,6 e δ_{C} 143,6 referentes aos carbonos C-12 e C-13 de um triterpeno pentacíclico do tipo oleano. O sinal em δ_{C} 125,7 (C-12) confirmou a presença do esqueleto ursano na amostra. A presença de dois sinais de carbonos carbonílicos em δ_{C} 182,6 e δ_{C} 171,0 confirmaram a esterificação da posição C-3 do triterpeno. Estes sinais foram atribuídos às carbonilas do ácido carboxílico e do éster, respectivamente.

A comparação dos dados de RMN de ^{13}C com os valores descritos por Kwon et al.⁶⁵ e Taketa et al.⁶⁶ (Tabela 8) tornou possível identificar as substâncias como sendo o ácido 3-*O*- β -acetil oleanólico (**V**) (majoritário) e o ácido 3-*O*- β -acetil ursólico (**VI**) (Figura 31), cujas presenças estão sendo relatadas pela primeira vez em *Miconia*.

Figura 31-Estruturas das substâncias **V** e **VI**, identificadas como ácidos 3-*O*-β-acetil oleanólico e 3-*O*-β-acetil ursólico.



Fonte: autora.

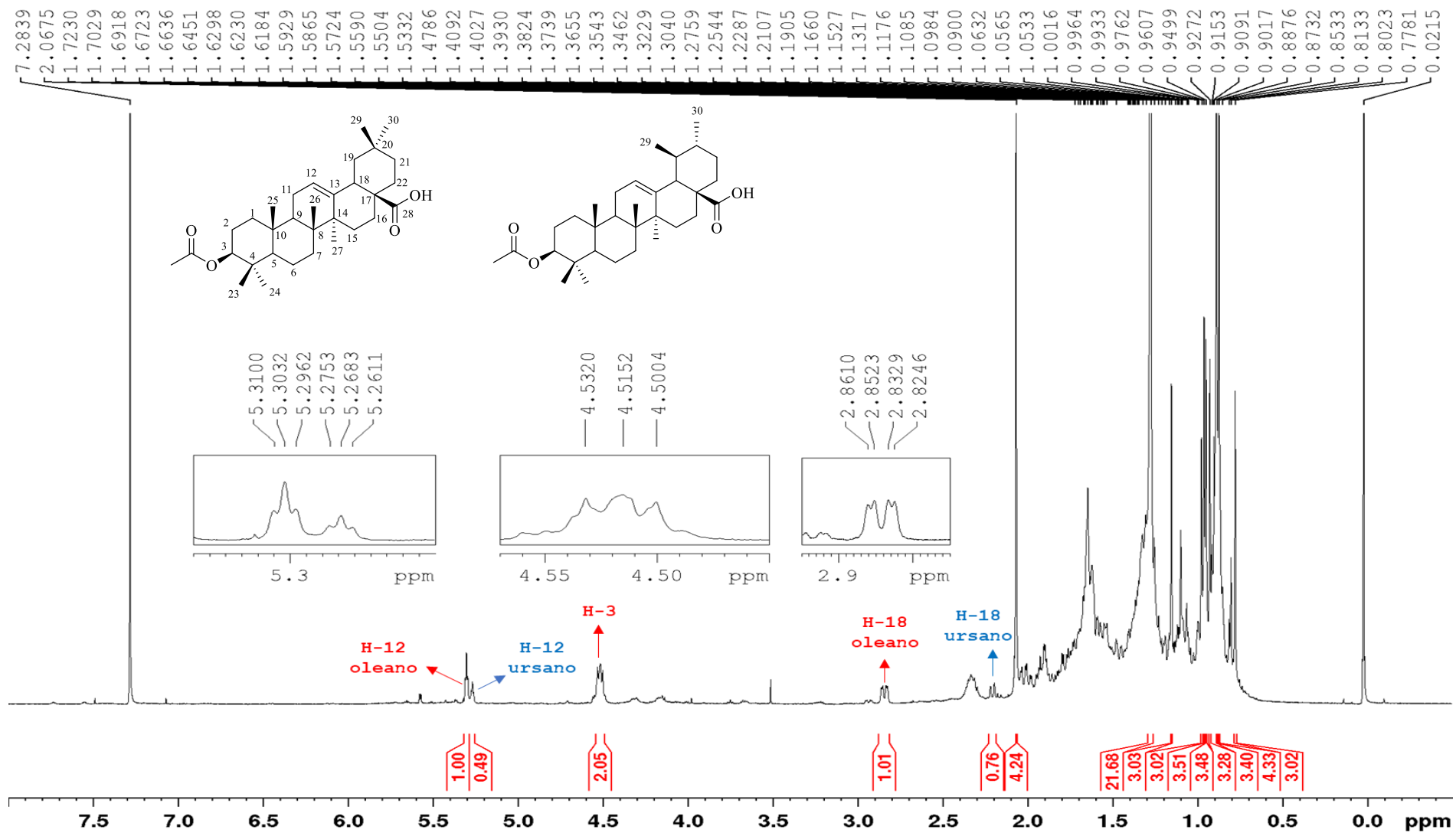
Tabela 8-Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) das substâncias **V** e **VI** em comparação com os dados de RMN de ^{13}C ($\text{CDCl}_3/\text{piridina-d}_5$, 100 MHz/125 MHz) dos ácidos 3-*O*-β-acetil oleanólico e 3-*O*-β-acetil ursólico. (continua)

C	δ_c (ppm)			
	Substância V	Kwon et al. ⁶⁵ (100 MHz)	Substância VI	Taketa et al. ⁶⁶ (125 MHz)
1	38,1	38,2	38,8	38,4
2	23,6	23,7	24,1	24,1
3	80,9	81,1	80,9	80,9
4	37,7	37,9	38,2	38,0
5	55,3	55,5	55,3	55,7
6	18,2	18,4	18,2	18,6
7	32,4	32,6	33,7	33,5
8	39,3	39,5		40,0
9	47,6	47,7	47,5	47,9
10	37,0	37,1	37,0	37,2
11	23,4	23,6	23,6	23,7
12	122,6	122,7	125,7	125,6
13	143,6	143,8		139,4
14	41,6	41,7		42,6
15	28,0	27,9	29,3	28,8
16	22,9	23,0		25,0
17	46,5	46,7	47,9	48,2
18	41,0	41,1	52,6	53,6
19	45,8	46,0	39,3	39,5
20	30,7	30,9	39,3	39,6

Cont. Tabela 8

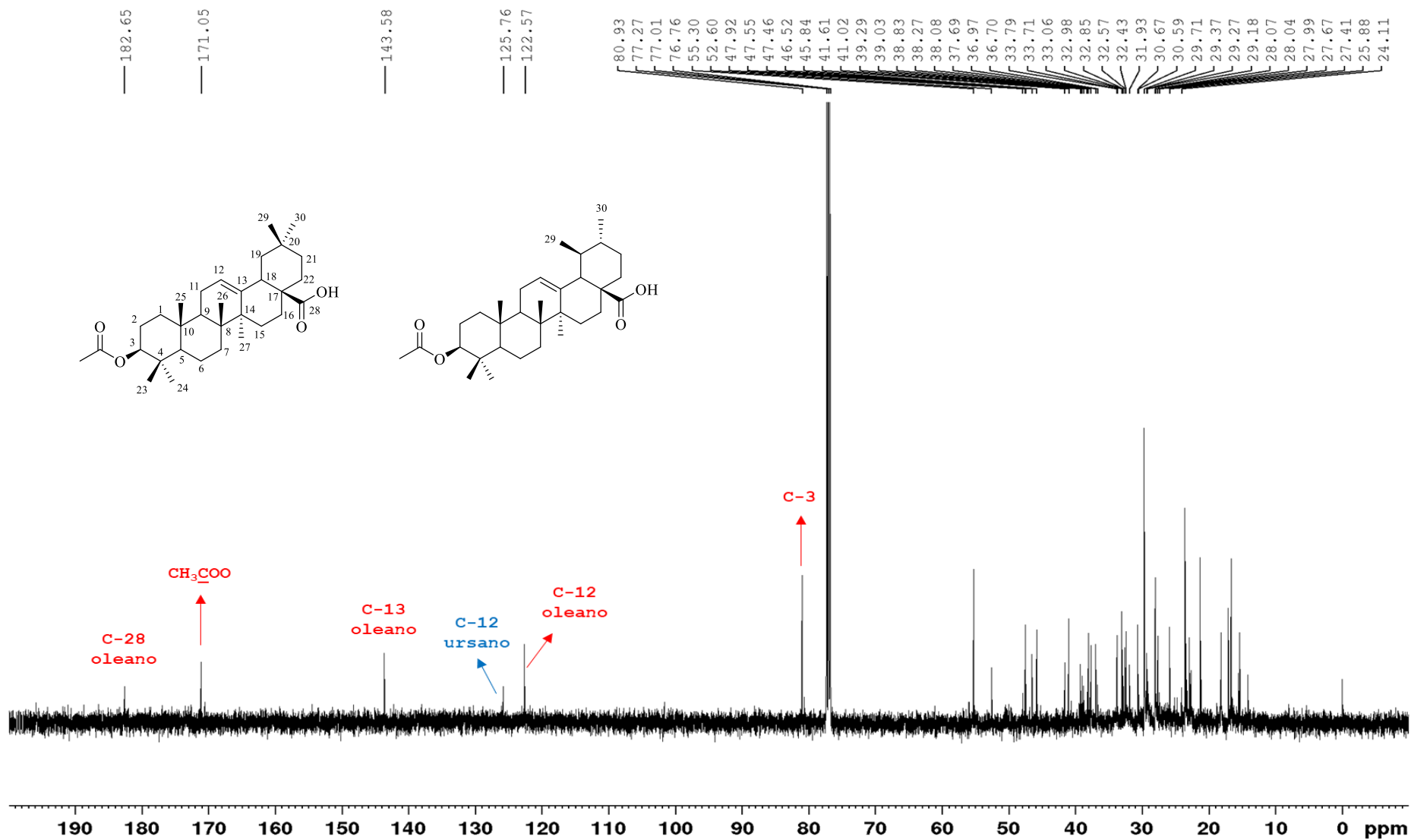
δ_c (ppm)				
C	Substância V	Kwon et al.⁶⁵ (100 MHz)	Substância VI	Taketa et al.⁶⁶ (125 MHz)
21	33,8	34,0	31,8	31,2
22	32,6	32,7	37,6	37,6
23	27,7	28,2	28,1	28,3
24	16,7	16,9	17,0	17,1
25	15,4	15,6	15,5	15,7
26	17,1	17,3	17,0	17,5
27	25,9	26,1	24,1	24,1
28	182,6	184,4	182,6	180,1
29	33,1	33,3	18,1	17,7
30	23,6	23,8	21,3	21,6
CH₃C<u>U</u>OO	171,0	171,1	170,5	170,7
<u>C</u>H₃COO	21,3	21,5	21,2	21,3

Figura 32-Espectro de RMN de ^1H das substâncias V e VI (CDCl_3 , 500 MHz).



Fonte: Autora.

Figura 33-Espectro de RMN de ^{13}C das substâncias V e VI (CDCl_3 , 125 MHz).



Fonte: Autora.

5.2.1.5 Identificação das substâncias VII e VIII

A substância **VII** foi identificada em mistura com a substância **VIII**. Elas foram obtidas da fração metanólica das folhas, apresentando-se como um sólido amorfo branco e foram identificadas através da análise de experimentos de RMN em uma e duas dimensões e por comparação com dados da literatura^{67,68}.

O espectro de RMN de ^1H da amostra (Figura 35) mostrou dois tripletos centrados em δ_{H} 5,26 e δ_{H} 5,24 (1H, *t*, $^3J = 3,4$ Hz), referentes aos H-12 olefínicos característicos de um esqueleto triterpênico com dupla ligação entre os carbonos C-12 e C-13. Os sinais em δ_{H} 2,85 (1H, *dd*, $^3J = 14,2$ e $3,8$ Hz) e δ_{H} 2,21 (1H, *d*, $^3J = 11,0$ Hz), atribuídos ao H-18 de triterpenos de esqueleto oleano e ursano, respectivamente, indicaram a natureza dos triterpenos da amostra.

Foi observado um sinal de hidrogênio oximetínico em δ_{H} 3,64 (1H, *m*), atribuído ao H-2, além de dois dupletos em δ_{H} 2,94 (1H, *d*, $^3J = 9,5$ Hz) e δ_{H} 2,93 (1H, *d*, $^3J = 9,6$ Hz), atribuídos ao H-3 dos triterpenos do tipo ursano e oleano, respectivamente. Observou-se, ainda, sinais de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos na região entre δ_{H} 2,03-0,81.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 36) mostrou sinais que confirmaram a mistura de triterpenos do tipo ursano e oleano: δ_{C} 138,2 (C-13 ursano), δ_{C} 124,9 (C-12 ursano), δ_{C} 121,6 (C-12 oleano). O sinal em δ_{C} 82,9 foi atribuído ao carbono carbinólico C-3 e o sinal em δ_{C} 68,0 ao carbono carbinólico C-2. A partir destes dados foi possível sugerir que as substâncias em mistura se tratavam do ácido corosólico e do ácido maslínico, o que foi confirmado a partir das correlações observadas nos espectros 2D e apresentadas abaixo.

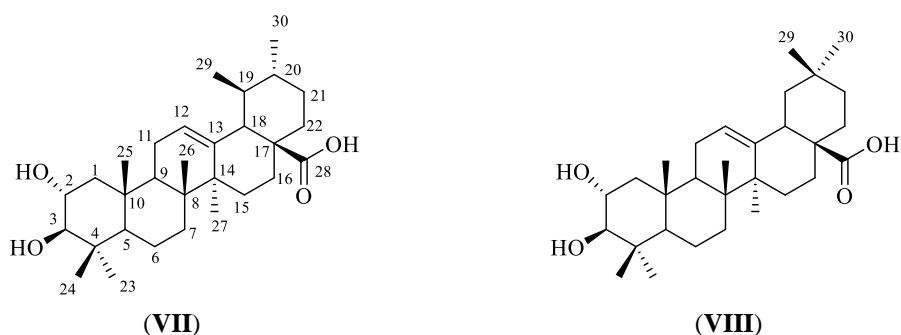
No mapa de contorno HSQC (Figura 37), foi possível observar que o tripleto em δ_{H} 5,26 apresenta correlação com um sinal de carbono em δ_{C} 121,6; atribuído ao carbono C-12 do triterpeno do tipo oleano, enquanto o tripleto em δ_{H} 5,24 apresenta correlação com um sinal de carbono em δ_{C} 124,9; atribuído ao carbono C-12 do triterpeno do tipo ursano. No espectro de HMBC (Figura 38) observou-se a correlação do tripleto em δ_{H} 5,24 com os carbonos em δ_{C} 23,8 (C-11, 2J), δ_{C} 41,8 (C-14, 3J), δ_{C} 48,0 (C-9, 3J) e δ_{C} 53,3 (C-18, 3J).

O duplete em δ_{H} 2,94 apresentou, conforme observado no espectro de HSQC, correlação com um sinal de carbono em δ_{C} 82,9; o qual foi atribuído ao carbono C-3 dos triterpenos. No espectro de HMBC observou-se a correlação deste duplete a duas ligações (2J) com os carbonos em δ_{C} 68,0 (C-2) e δ_{C} 39,2 (C-4) e a três ligações (3J) com os carbonos δ_{C} 17,9 (C-24), δ_{C} 29,2 (C-23) e δ_{C} 47,8 (C-1).

O duplete em δ_H 2,21 mostrou correlação com o carbono em δ_C 53,3 (HSQC), o qual foi atribuído ao carbono C-18 do triterpeno do tipo ursano. No espectro de HMBC foram observadas as correlações deste duplete a duas ligações (2J) com os carbonos em δ_C 39,2 (C-19), δ_C 48,1 (C-17) e δ_C 138,2 (C-13), a três ligações (3J) com os carbonos em δ_C 25,1 (C-16), δ_C 41,8 (C-14) e δ_C 124,9 (C-12) e a quatro ligações (4J) com o carbono em δ_C 17,9 (C-30).

Com base nas informações obtidas nos experimentos de RMN e em comparação com dados da literatura (Tabela 9), foi possível confirmar que a substância majoritária é o ácido corosólico (**VII**) (Figura 34), cuja presença já foi relatada nas partes aéreas de *M. sellowiana*²⁹, enquanto a substância minoritária é o ácido maslínico (**VIII**), previamente identificado nas espécies *M. sellowiana*²⁹ e *M. albicans*³⁷.

Figura 34-Estruturas das substâncias **VII** e **VIII**, identificadas como ácidos corosólico e maslínico.



Fonte: autora.

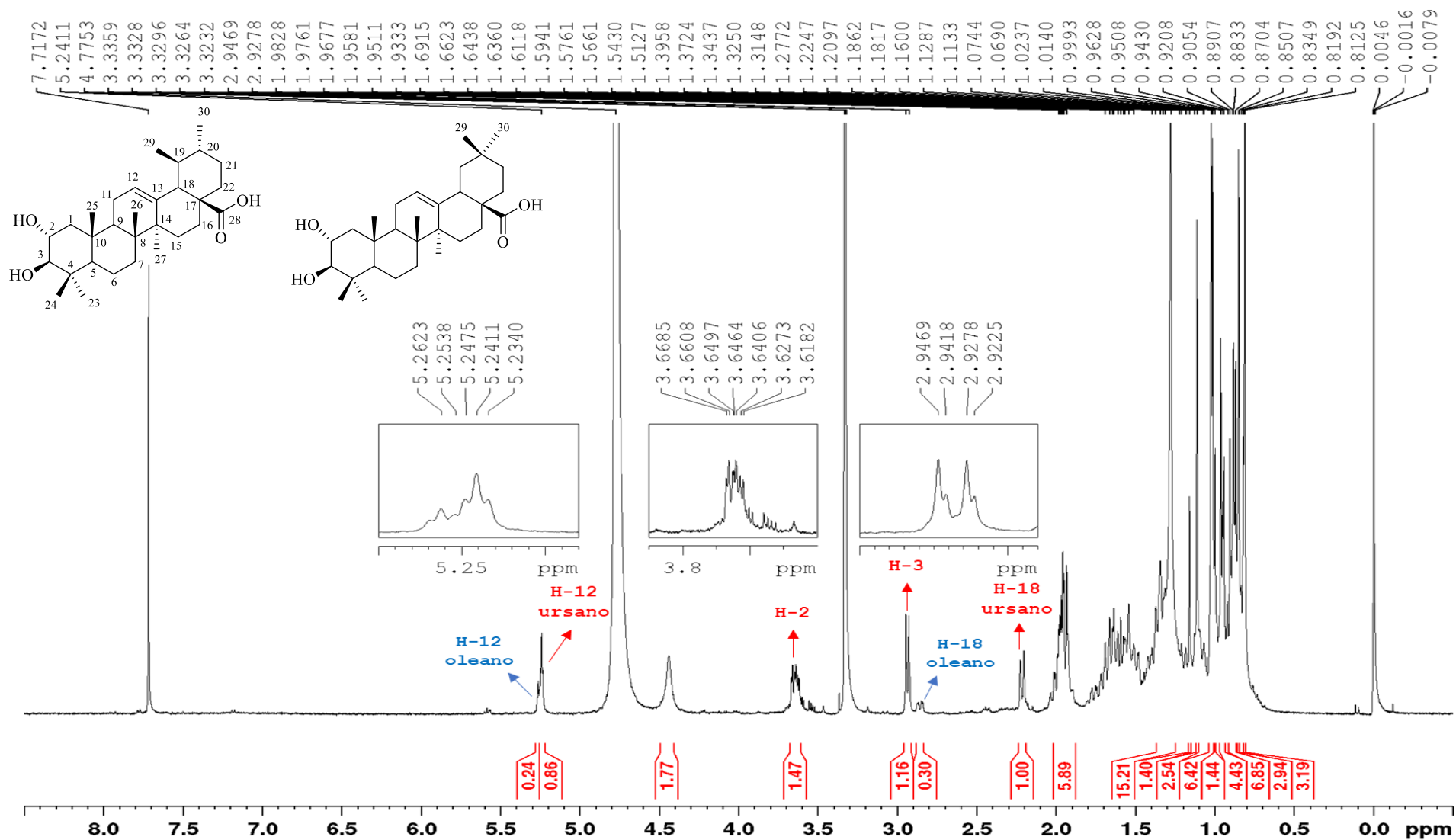
Tabela 9-Dados de RMN de ^{13}C (MeOD + $CDCl_3$, 125MHz) das substâncias **VII** e **VIII** em comparação com os dados de RMN de ^{13}C do ácido corosólico (piridina- d_5 , 75MHz) e do ácido maslínico (MeOD, 125MHz). (continua)

δ_C (ppm)				
C	Substância VII	Wen et al. ⁶⁷ (75 MHz)	Substância VIII	Woo et al. ⁶⁸ (125 MHz)
1	47,8	48,0	47,8	47,3
2	68,0	68,6	68,0	68,0
3	82,9	83,8	82,9	83,2
4	39,2	39,8	39,2	39,4
5	55,0	55,9	55,0	55,4
6	18,0	18,9	18,0	18,4
7	33,5	33,5	32,7	32,8
8	39,2	40,1	39,2	39,3
9	48,0	47,5	48,0	47,7

Cont. Tabela 9

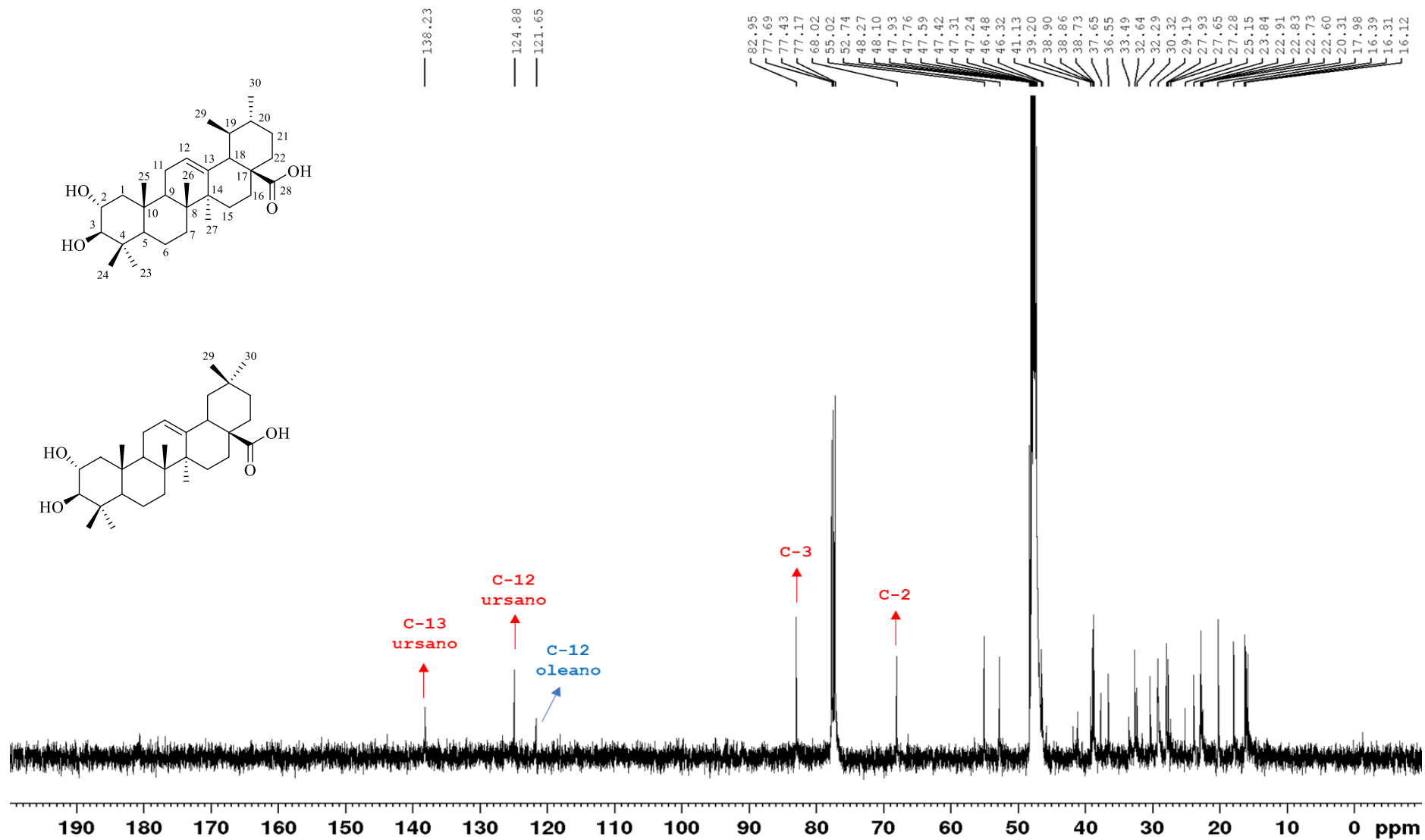
δ_c (ppm)				
C	Substância VII	Wen et al. ⁶⁷ (75 MHz)	Substância VIII	Woo et al. ⁶⁸ (125 MHz)
10	37,7	38,5	37,7	38,0
11	23,8	23,8	23,1	23,5
12	124,9	125,5	121,6	121,7
13	138,2	139,3	144,3	144,4
14	41,8	42,6	41,2	41,7
15	27,9	28,7	27,7	27,8
16	25,1	24,9	23,0	23,3
17	48,1	48,1	46,3	46,2
18	53,3	53,6	42,0	41,5
19	39,2	39,4	45,8	46,0
20	39,2	39,5	30,3	30,5
21	30,2	31,1	33,5	33,8
22	37,6	37,5	32,6	32,7
23	29,2	29,4	29,0	28,9
24	17,9	17,7	16,4	17,1
25	16,4	17,0	16,3	16,4
26	16,4	17,5	16,4	17,2
27	23,9	23,9	25,2	25,7
28	181,0	179,9	179,0	179,0
29	20,3	21,4	32,6	32,8
30	17,9	17,5	22,9	23,3

Figura 35-Espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias **VII** e **VIII** (MeOD + CDCl_3 , 500 MHz).



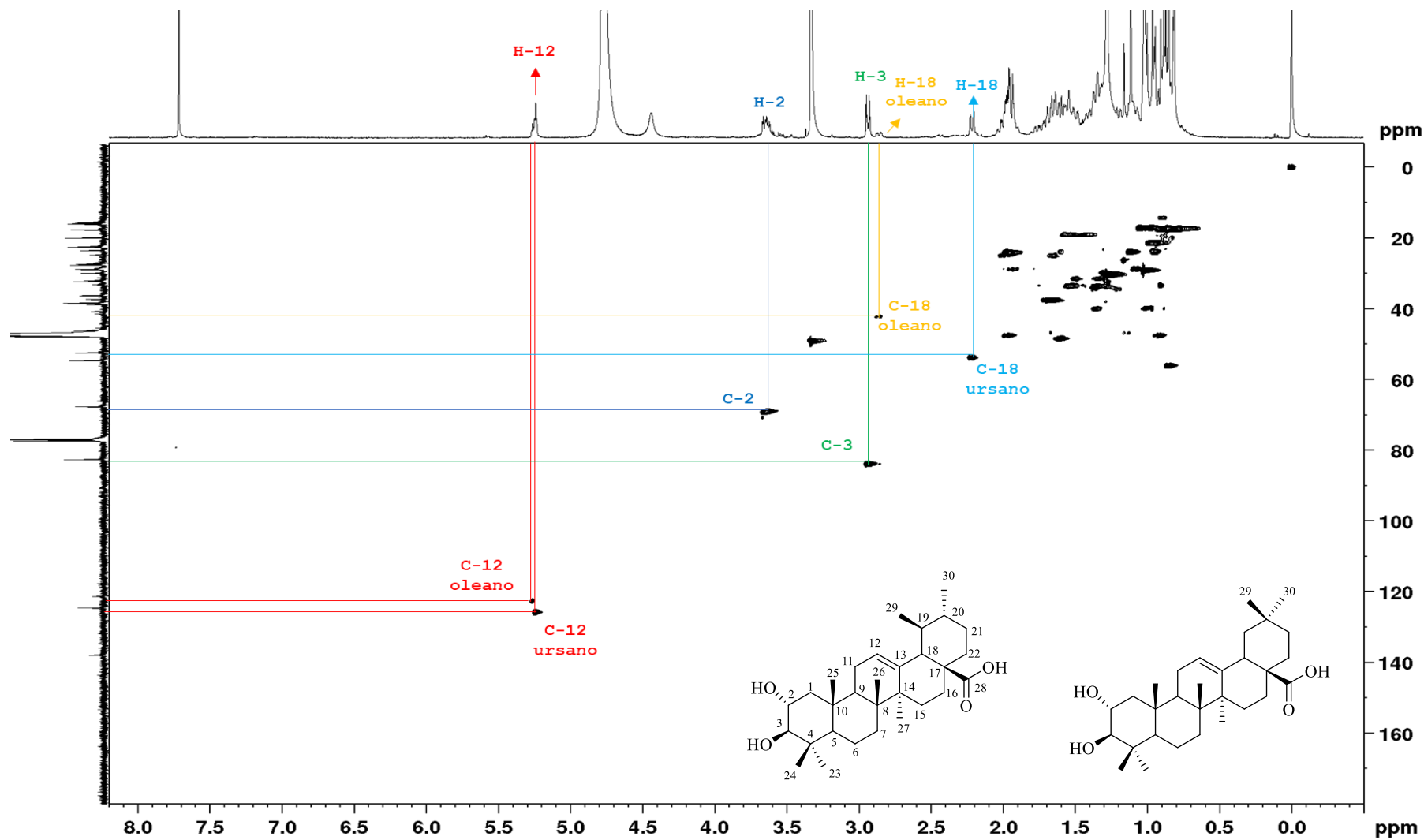
Fonte: Autora.

Figura 36-Espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias VII e VIII (MeOD + CDCl_3 , 125 MHz).



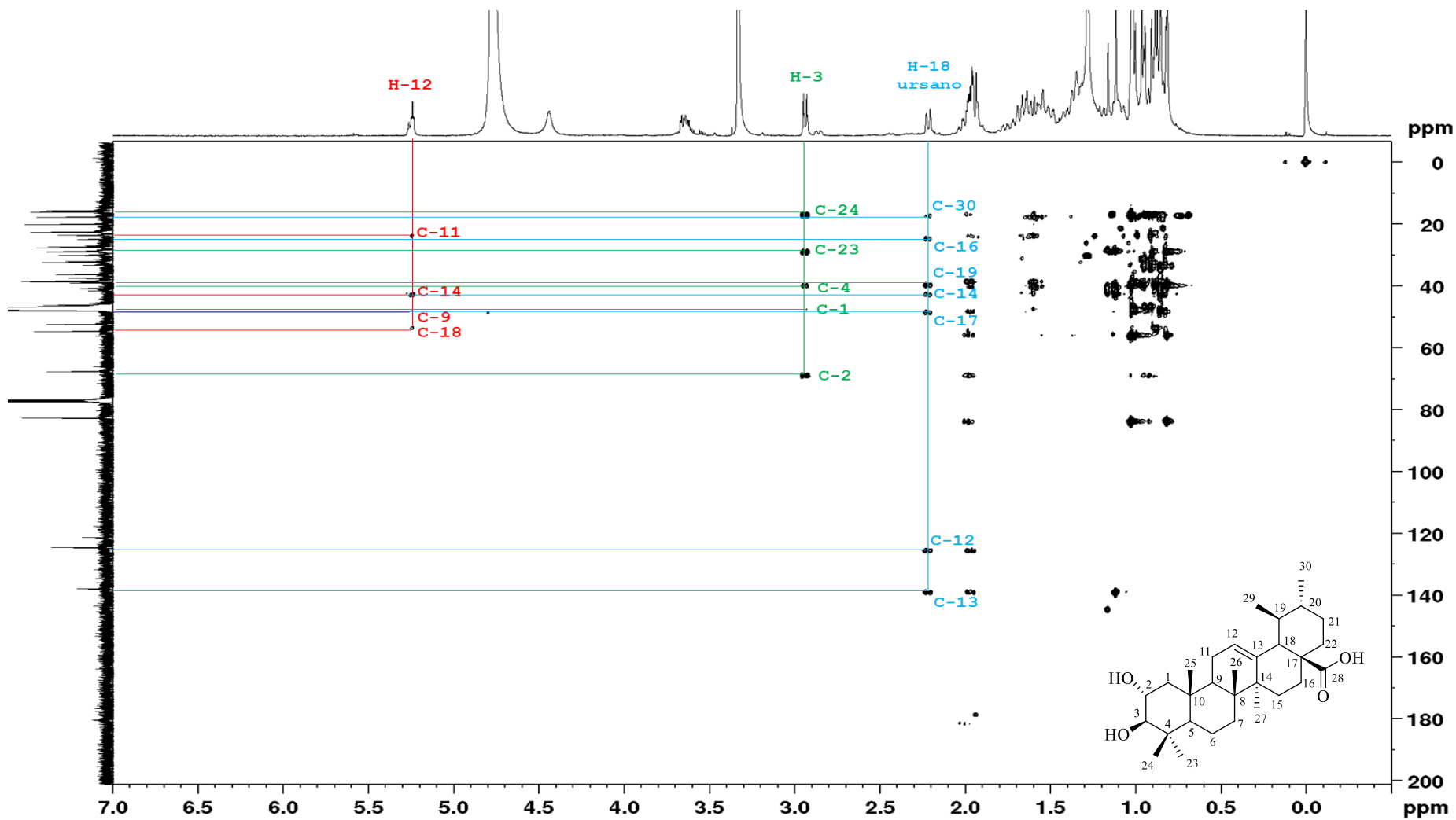
Fonte: Autora.

Figura 37-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da mistura das substâncias **VII** e **VIII** (MeOD + CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



Fonte: Autora.

Figura 38-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da mistura das substâncias **VII** e **VIII** (MeOD + CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



Fonte: Autora.

5.2.1.6 Identificação das substâncias IX e X

A substância **IX** foi identificada em mistura com a substância **X**. Elas foram obtidas da fração em acetato de etila das folhas, apresentando-se como um sólido amorfo branco, e foram identificadas através da análise de experimentos de RMN em uma e duas dimensões e espectrometria de massas de alta resolução.

O espectro de RMN de ^1H (Figuras 41-43) mostrou um multipletto em δ_{H} 5,27 (1H, *m*), referente ao H-12 olefínico característico de um esqueleto triterpênico com dupla ligação entre os carbonos C-12 e C-13. Foram observados sinais de hidrogênios oximetínicos em δ_{H} 4,66 (1H, *dd*, $^3J = 9,9$ e $2,5$ Hz) e δ_{H} 3,88 (1H, *m*), além de sinais de hidrogênios olefínicos e aromáticos na região entre δ_{H} 5,86 e 7,66. Os sinais entre δ_{H} 2,01-0,85 foram atribuídos aos H metílicos, metilênicos e metínicos do triterpeno.

Os dupletos em δ_{H} 7,67 (1H, *d*, $^3J = 16,7$ Hz) e δ_{H} 6,40 (1H, *d*, $^3J = 16,7$ Hz) sugeriram a presença de uma segunda insaturação na molécula, além da presente no esqueleto triterpênico. A constante de acoplamento de 16,7 Hz indica uma relação estereoquímica do tipo *trans* entre estes dois hidrogênios. Estes sinais, somados aos dupletos em δ_{H} 7,47 (2H, *d*, $^3J = 8,7$ Hz) e δ_{H} 6,83 (2H, *d*, $^3J = 8,7$ Hz), característicos de hidrogênios aromáticos *orto* acoplados, indicaram a presença de uma unidade *trans-p*-cumaroil na molécula.

A observação de dupletos menos intensos na região descrita acima indicou a presença do isômero *cis* do *p*-cumaroil em mistura com o *trans*. Esta indicação foi confirmada pelos dupletos em δ_{H} 6,89 (1H, *d*, $^3J = 12,6$ Hz) e δ_{H} 5,86 (1H, *d*, $^3J = 12,6$ Hz), atribuídos aos hidrogênios em relação *cis* do *p*-cumaroil. Os sinais de hidrogênios *orto* acoplados deste isômero foram observados em δ_{H} 7,64 (2H, *d*, $^3J = 8,9$ Hz) e δ_{H} 6,75 (2H, *d*, $^3J = 8,9$ Hz). Deste modo, confirmou-se que a amostra se tratava de uma mistura de triterpenos com unidades *trans* e *cis p*-cumaroil, sendo o primeiro a substância majoritária.

A atribuição dos sinais de carbono das moléculas foi feita por meio das correlações observadas nos espectros de HSQC (Figura 44) e HMBC (Figura 45), uma vez que a massa da amostra foi insuficiente para a aquisição do espectro de ^{13}C .

No mapa de contorno de HSQC, pôde-se observar que o duplo dupletto em δ_{H} 4,66 apresenta correlação com um sinal de carbono em δ_{C} 85,7; atribuído ao carbono C-3 do triterpeno. No espectro de HMBC, observou-se a correlação deste duplo dupletto a duas ligações (2J) com o carbono em δ_{C} 40,4 (C-4) e a três ligações (3J) com os carbonos em δ_{C}

18,5 (C-24), δ_C 29,5 (C-23), δ_C 67,8 (C-1) e δ_C 169,8 (C-9'). Esta última correlação confirmou a ligação da unidade *trans-p*-cumaroil ao triterpeno através do carbono C-3.

O multipletto em δ_H 3,88 apresentou, conforme observado no espectro de HSQC, correlação com um sinal de carbono em δ_C 67,8; o qual foi atribuído ao carbono C-1 do triterpeno.

Na unidade *trans-p*-cumaroil foram observadas as seguintes correlações: o dupletto em δ_H 6,40 (H-8') apresentou, no espectro de HSQC, correlação com o sinal de carbono em δ_C 116,1; atribuído ao carbono C-8'. No espectro de HMBC, observou-se a correlação deste dupletto a duas ligações (2J) com o carbono em δ_C 169,8 (C-9') e a três ligações (3J) com o carbono δ_C 127,5 (C-1').

No espectro de HSQC foi observada correlação entre o dupletto em δ_H 7,67 (H-7') com o sinal de carbono em δ_C 146,1; atribuído ao carbono C-7'. No espectro de HMBC, observou-se a correlação deste dupletto a três ligações (3J) com os carbonos em δ_C 131,3 (C-2'/6') e δ_C 169,8 (C-9').

O dupletto em δ_H 7,47 (H-2'/6') apresentou correlação com o sinal de carbono em δ_C 131,3 (C-2'/6') no espectro de HSQC e com os sinais em δ_C 131,3 (C-2'/6', 3J), 146,1 (C-7', 3J) e 161,4 (C-4', 3J) no espectro de HMBC.

O dupletto em δ_H 6,83 (H-3'/5'), por sua vez, apresentou correlação com o sinal de carbono em δ_C 117,0 (C-3'/5') no espectro de HSQC e com os sinais em δ_C 117,0 (C-3'/5', 3J), 127,5 (C-1', 3J) e 161,4 (C-4', 2J) no espectro de HMBC.

O dupletto em δ_H 2,23 (1H, *d*, $^3J = 11,6$ Hz) mostrou correlação com o carbono em δ_C 54,3 (HSQC) e com os sinais de carbonos em δ_C 25,3 (C-16, 3J), 40,3 (C-19, 2J), 43,1 (C-14, 3J), 48,5 (C-17, 2J), 126,4 (C-12, 3J) e 140,1 (C-13, 2J) no espectro de HMBC, sendo, portanto, atribuído ao H-18 do triterpeno do tipo ursano.

A estereoquímica do carbono C-1 foi definida com base no espectro de NOE (Figura 46). Ao se irradiar o sinal em δ_H 3,88 (H-1) foram observados incrementos nos sinais em δ_H 1,07 (H-25) e em δ_H 0,96 (H-24). Como estes hidrogênios metílicos estão orientados na posição β nos carbonos C-4 e C-10, propõe-se que o hidrogênio H-1 também esteja orientado na posição β , de modo que a hidroxila ligada ao carbono C-1 esteja na posição α .

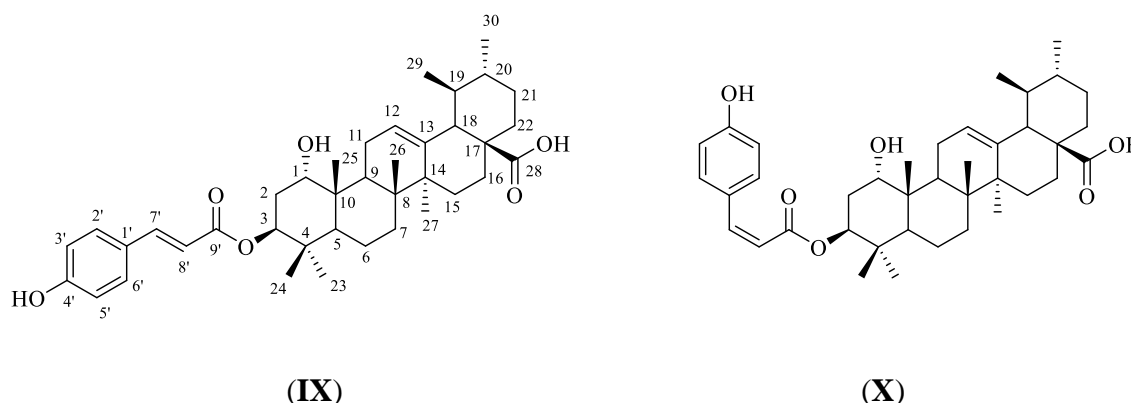
A definição da estereoquímica do carbono C-3, por sua vez, foi feita com base na constante de acoplamento do sinal de hidrogênio em δ_H 4,66 (*dd*, $J = 9,9$ e $2,5$ Hz), atribuído ao H-3. A constante de acoplamento de 9,9 Hz indicou que H-3 está na posição α -axial e

acopla com o hidrogênio H-2 β com J diaxial⁶². Deste modo, a hidroxila está ligada ao C-3 pela face β .

No espectro de massas de alta resolução em modo negativo (Figura 47) o pico do íon molecular $[M-H]^-$ foi observado em m/z 617,38470. Para este íon, a fórmula molecular calculada foi $C_{39}H_{53}O_6$ (erro de 1,789 ppm). O espectro MS/MS do íon em m/z 617,38470 (Figura 48) apresentou um fragmento principal em m/z 145,02847; correspondente ao íon *p*-cumaroil. Os fragmentos em m/z 119,04909 e m/z 163,03912; característicos da fragmentação do ácido cumárico, confirmam a presença deste resíduo na molécula.

Com base nestas informações foi possível propor que a substância majoritária corresponde ao ácido 3-*O*- β -*trans*-*p*-cumaroil-1 α -hidroxi-urs-12-en-28-oico (**IX**) (Figura 39), o qual apresenta-se em mistura com seu isômero *cis* (**X**), dois triterpenos inéditos na literatura até o momento.

Figura 39-Estruturas das substâncias **IX** e **X**, identificadas como ácidos 3-*O*- β -*trans*-*p*-cumaroil-1 α -hidroxi-urs-12-en-28-oico e 3-*O*- β -*cis*-*p*-cumaroil-1 α -hidroxi-urs-12-en-28-oico.



Fonte: autora.

A Tabela 10 apresenta a proposta de atribuição parcial dos dados de RMN de 1H e ^{13}C das substâncias **IX** e **X**.

Tabela 10-Dados de RMN de 1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) das substâncias **IX** e **X**. (continua)

H/C	δ_H (ppm), J (Hz)		δ_C (ppm)	
	Substância IX	Substância X	Substância IX	Substância X
1	3,88 (<i>m</i>)	3,88 (<i>m</i>)	67,8	67,8
2				

Cont. Tabela 10

(continua)

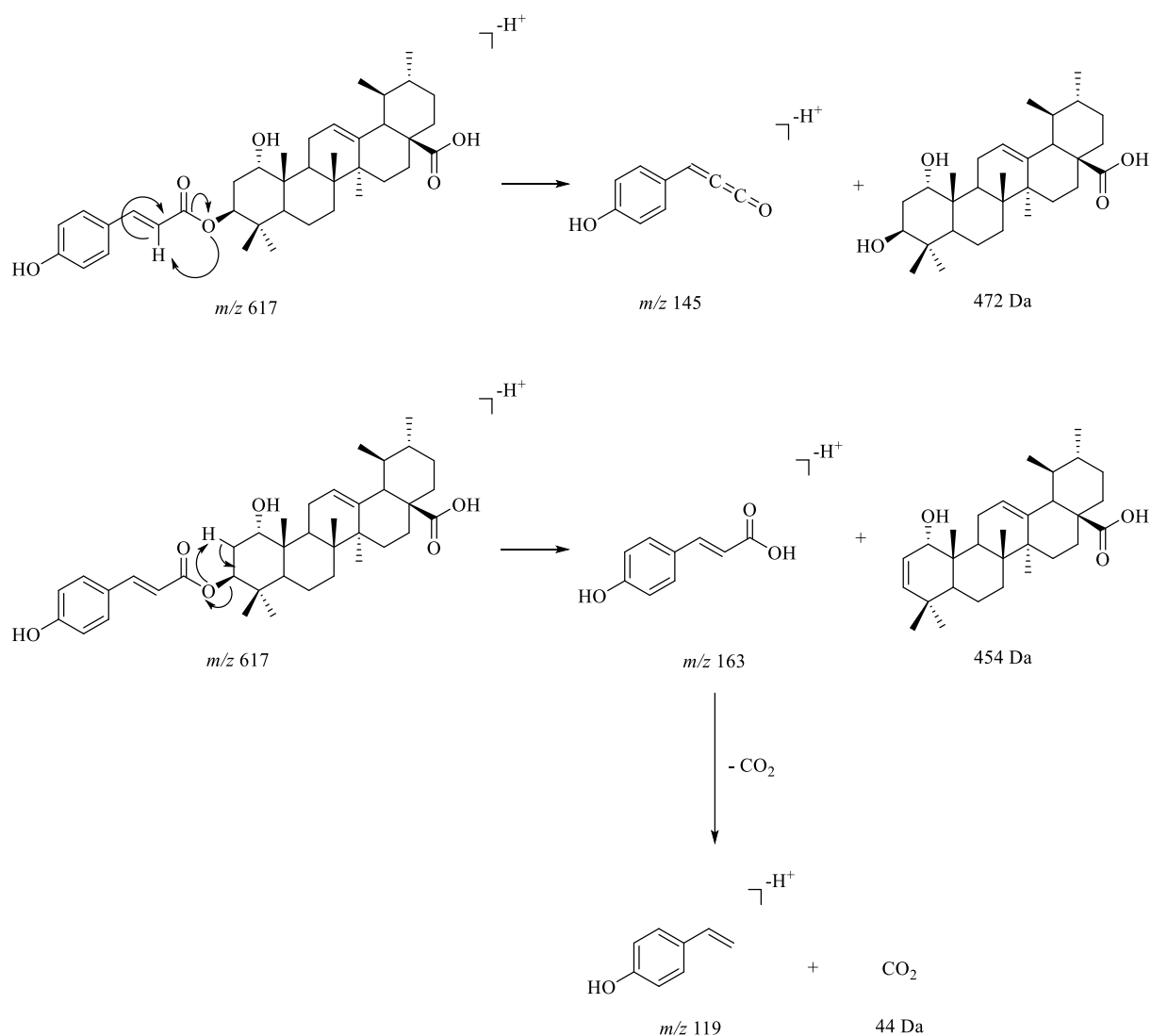
H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância IX	Substância X	Substância IX	Substância X
3	4,66 (<i>dd</i> , $^3J = 9,9$ e $2,5$)	4,62 (<i>dd</i> , $^3J = 9,9$ e $2,8$)	85,7	85,4
4			40,4	40,9
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12	5,27 (<i>m</i>)	5,27 (<i>m</i>)	126,4	126,4
13			140,1	140,1
14			43,1	43,1
15				
16			25,3	25,3
17			48,5	48,5
18	2,23 (<i>d</i> , $^3J = 11,6$)	2,23 (<i>d</i> , $^3J = 11,6$)	54,3	54,3
19			40,3	40,3
20				
21				
22				
23			29,5	29,5
24	0,96 (<i>s</i>)	0,96 (<i>s</i>)	18,5	18,0
25	1,07 (<i>s</i>)	1,07 (<i>s</i>)	17,3	17,3
26				
27				
28				
29				
30				
1'			127,5	127,6
2'	7,47 (<i>d</i> , $^3J = 8,7$)	7,64 (<i>d</i> , $^3J = 8,9$)	131,3	133,2
3'	6,83 (<i>d</i> , $^3J = 8,7$)	6,75 (<i>d</i> , $^3J = 8,9$)	117,0	115,6
4'			161,4	159,5
5'	6,83 (<i>d</i> , $^3J = 8,7$)	6,75 (<i>d</i> , $^3J = 8,9$)	117,0	115,6

Cont. Tabela 10

H/C	δ_H (ppm), J (Hz)		δ_C (ppm)	
	Substância IX	Substância X	Substância IX	Substância X
6'	7,47 (d , $^3J = 8,7$)	7,64 (d , $^3J = 8,9$)	131,3	133,2
7'	7,67 (d , $^3J = 16,7$)	6,89 (d , $^3J = 12,6$)	146,1	144,9
8'	6,40 (d , $^3J = 16,7$)	5,86 (d , $^3J = 12,6$)	116,1	117,4
9'			169,8	168,5

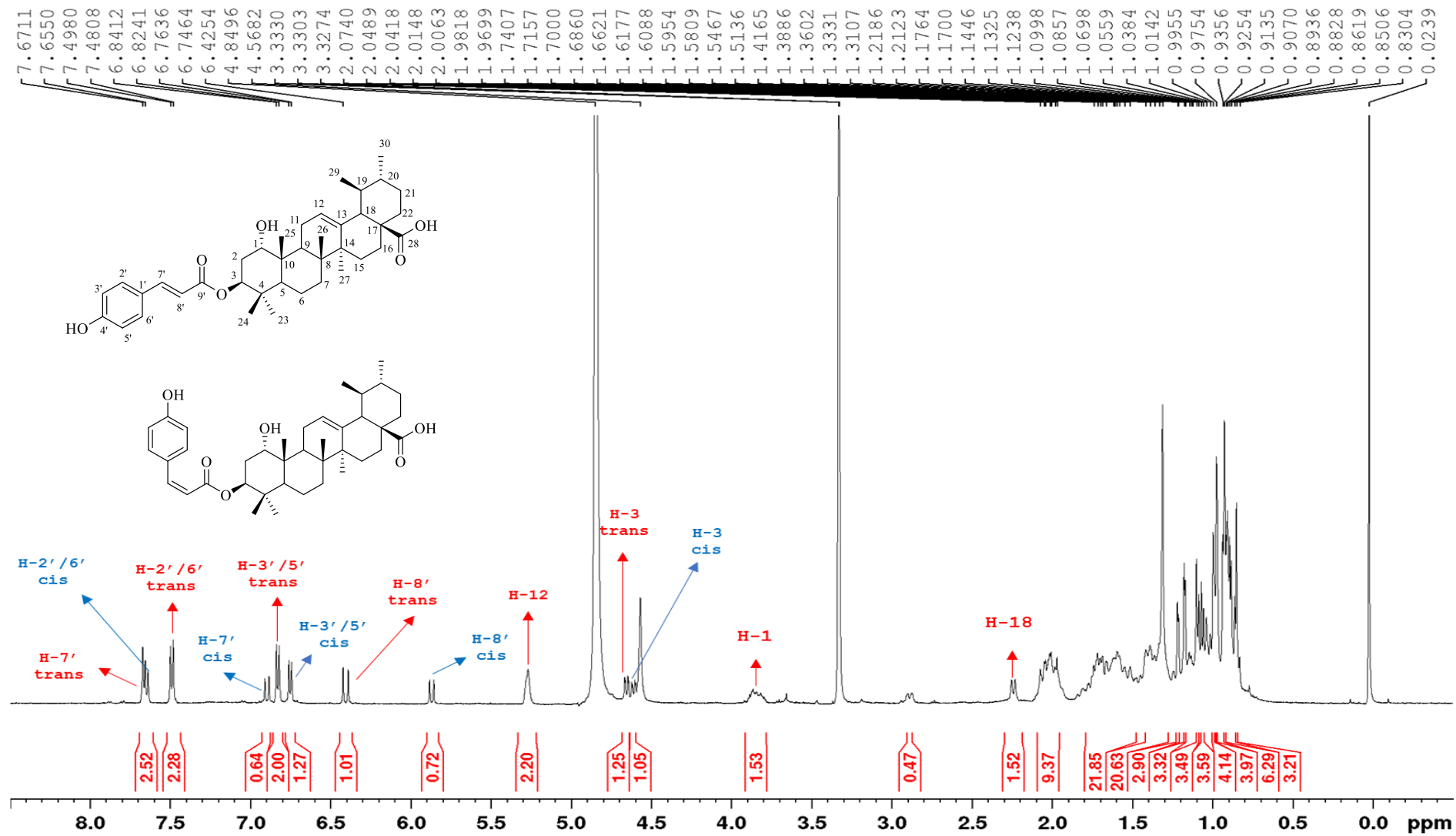
Na Figura 40 são apresentadas as propostas dos mecanismos de fragmentação da substância IX.

Figura 40-Proposta de fragmentação para a substância IX.



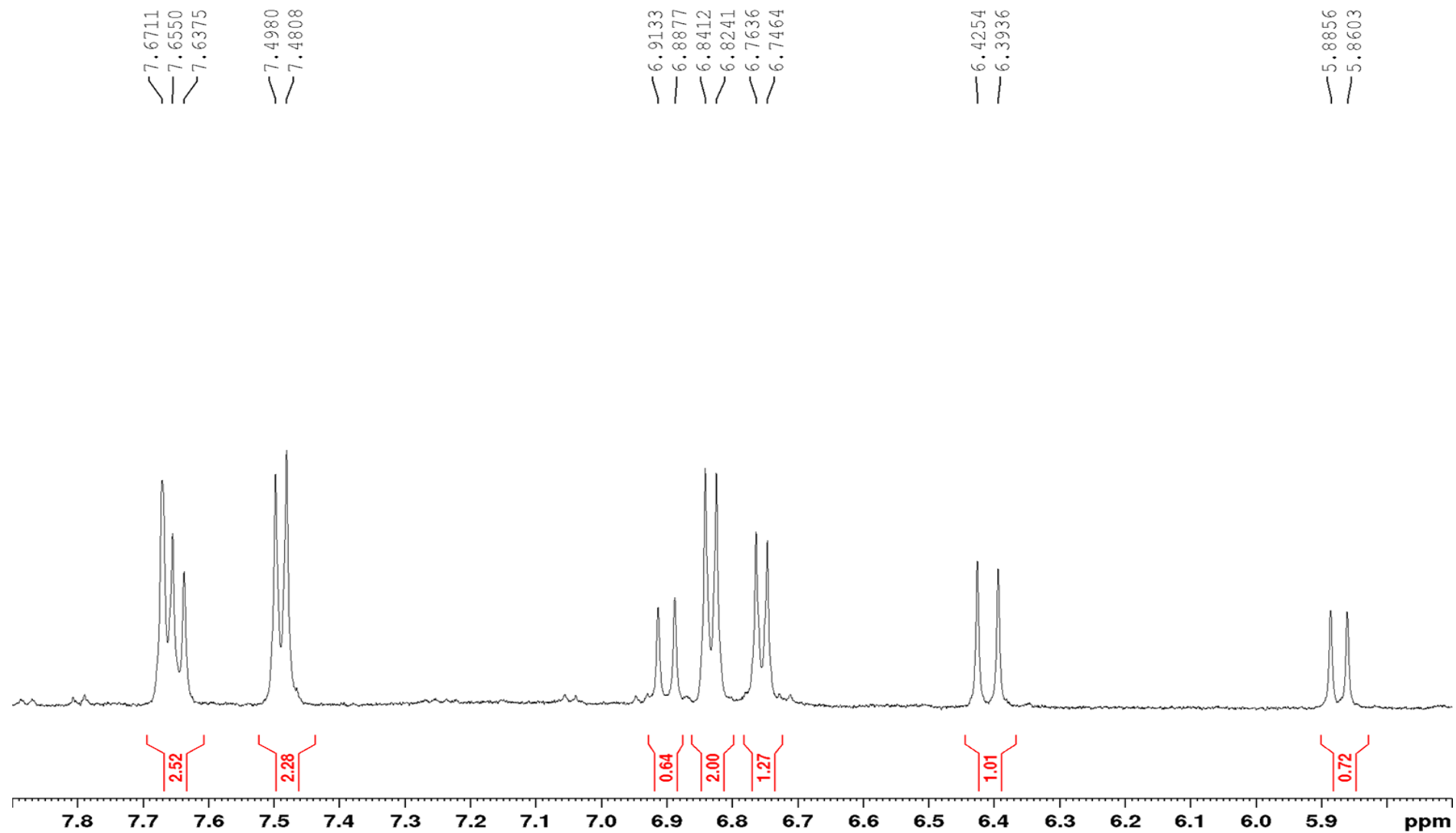
Fonte: autora.

Figura 41-Espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias IX e X (MeOD, 500 MHz).



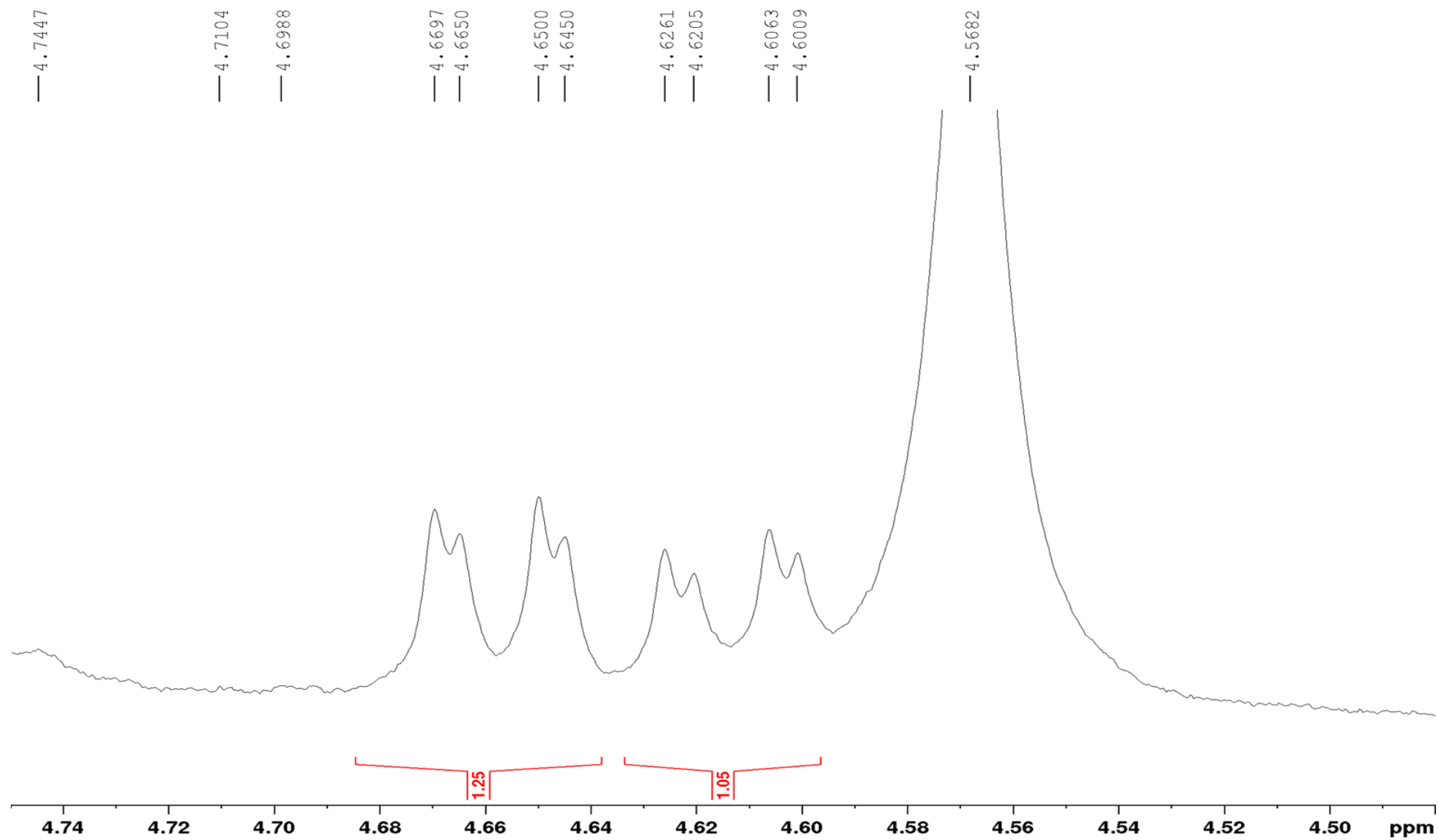
Fonte: Autora.

Figura 42-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias IX e X na região entre 7,8 e 5,8 ppm (MeOD, 500 MHz).



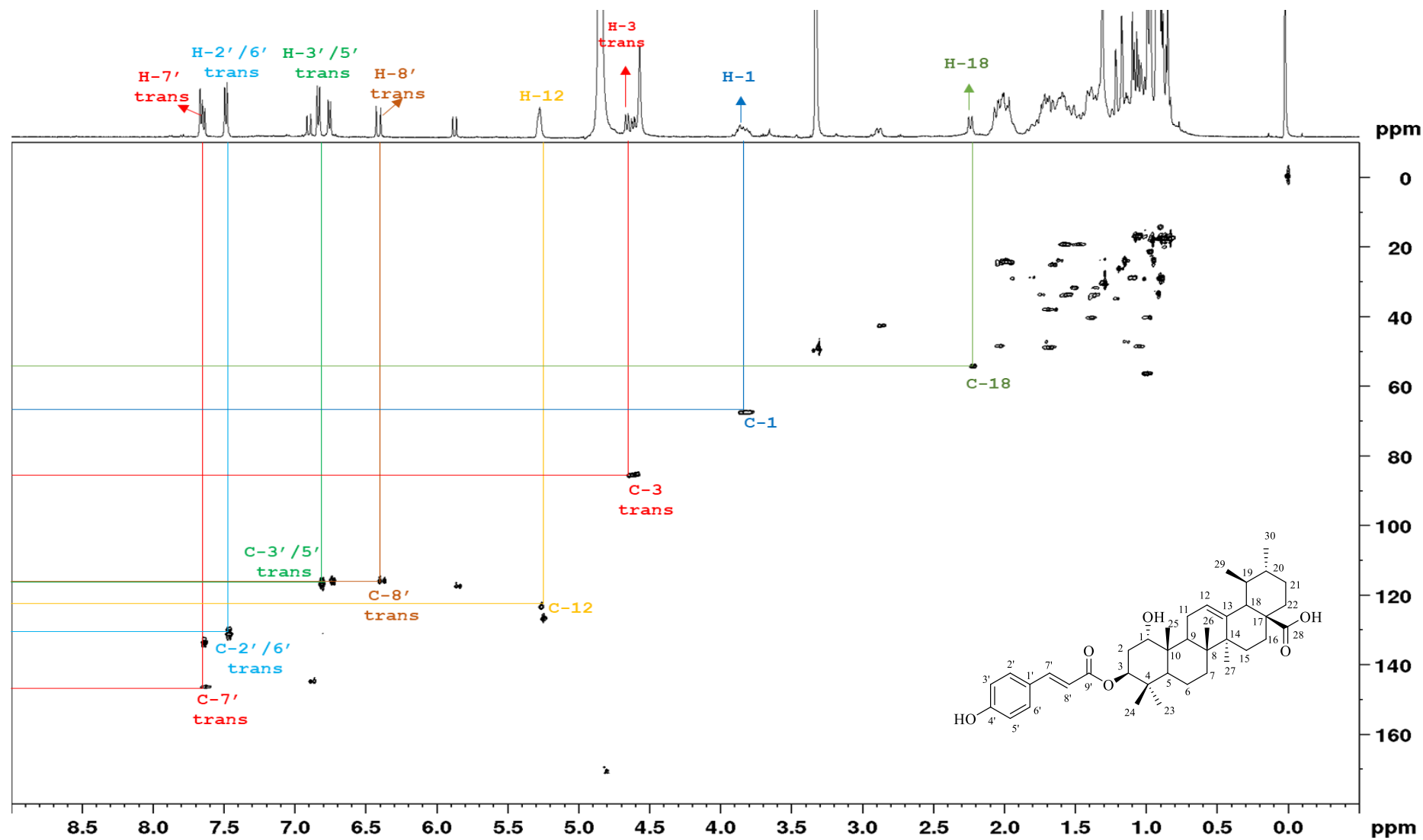
Fonte: Autora.

Figura 43-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias **IX** e **X** na região entre 4,8 e 4,5 ppm (MeOD, 500 MHz).



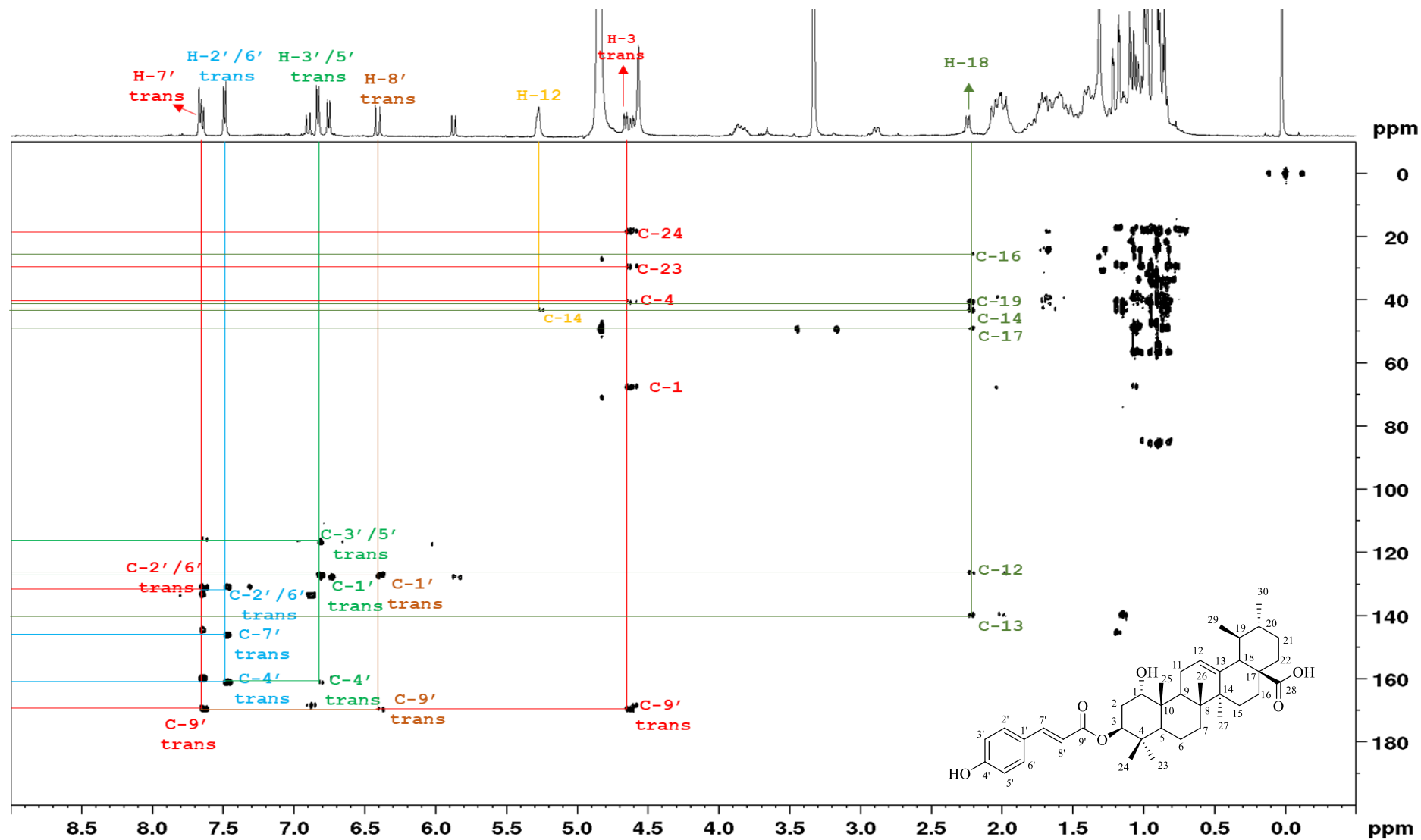
Fonte: Autora.

Figura 44-Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HSQC, da mistura das substâncias IX e X (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



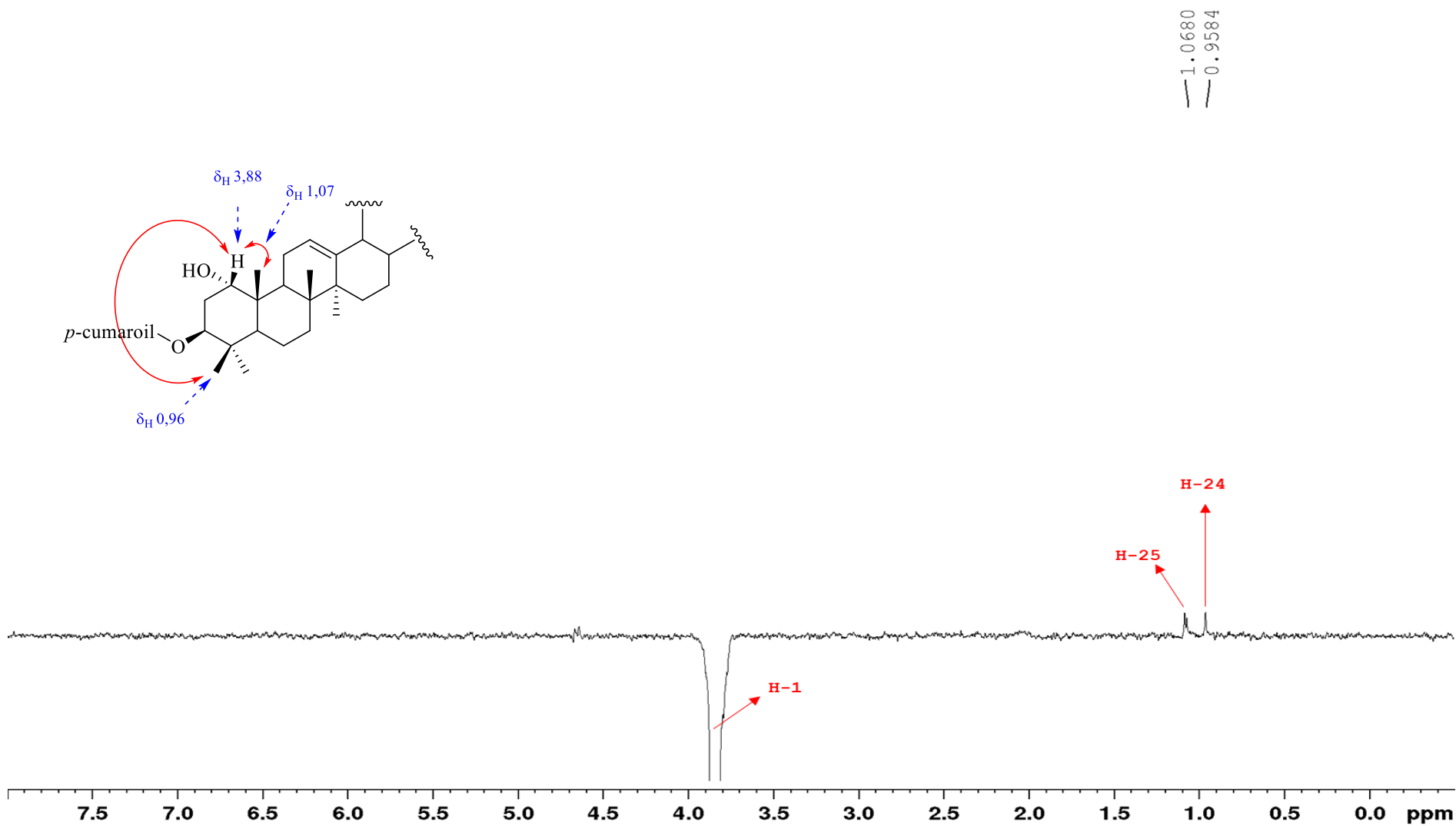
Fonte: Autora.

Figura 45-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da mistura das substâncias IX e X (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



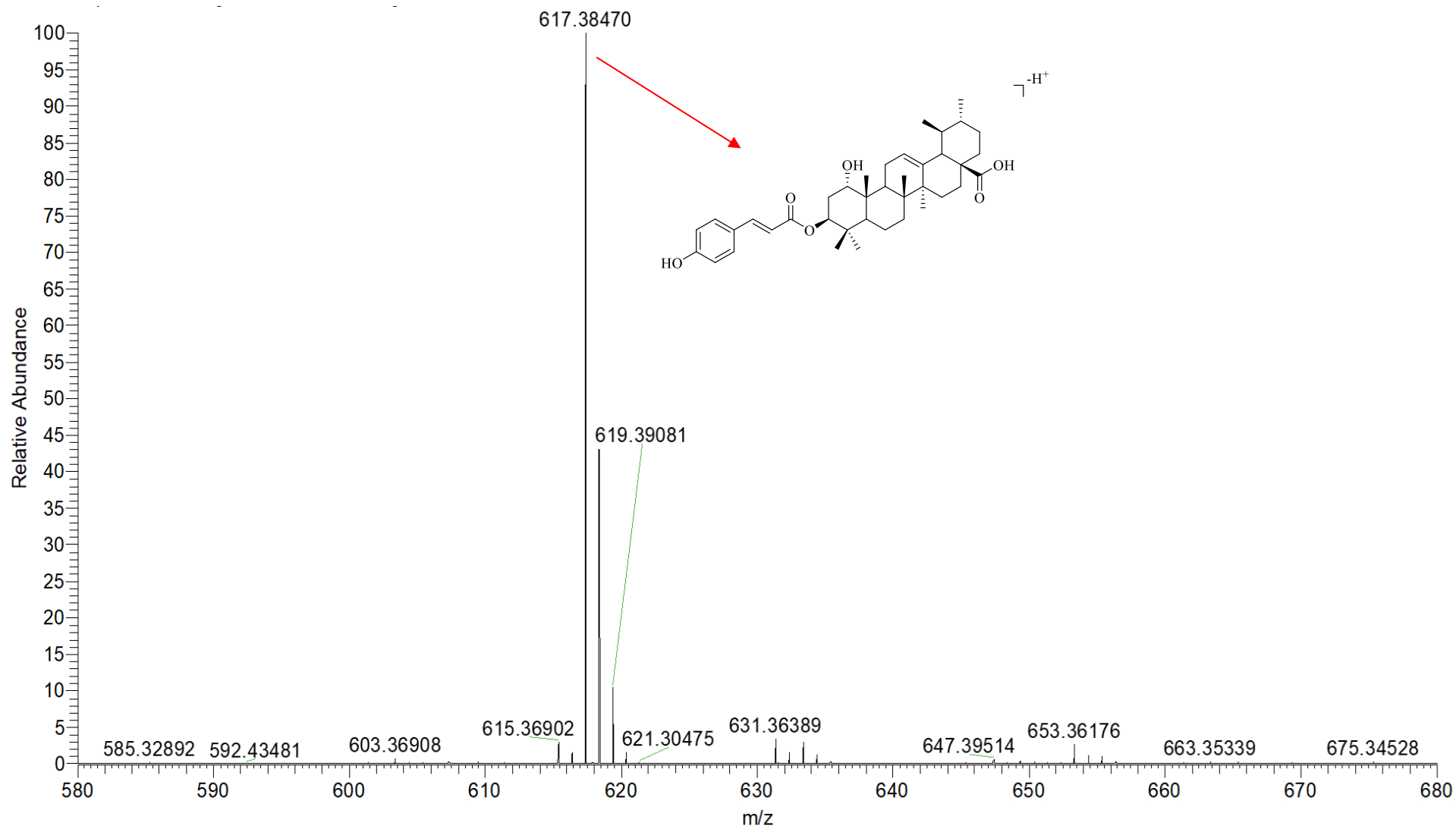
Fonte: Autora.

Figura 46-Espectro NOE da mistura das substâncias **IX** e **X** (MeOD, ^1H 500 MHz), com irradiação do sinal em 3,88 ppm.

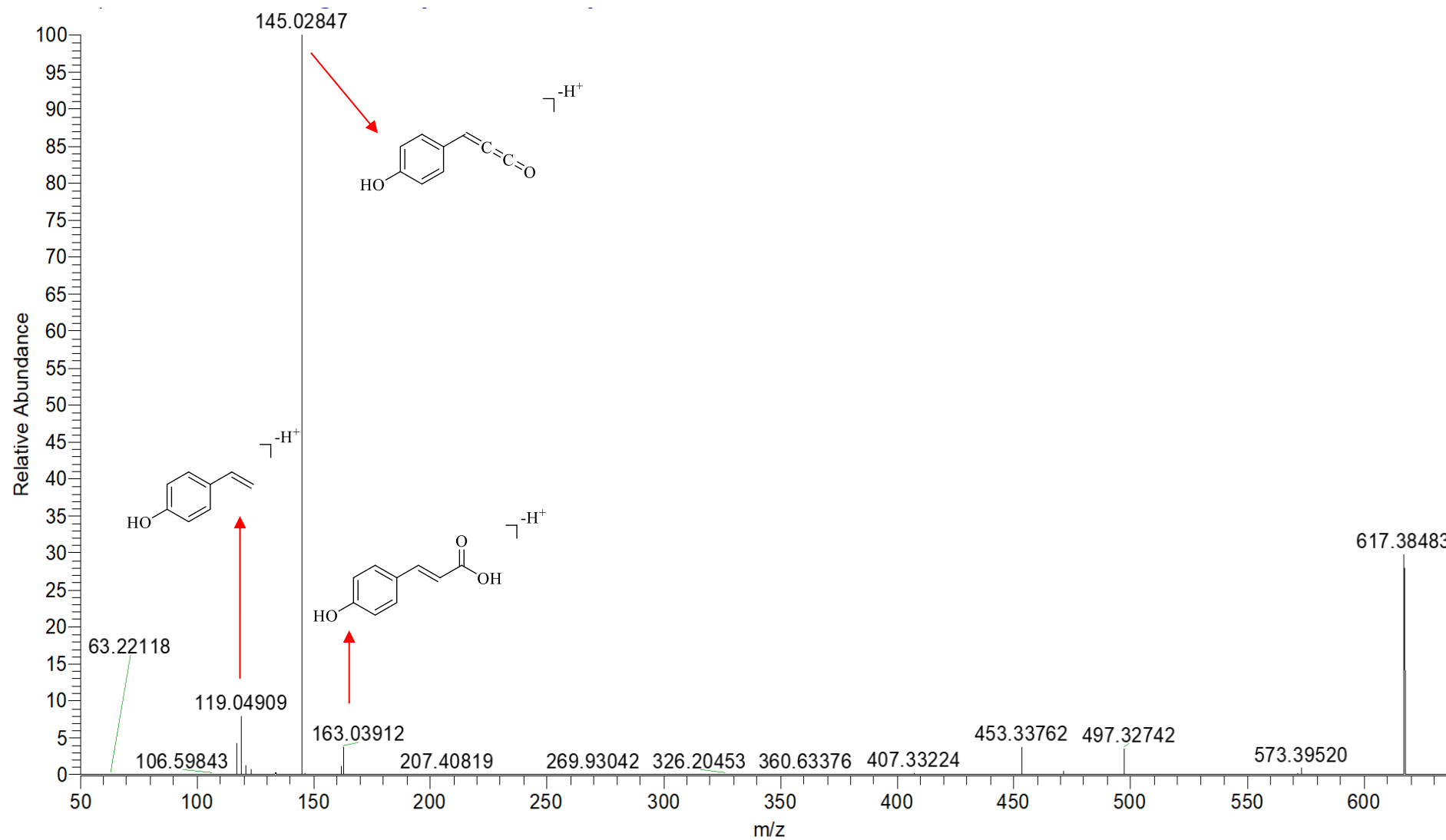


Fonte: Autora.

Figura 47-Espectro de massas de alta resolução no modo negativo da mistura das substâncias IX e X.



Fonte: Autora.

Figura 48-Espectro MS/MS do íon $[M-H]^-$ com m/z 617,38470.

Fonte: Autora.

5.2.2 IDENTIFICAÇÃO DAS SAPONINAS

5.2.2.1 Identificação das substâncias XI e XII

A substância **XI** foi identificada em mistura com a substância **XII**. Elas foram obtidas da fração metanólica das folhas, apresentando-se como um sólido amorfo branco, e foram identificadas através da análise de experimentos de RMN em uma e duas dimensões e espectrometria de massas de alta resolução.

O espectro de RMN de ^1H (Figuras 52-56) mostrou um multipletto centrado em δ_{H} 5,28 (1H, *m*), referente ao H-12 olefínico característico de um esqueleto triterpênico com dupla ligação entre os carbonos C-12 e C-13. Foram observados também sinais em δ_{H} 2,88 (1H, *dd*, $^3J = 14,3$ e $3,5$ Hz) e δ_{H} 2,25 (1H, *d*, $^3J = 10,6$ Hz), referentes aos hidrogênios H-18 dos esqueletos oleano e ursano, respectivamente.

A presença de sinais referentes à hidrogênios anoméricos em δ_{H} 5,39 (1H, *d*, $^3J = 8,1$ Hz) e δ_{H} 5,36 (1H, *d*, $^3J = 8,1$ Hz) indicou a presença de glicosídeo na estrutura, o que foi corroborado pelos multipletos relativos à hidrogênios carbinólicos na região entre δ_{H} 3,82 e 3,28. Estas informações levaram à sugestão de que a amostra em questão se tratava de uma mistura de saponinas triterpênicas de esqueletos oleano e ursano.

Foram observados sinais de hidrogênios oximetínicos em δ_{H} 3,70 (1H, *m*) e δ_{H} 3,37 (1H, *dd*, $^3J = 9,1$ e $2,5$ Hz), além de dois sinais de hidrogênios oximetilênicos em δ_{H} 3,52 (1H, *d*, $^2J = 11,1$ Hz) e δ_{H} 3,28 (1H, *d*, $^2J = 11,1$ Hz). Os sinais entre δ 2,08-0,71 foram atribuídos aos H metílicos, metilênicos e metínicos dos esqueletos triterpênicos.

No mapa de contorno de HSQC (Figuras 57 e 58), pôde-se observar que o multipletto em δ_{H} 3,70 apresenta correlação com um sinal de carbono em δ_{C} 69,7; atribuído ao carbono C-1 do triterpeno. No espectro de HMBC (Figuras 59 e 60), observou-se a correlação deste multipletto a três ligações (3J) com o carbono em δ_{C} 78,8; atribuído ao C-3.

Os dupletos em δ_{H} 3,52 e δ_{H} 3,28 mostraram correlação com o mesmo sinal de carbono em δ_{C} 66,4 (HSQC), o qual foi atribuído ao carbono C-23. No espectro de HMBC estes dupletos mostraram correlação com os sinais em δ_{C} 13,9 (C-24, 3J), δ_{C} 44,2 (C-4, 2J), δ_{C} 48,2 (C-5, 3J) e δ_{C} 78,8 (C-3, 3J).

O duplo dupletto em δ_{H} 3,37 mostrou, no espectro de HSQC, correlação com o sinal de carbono em δ_{C} 78,8; atribuído ao C-3. No espectro de HMBC este duplo dupletto mostrou correlação com os sinais em δ_{C} 13,9 (C-24, 3J), δ_{C} 44,2 (C-4, 2J), δ_{C} 66,4 (C-23, 3J) e δ_{C} 69,7 (C-1, 3J).

Os sinais de hidrogênios anoméricos em δ_H 5,39 e δ_H 5,36 mostraram correlação com o carbono em δ_C 95,7 no espectro de HSQC e com o sinal em δ_C 177,9 (C-28, 3J) no espectro de HMBC. Esta última correlação confirmou a ligação da unidade glicosídica ao triterpeno através do carbono C-28. De acordo com Mahato e Kundu⁶¹, a glicosilação do grupo carboxila causa diminuição de 2-5 ppm no deslocamento químico do carbono C-28, que no triterpeno livre tem δ_C em torno de 181,0 ppm; assim como promove diminuição no deslocamento químico do carbono anomérico para δ_C 93-97 ppm. Estes dados corroboram a ligação do açúcar à aglicona através do C-28.

Além da presença dos sinais de hidrogênios anoméricos, outros cinco sinais duplicados de átomos de carbono em 73,9 (C-2'), 78,4 (C-3'), 71,2 (C-4'), 78,3 (C-5') e 62,5 (C-6') no espectro de RMN de ^{13}C (Figuras 61-63) confirmaram a presença de uma unidade de glicose ligada à cada triterpeno.

Conforme descrito por Harborne e Mabry⁶⁹, a configuração de um glicosídeo ligado à aglicona pode ser determinada por meio do valor da constante de acoplamento do sinal do hidrogênio anomérico. A Tabela 11 mostra a relação entre as constantes de acoplamento e as estereoquímicas das ligações entre alguns glicosídeos e a aglicona.

Tabela 11-Configuração e constante de acoplamento J (Hz) dos principais glicosídeos.

Grupo	Glicosídeo	Configuração	$J_{H-1''/H-2''}$ (Hz)
Piranosídeo	D-glicose, galactose, xilose	β	7-8
	D-glicose, galactose, xilose	α	3-4
	L-ramnose	β	1
	L-ramnose	α	2
	L-arabinose	β	2,5
	L-arabinose	α	8
Furanosídeo	D-glicose, galactose, xilose	β	0-2
	D-glicose, galactose, xilose	α	4-4,5
	L-arabinose	β	4
	L-arabinose	α	1

Fonte: Harborne e Mabry⁶⁹

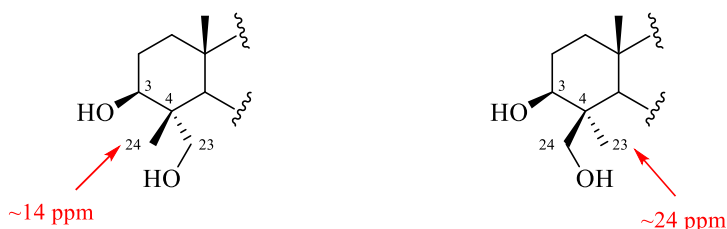
Deste modo, com base na constante de acoplamento dos hidrogênios anoméricos ($J = 8,1$ Hz) e pelos típicos sinais de RMN de 1H e ^{13}C ⁷⁰, a unidade de açúcar das substâncias foi determinada como β -glicopiranosose.

A estereoquímica do carbono C-1 foi definida com base nos espectros de NOE (Figuras 64 e 65). Ao se irradiar o sinal em δ_H 3,70 (H-1) foram observados incrementos nos sinais em δ_H 1,06 (H-25) e em δ_H 0,71 (H-24). Ao se irradiar o sinal em δ_H 1,06 (H-25), foram observados incrementos nos sinais em δ_H 3,70 (H-1), δ_H 1,98 (H-2), δ_H 0,82 (H-26) e δ_H 0,71 (H-24).

A estereoquímica do carbono C-3, por sua vez, foi definida com base na constante de acoplamento do sinal de hidrogênio em δ_H 3,37 (*dd*, $^3J = 9,1$ e $2,5$ Hz), atribuído ao H-3. A constante de acoplamento de $9,1$ Hz indicou que H-3 está na posição axial e acopla com o hidrogênio H-2 β com *J* diaxial⁶². Deste modo, a hidroxila está ligada ao C-3 pela face β .

Os deslocamentos químicos dos sinais atribuídos ao C-23 (δ_C 66,4) e ao C-24 (δ_C 13,9) sugerem que o grupo hidroximetilênico esteja orientado na posição α -equatorial em C-4. Estudos anteriores estabelecem que, em triterpenos com grupo hidroximetilênico ligado ao C-4, a metila 4- β apresenta deslocamento químico cerca de 10 ppm menor do que a correspondente metila orientada na posição α (δ_C cerca de $24,0$) (Figura 49)^{71,72}.

Figura 49-Deslocamentos químicos dos carbonos C-23 e C-24 nas posições α e β .

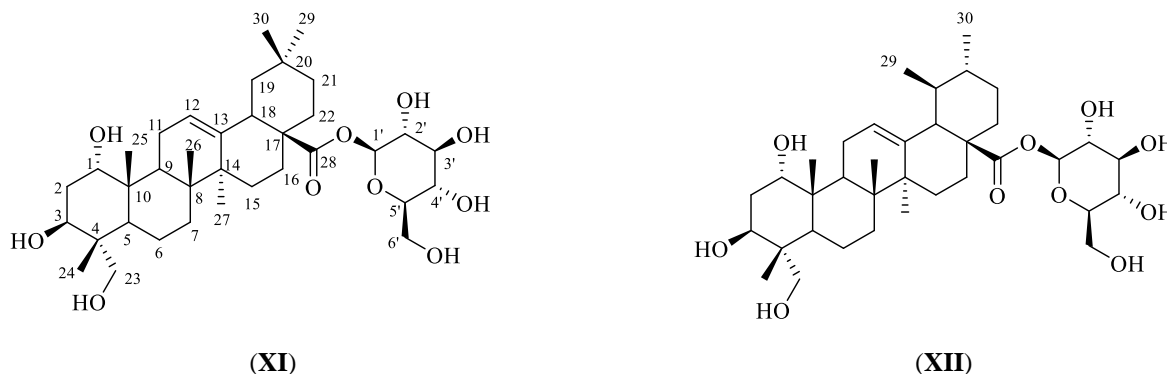


Fonte: Fullas et al.

No espectro de massas de alta resolução em modo positivo (Figura 66) o pico do íon molecular $[M+Na]^+$ foi observado em m/z 673,39294. Para este íon, a fórmula molecular calculada foi $C_{36}H_{58}O_{10}Na$ (erro de $1,071$ ppm). O espectro MS/MS do íon em m/z 673,39294 (Figura 67) apresentou um fragmento principal em m/z 511,33960; correspondente à perda da unidade glicopiranosídica, $[M+Na-162]^+$; além de um pico em m/z 185,04211; correspondente ao aduto da glicose com sódio.

Deste modo, as estruturas das substâncias **XI** e **XII** foram definidas como sendo o éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido $1\alpha,3\beta,23$ -tri-hidroxi-olean-12-en-28-oico e o éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido $1\alpha,3\beta,23$ -tri-hidroxi-urs-12-en-28-oico (Figura 50), duas saponinas inéditas na literatura até o momento.

Figura 50-Estruturas das substâncias **XI** e **XII**, identificadas como éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-olean-12-en-28-oico e éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-urs-12-en-28-oico.



Fonte: autora.

A comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância **XI** com o ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-olean-12-en-28-oico, a aglicona de **XI** (Tabela 12), revelou semelhanças, exceto pelo sinal do C-28, que na saponina é mais blindado em relação ao triterpeno, conforme explicado anteriormente. Observou-se também, na comparação dos dados de RMN, que os sinais atribuídos aos carbonos C-10 e C-14 estão invertidos na proposta de Fullas et al.⁷¹. O deslocamento químico correto de C-10 é δ_{C} 39,1, enquanto o deslocamento químico de C-14 é δ_{C} 43,1. Estes valores estão de acordo com os de triterpenos do tipo oleano e ursano⁶¹ e podem ser confirmados através das seguintes correlações observadas no espectro de HMBC: δ_{C} 39,1 (C-10) com δ_{H} 1,06 (H-25, 2J) e δ_{C} 43,1 (C-14) com δ_{H} 1,19 (H-27, 2J).

Tabela 12-Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) da aglicona da substância **XI** em comparação com os dados de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) e ^{13}C (piridina- d_5 , 125 MHz) do ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-olean-12-en-28-oico. (continua)

H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XI	Fullas et al. ⁷¹	Substância XI	Fullas et al. ⁷¹
1	3,70 (<i>m</i>)	4,22 (<i>m</i>)	69,7	68,9
2	1,97 (<i>m</i>)	1,42 (<i>m</i>) e 2,28 (<i>m</i>)	48,0	47,7
3	3,37 (<i>dd</i> , $^3J = 9,1$ e $2,5$)	4,24 (<i>dd</i> , $^3J = 9,5$ e $4,3$)	78,8	78,2
4			44,2	42,2
5			48,2	47,9
6			19,1	18,5
7			33,7	33,2

Cont. Tabela 12

H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XI	Fullas et al. ⁷¹	Substância XI	Fullas et al. ⁷¹
8			40,7	40,0
9			48,3	48,2
10			39,1	43,6
11			24,1	23,6
12	5,28 (<i>m</i>)	5,45 (<i>brs</i>)	123,6	123,7
13			145,1	144,9
14			43,1	38,5
15			28,9	28,3
16			24,7	23,9
17			48,2	46,6
18	2,88 (<i>dd</i> , $^3J = 14,3$ e $3,5$)	3,26 (<i>dd</i> , $^3J = 13,8$ e $4,0$)	42,7	42,2
19			47,3	46,4
20			31,7	30,9
21			34,9	34,2
22			33,6	33,2
23	3,52 e 3,28 (<i>d</i> , $^2J = 11,1$)	4,21 e 3,71 (<i>d</i> , $^2J = 10,0$)	66,4	66,5
24	0,71(<i>s</i>)	0,89 (<i>s</i>)	13,9	14,3
25	1,06 (<i>s</i>)	1,05 (<i>s</i>)	17,7	14,3
26	0,82 (<i>s</i>)	0,97 (<i>s</i>)	17,8	17,3
27	1,19 (<i>s</i>)	1,12 (<i>s</i>)	26,4	26,1
28			177,9	180,2
29	0,95 (<i>s</i>)	1,03 (<i>s</i>)	24,0	23,7
30	0,93 (<i>s</i>)	1,05 (<i>s</i>)	33,3	33,2

A Tabela 13 apresenta a proposta de atribuição dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C das substâncias **XI** e **XII**.

Tabela 13-Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) das substâncias **XI** e **XII**. (continua)

H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XI	Substância XII	Substância XI	Substância XII
1	3,70 (<i>m</i>)	3,70 (<i>m</i>)	69,7	69,7
2	1,97 (<i>m</i>)	1,97 (<i>m</i>)	48,0	48,0

Cont. Tabela 13

(continua)

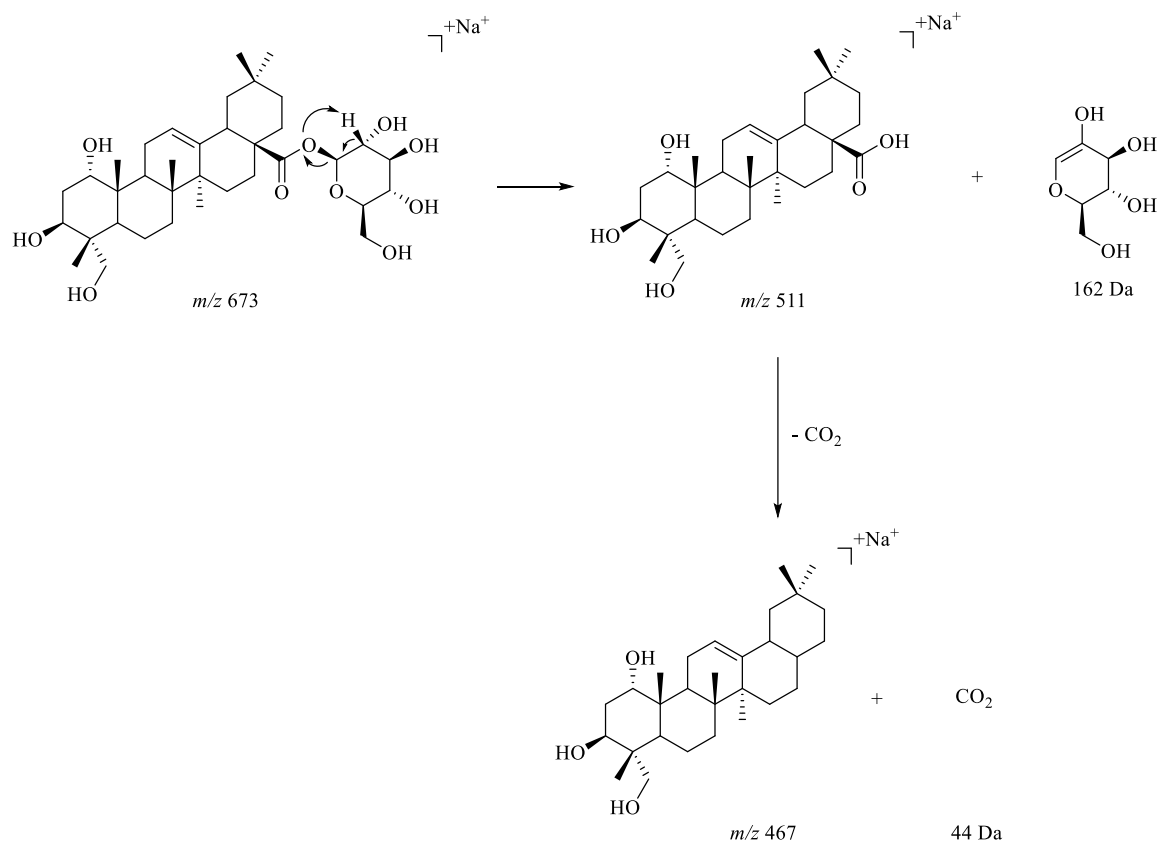
H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XI	Substância XII	Substância XI	Substância XII
3	3,37 (<i>dd</i> , ${}^3J = 9,1$ e $2,5$)	3,37 (<i>dd</i> , ${}^3J = 9,1$ e $2,5$)	78,8	78,7
4			44,2	44,2
5			48,2	48,2
6			19,1	18,0
7			33,7	33,2
8			40,7	41,0
9			48,3	48,1
10			39,1	37,5
11			24,1	24,0
12	5,28 (<i>m</i>)	5,28 (<i>m</i>)	123,6	127,0
13			145,1	139,3
14			43,1	43,5
15			28,9	29,2
16			24,7	25,3
17			48,2	48,2
18	2,88 (<i>dd</i> , ${}^3J = 14,3$ e $3,5$)	2,25 (<i>d</i> , ${}^3J = 10,6$)	42,7	54,2
19			47,3	40,3
20			31,7	39,0
21			34,9	30,8
22			33,6	37,5
23	3,52 e 3,28 (<i>d</i> , ${}^2J = 11,1$)	3,52 e 3,28 (<i>d</i> , ${}^2J = 11,1$)	66,4	66,3
24	0,71(<i>s</i>)	0,71(<i>s</i>)	13,9	13,9
25	1,06 (<i>s</i>)	1,06 (<i>s</i>)	17,7	17,8
26	0,82 (<i>s</i>)	0,82 (<i>s</i>)	17,8	19,1
27	1,19 (<i>s</i>)	1,15 (<i>s</i>)	26,4	24,5
28			177,9	177,9
29	0,95 (<i>s</i>)	0,90 (<i>s</i>)	24,0	17,7
30	0,93 (<i>s</i>)	0,98 (<i>s</i>)	33,3	21,6
1'	5,39 (<i>d</i> , ${}^3J = 8,1$)	5,36 (<i>d</i> , ${}^3J = 8,1$)	95,7	95,8
2'	3,33	3,33	73,9	73,9
3'	3,35	3,35	78,4	78,3
4'	3,39	3,39	71,2	71,2
5'	3,41	3,41	78,2	78,2

Cont. Tabela 13

H/C	δ_H (ppm), J (Hz)		δ_C (ppm)	
	Substância XI	Substância XII	Substância XI	Substância XII
6'	3,70 (<i>dd</i> , $^2J=11,9$ e $^3J=$ 4,1) e 3,82 (<i>m</i>)	3,70 (<i>dd</i> , $^2J=11,9$ e $^3J=$ 4,1) e 3,82 (<i>m</i>)	62,5	62,5

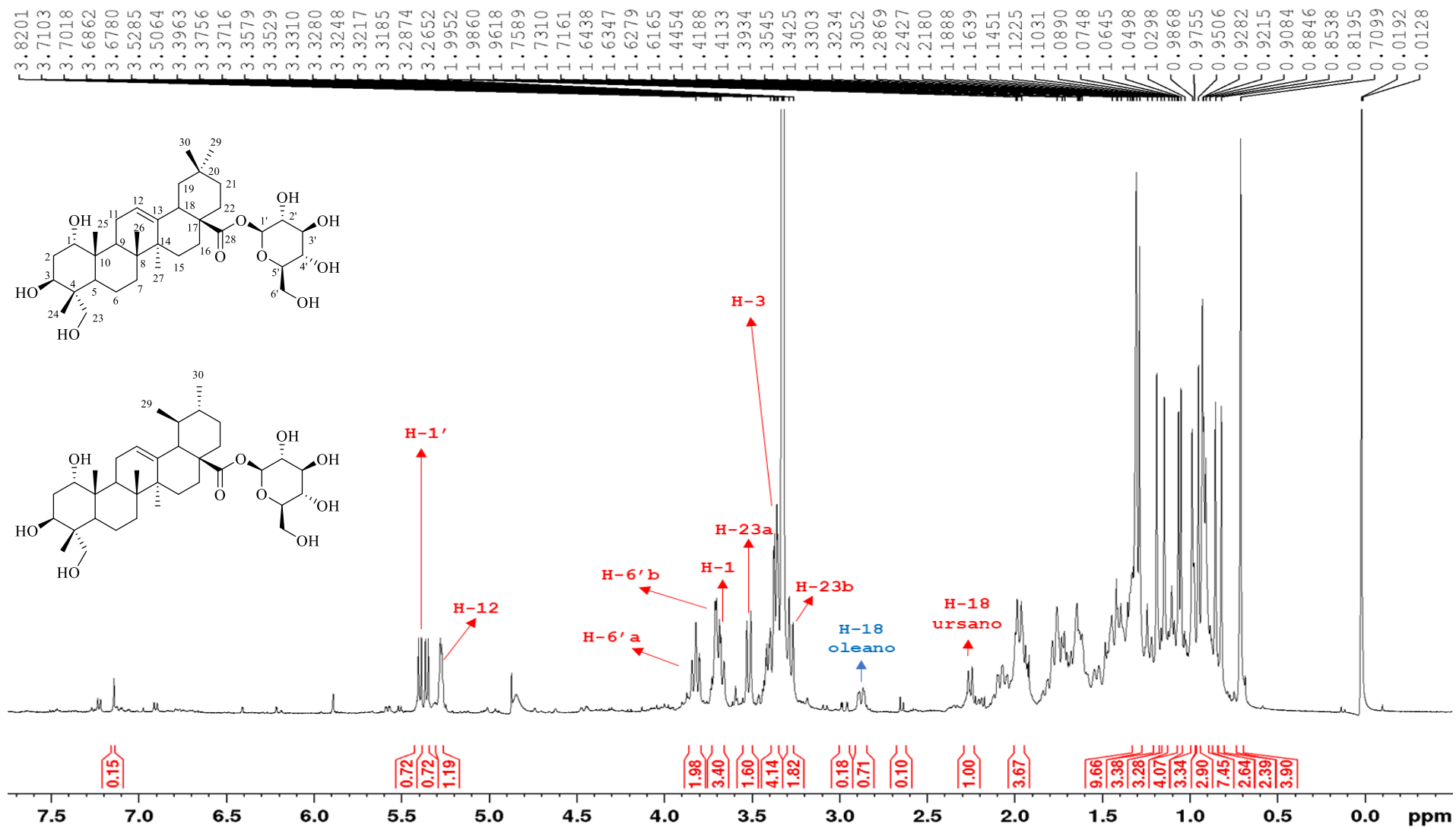
A proposta dos mecanismos de fragmentação da substância **XI** é apresentada da Figura 51.

Figura 51-Proposta de fragmentação para a substância **XI**.



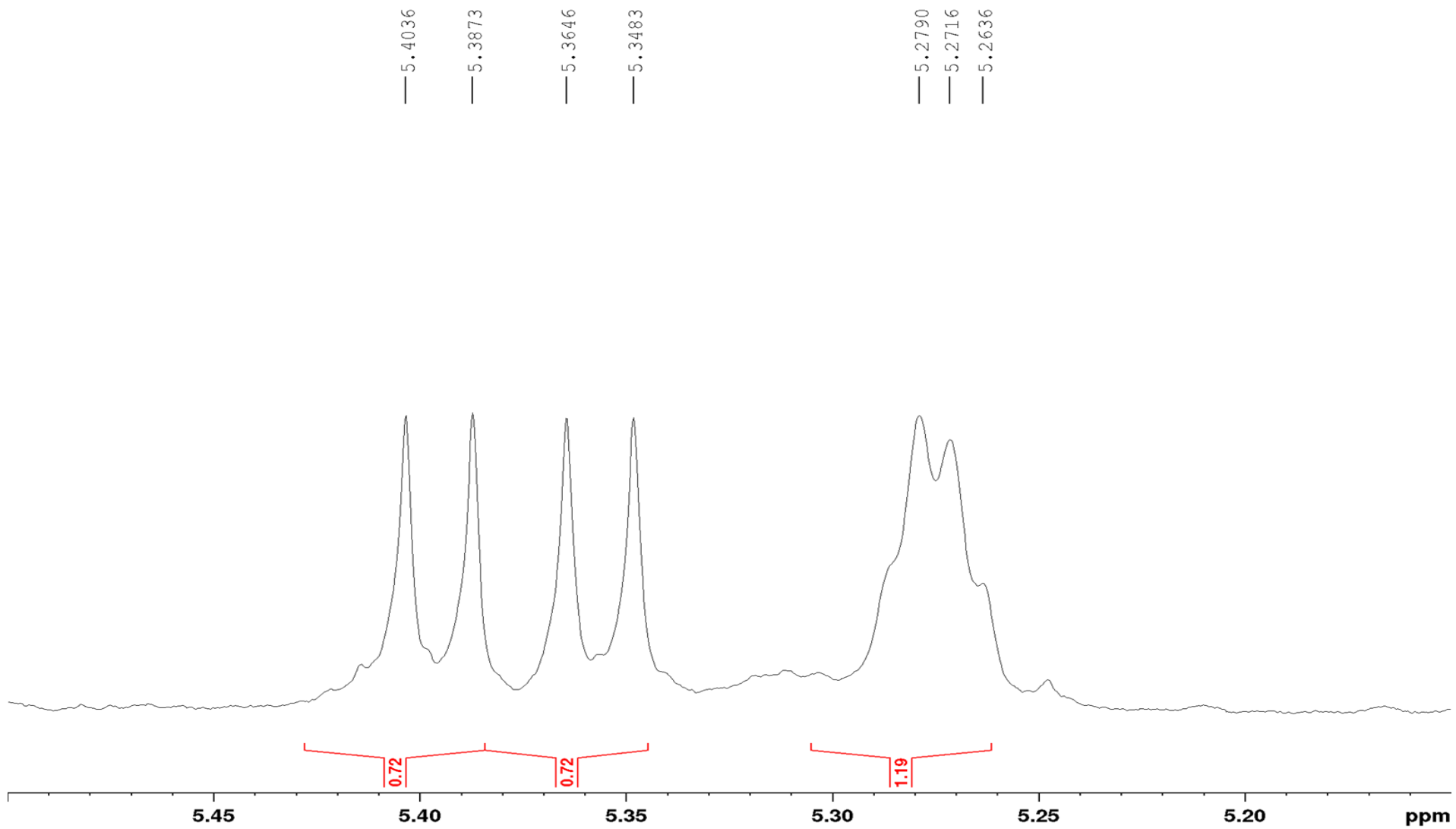
Fonte: autora.

Figura 52-Espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias XI e XII (MeOD, 500 MHz).



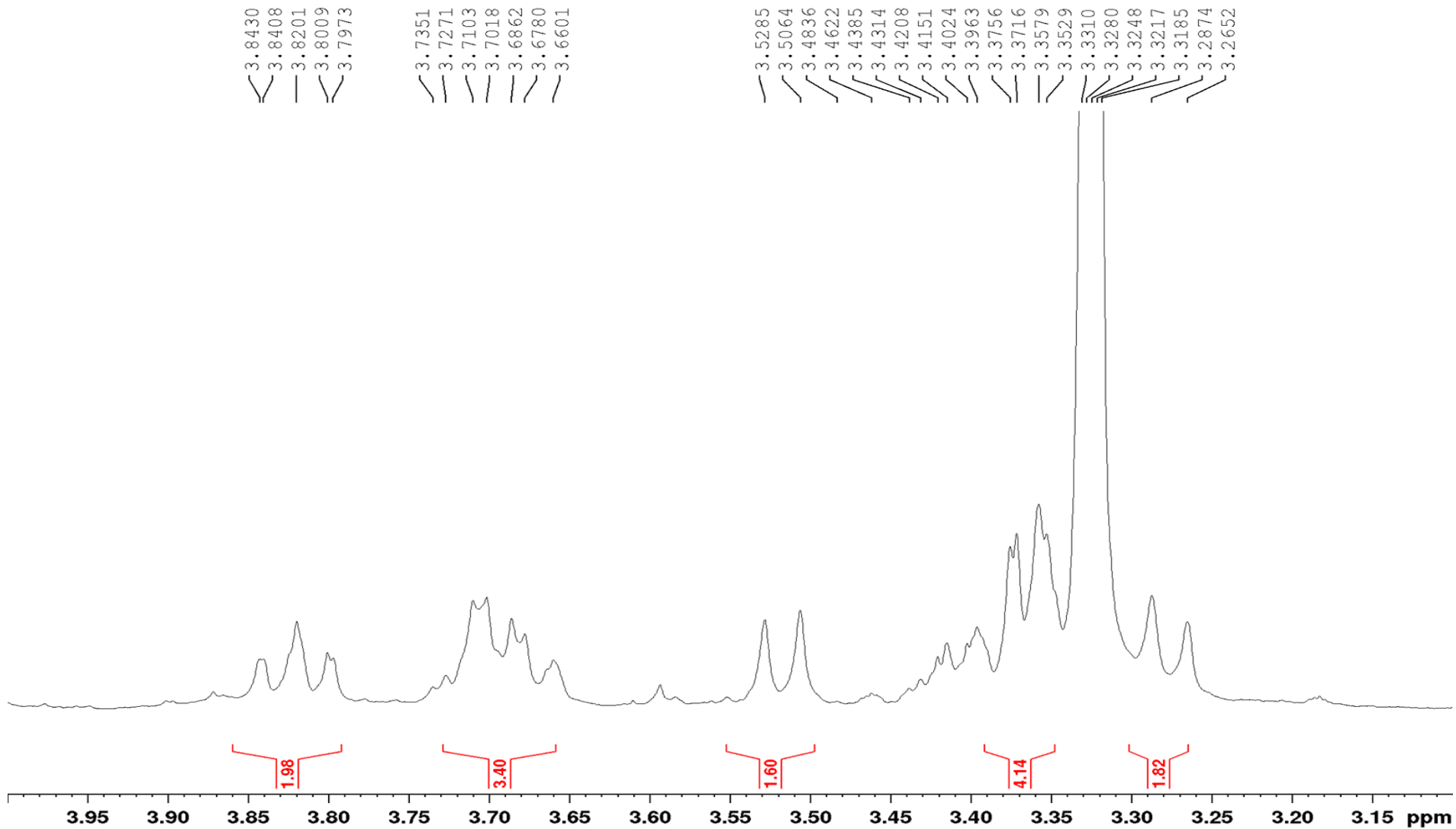
Fonte: Autora.

Figura 53-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias **XI** e **XII** na região entre 5,5 e 5,1 ppm (MeOD, 500 MHz).



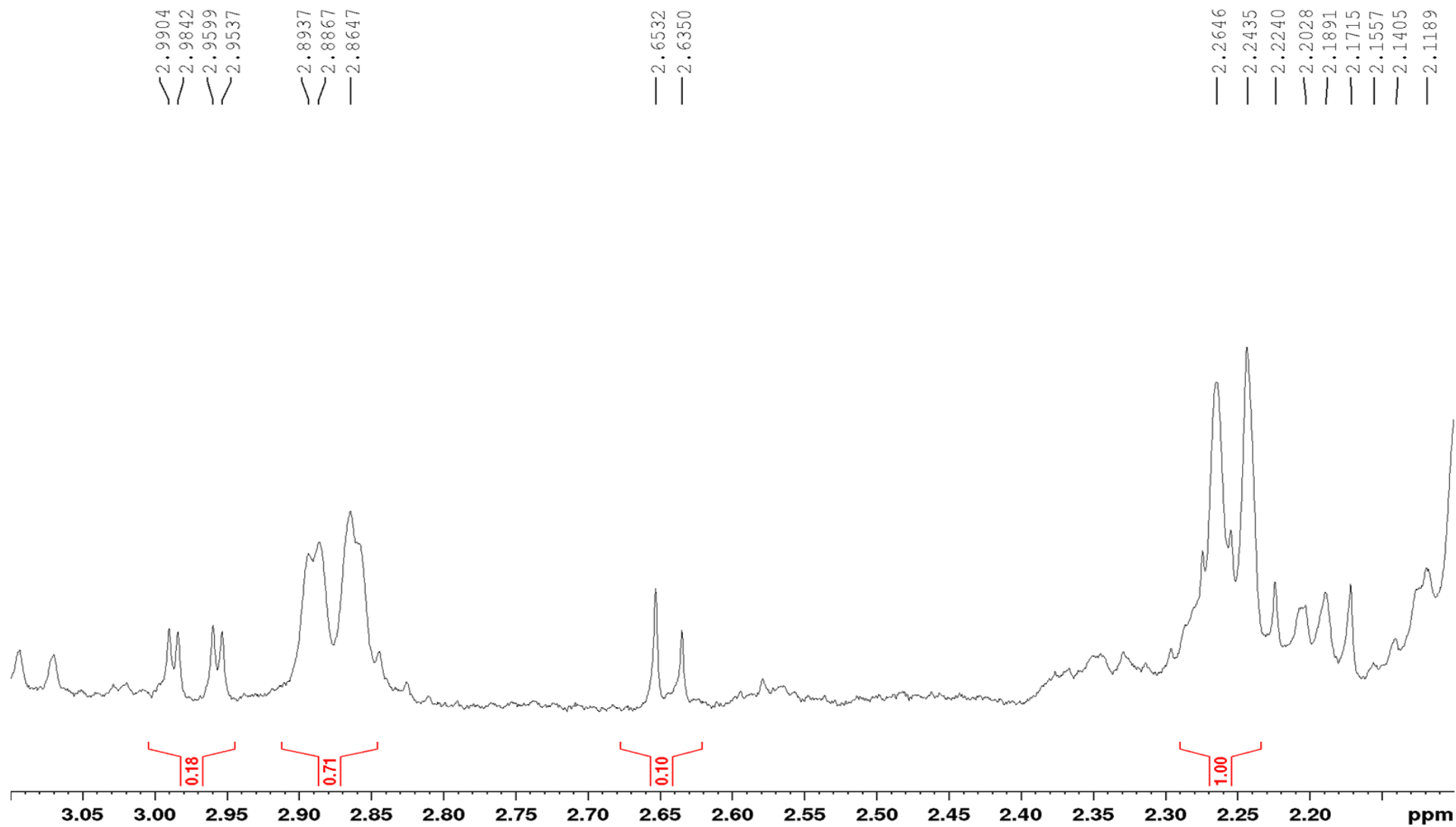
Fonte: Autora.

Figura 54-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias **XI** e **XII** na região entre 4,0 e 3,1 ppm (MeOD, 500 MHz).



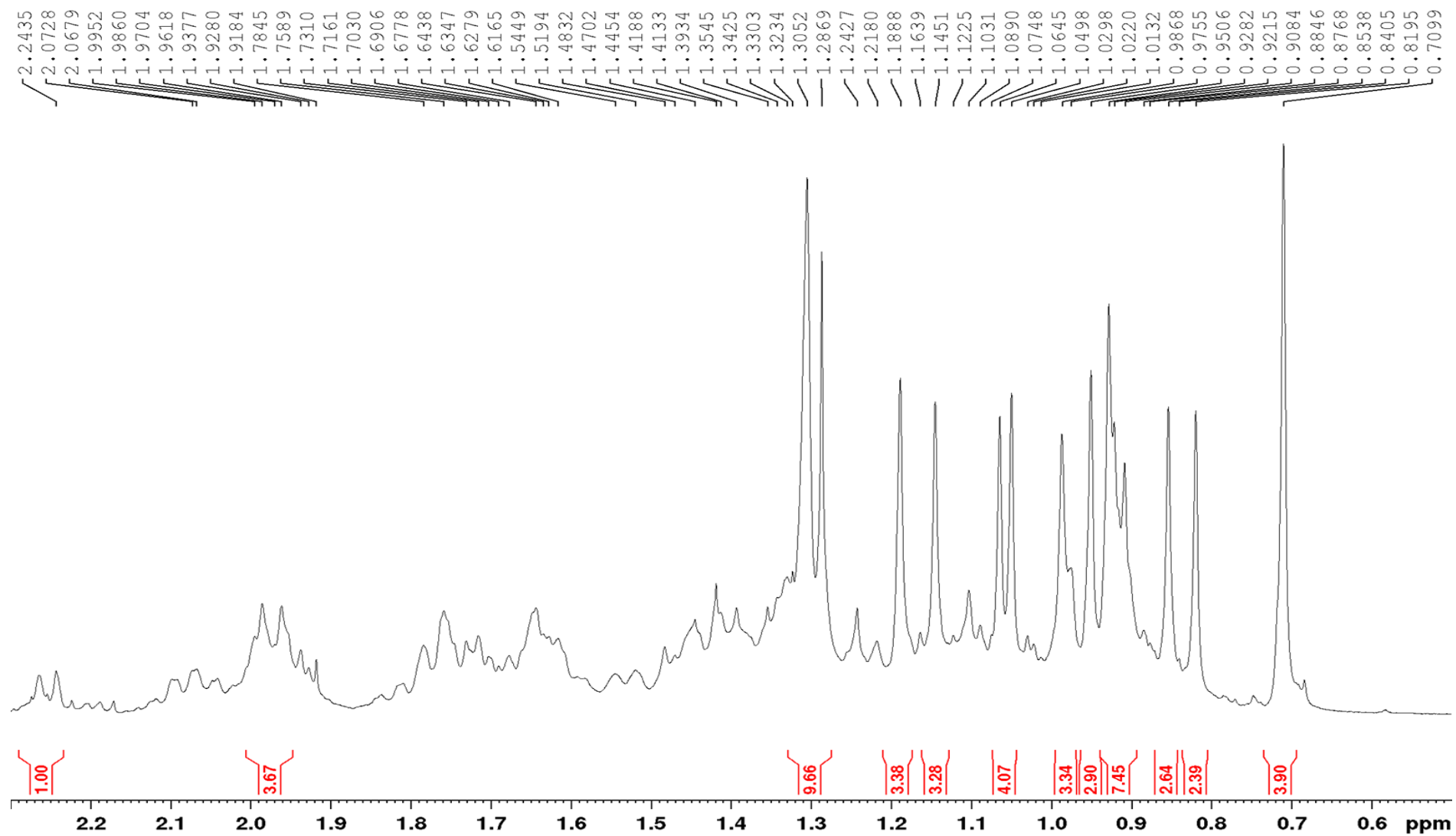
Fonte: Autora.

Figura 55-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias **XI** e **XII** na região entre 3,1 e 2,0 ppm (MeOD, 500 MHz).



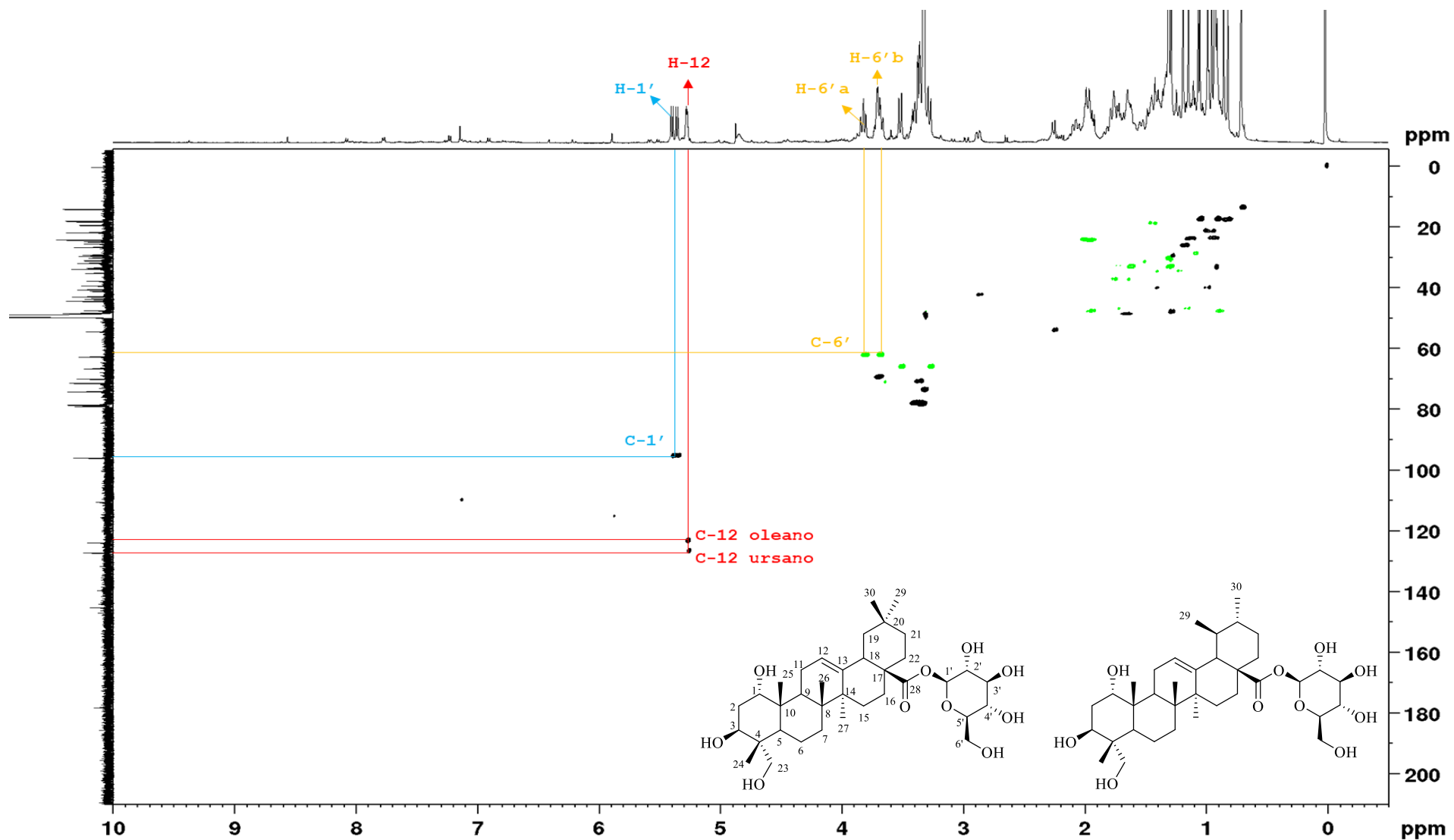
Fonte: Autora.

Figura 56-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias **XI** e **XII** na região entre 2,3 e 0,5 ppm (MeOD, 500 MHz).



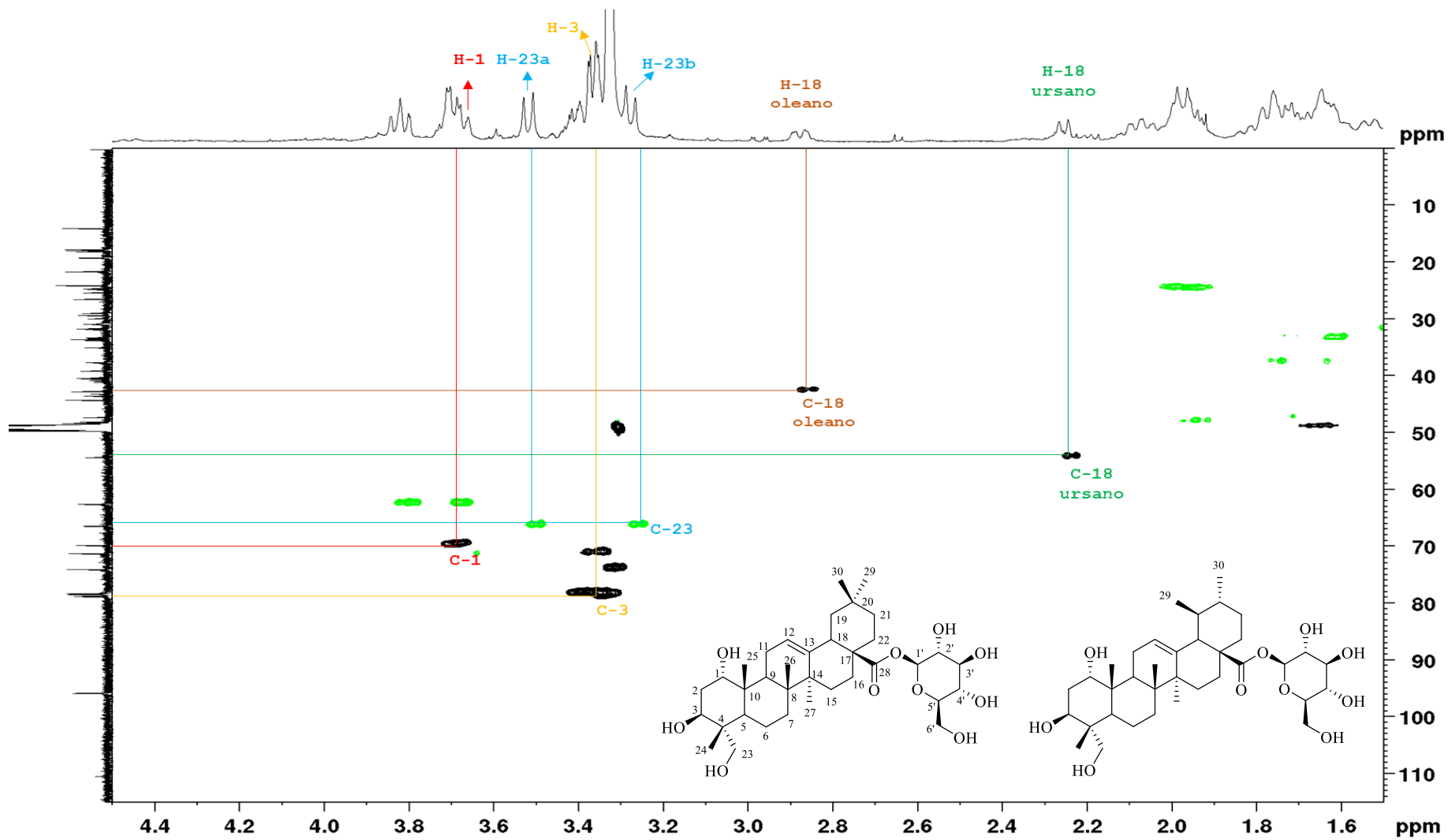
Fonte: Autora.

Figura 57-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da mistura das substâncias XI e XII (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



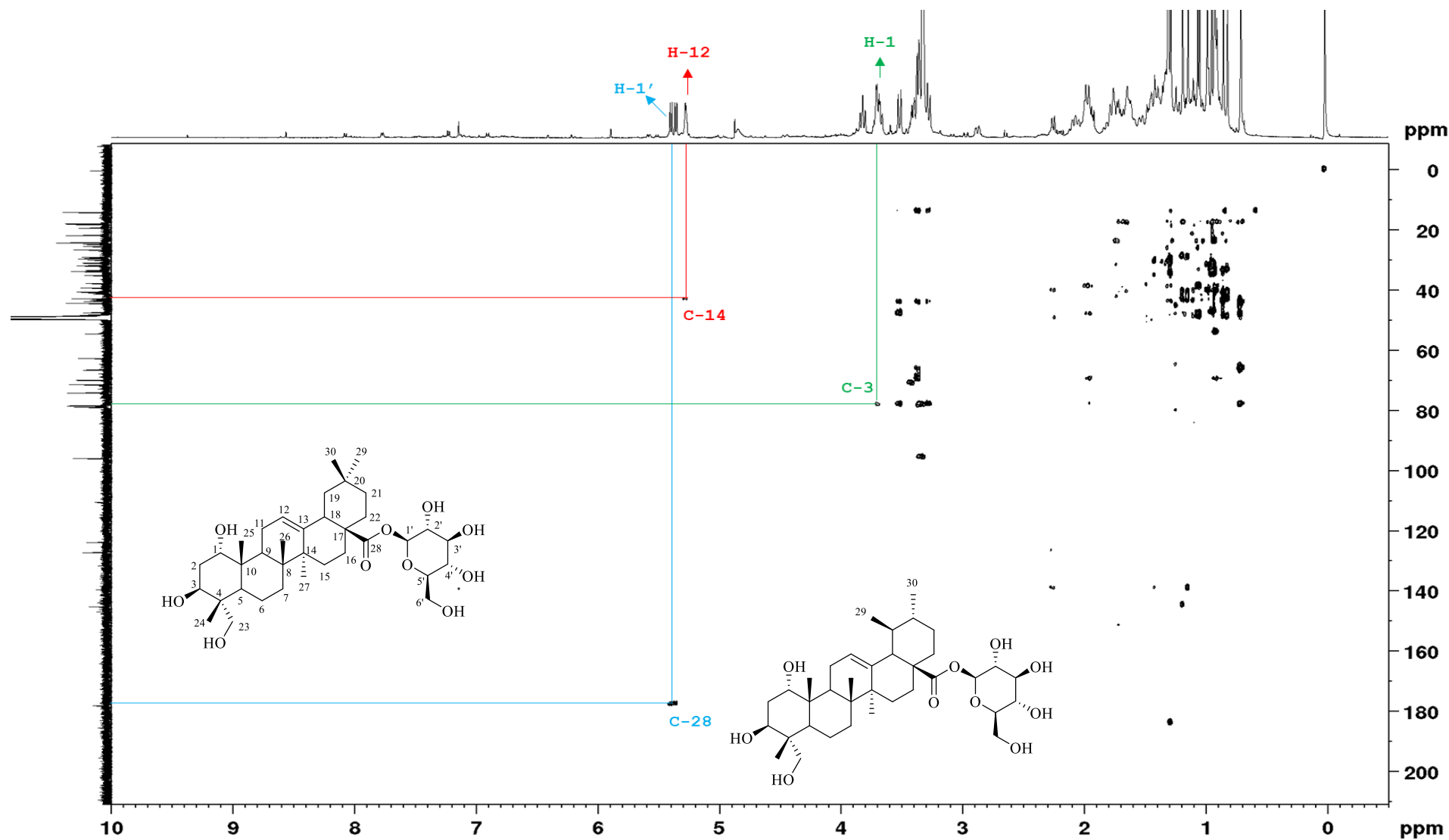
Fonte: Autora.

Figura 58-Ampliação do espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da mistura das substâncias **XI** e **XII** (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



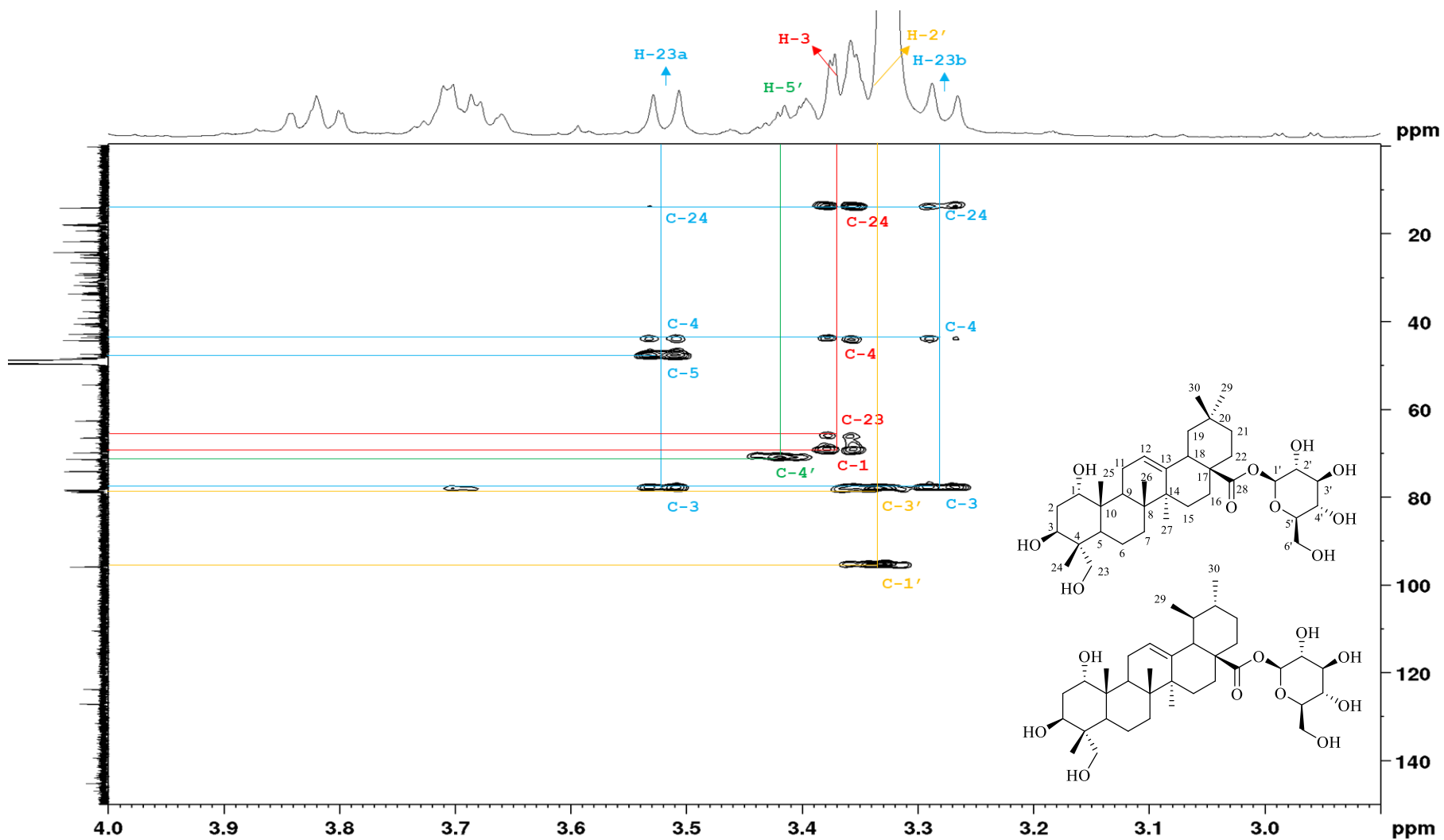
Fonte: Autora.

Figura 59-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da mistura das substâncias **XI** e **XII** (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



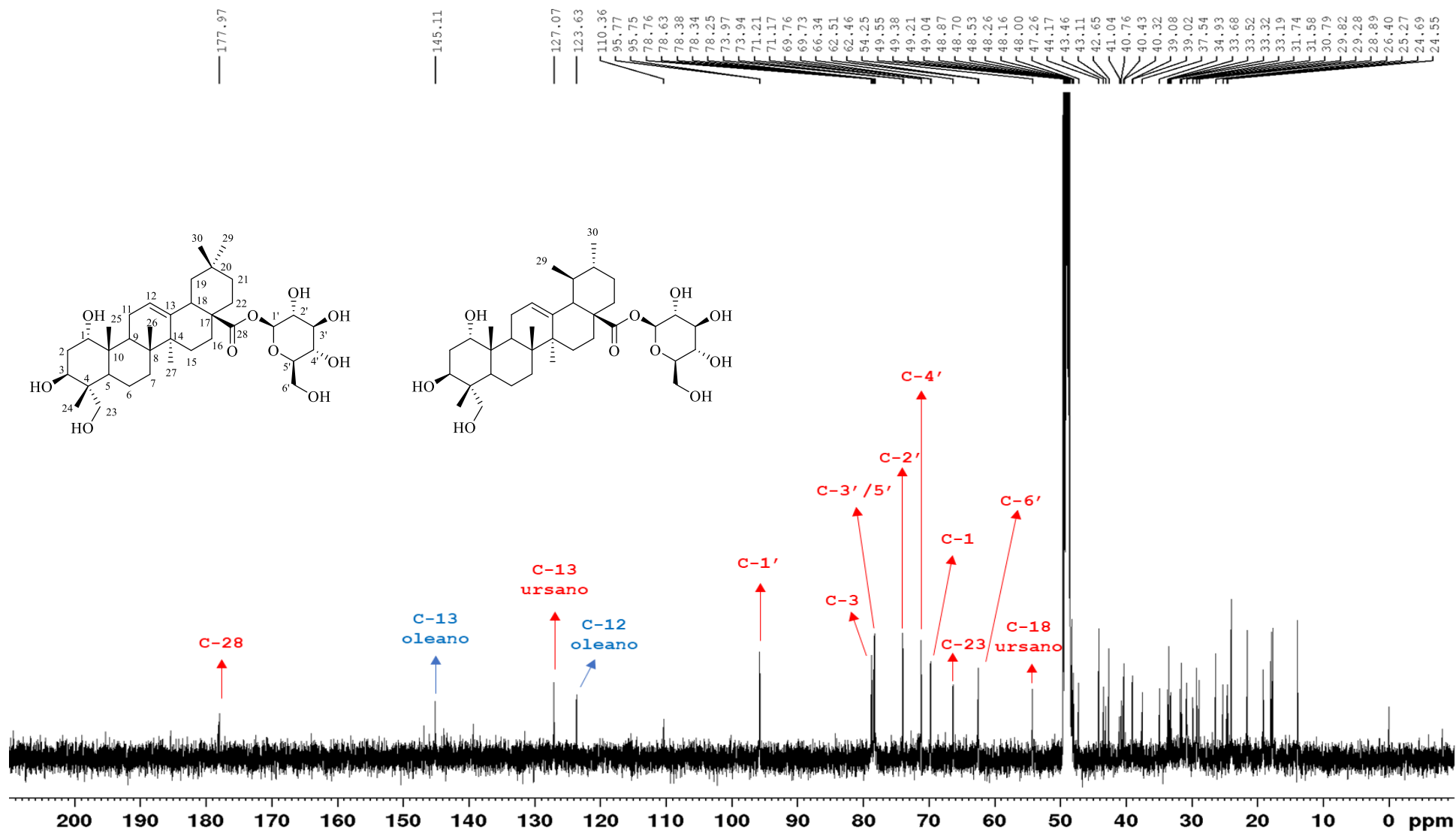
Fonte: Autora.

Figura 60-Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, da mistura das substâncias **XI** e **XII** (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



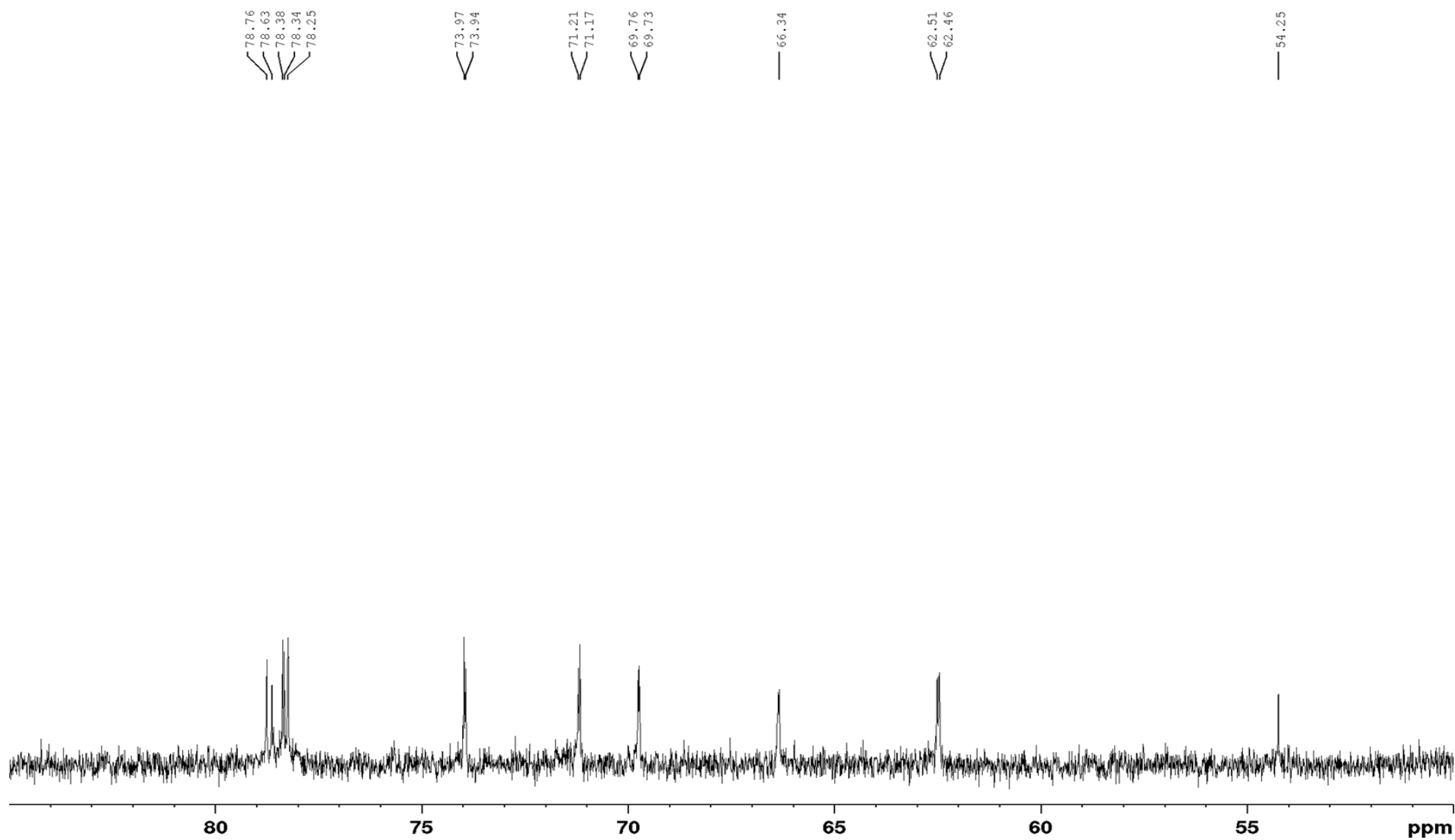
Fonte: Autora.

Figura 61-Espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias **XI** e **XII** (MeOH, 125 MHz).



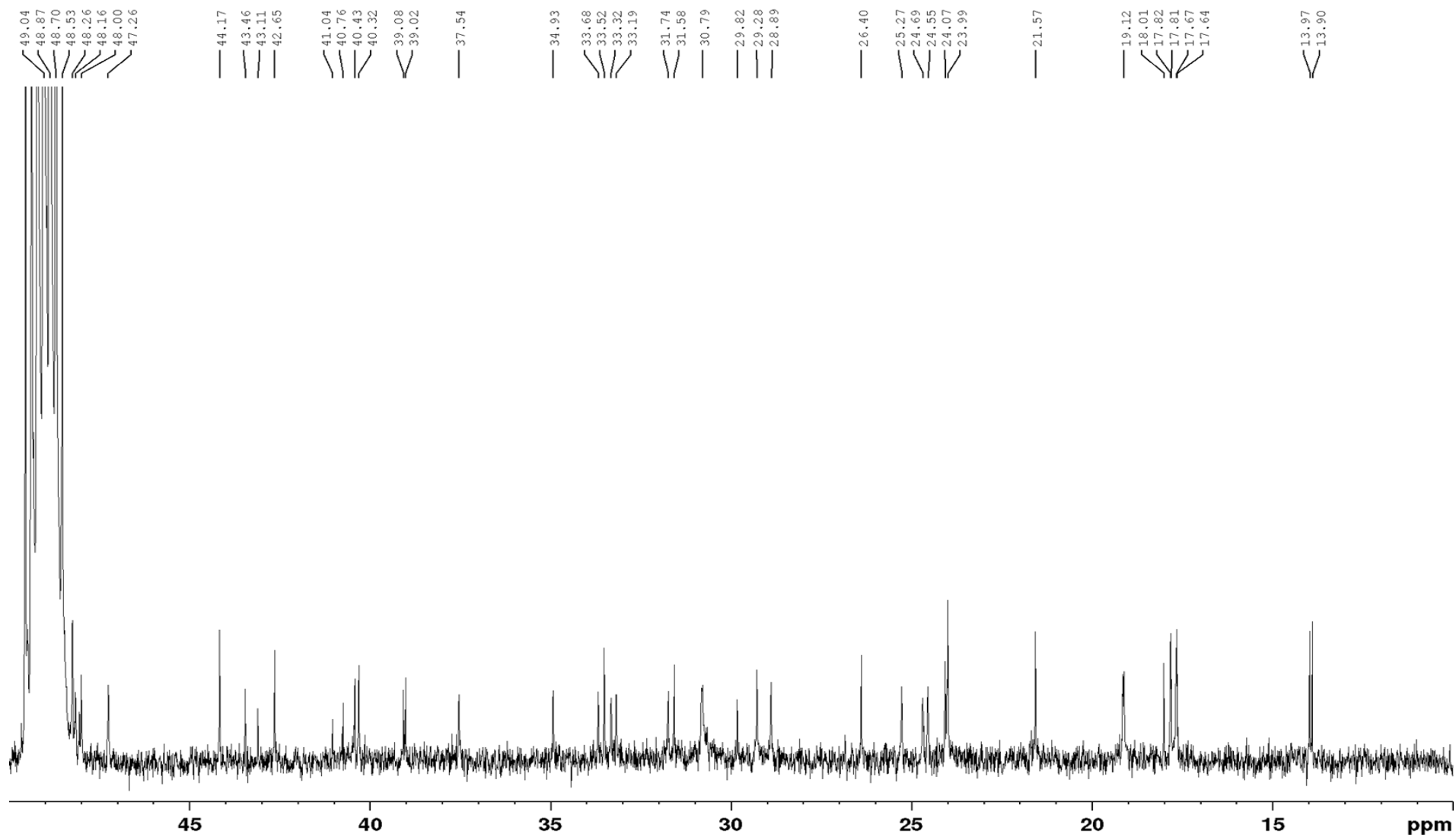
Fonte: Autora.

Figura 62-Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias **XI** e **XII** na região entre 85,0 e 50,0 ppm (MeOD, 125 MHz).



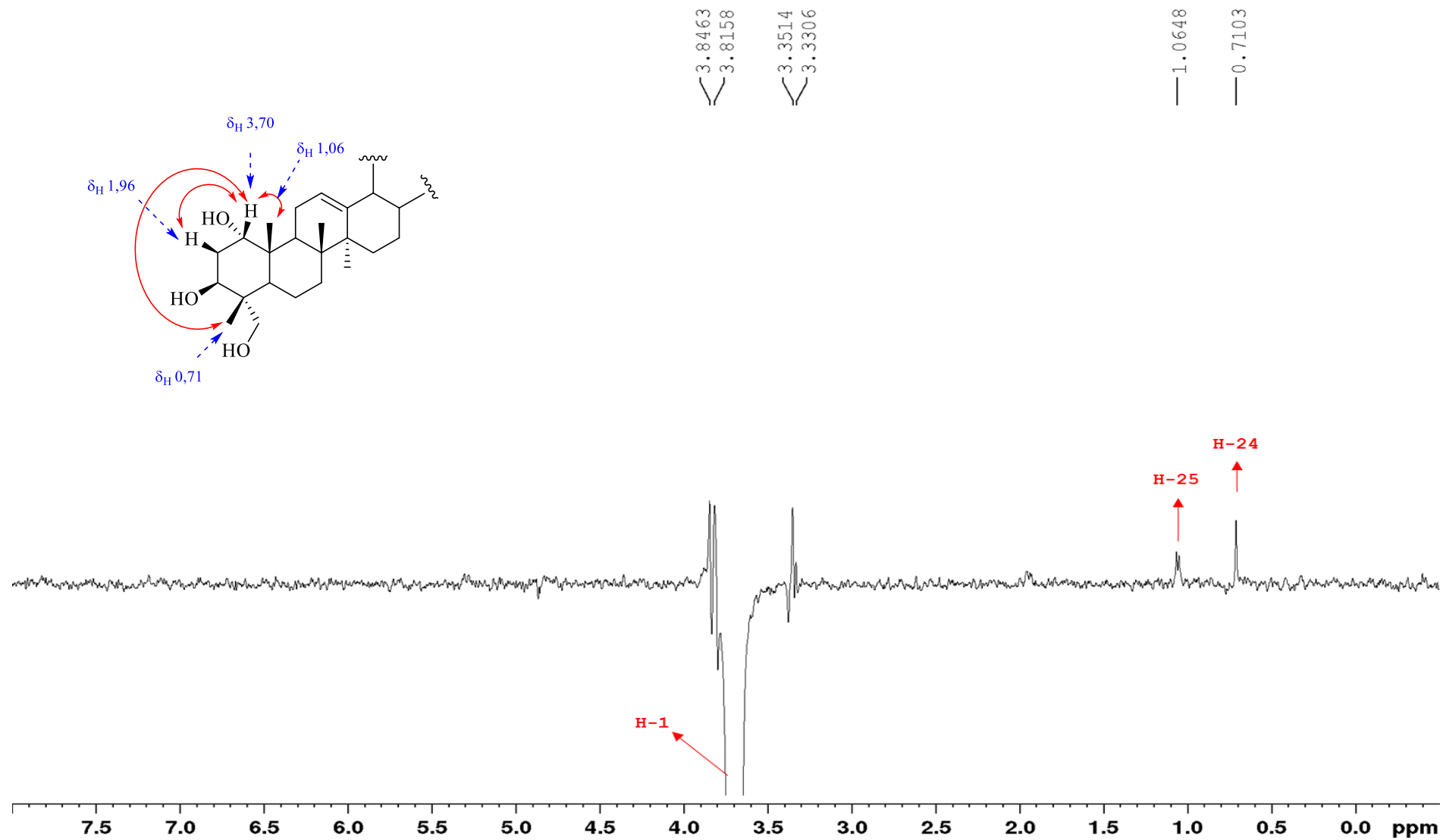
Fonte: Autora.

Figura 63-Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias **XI** e **XII** na região entre 50,0 e 10,0 ppm (MeOD, 125 MHz).



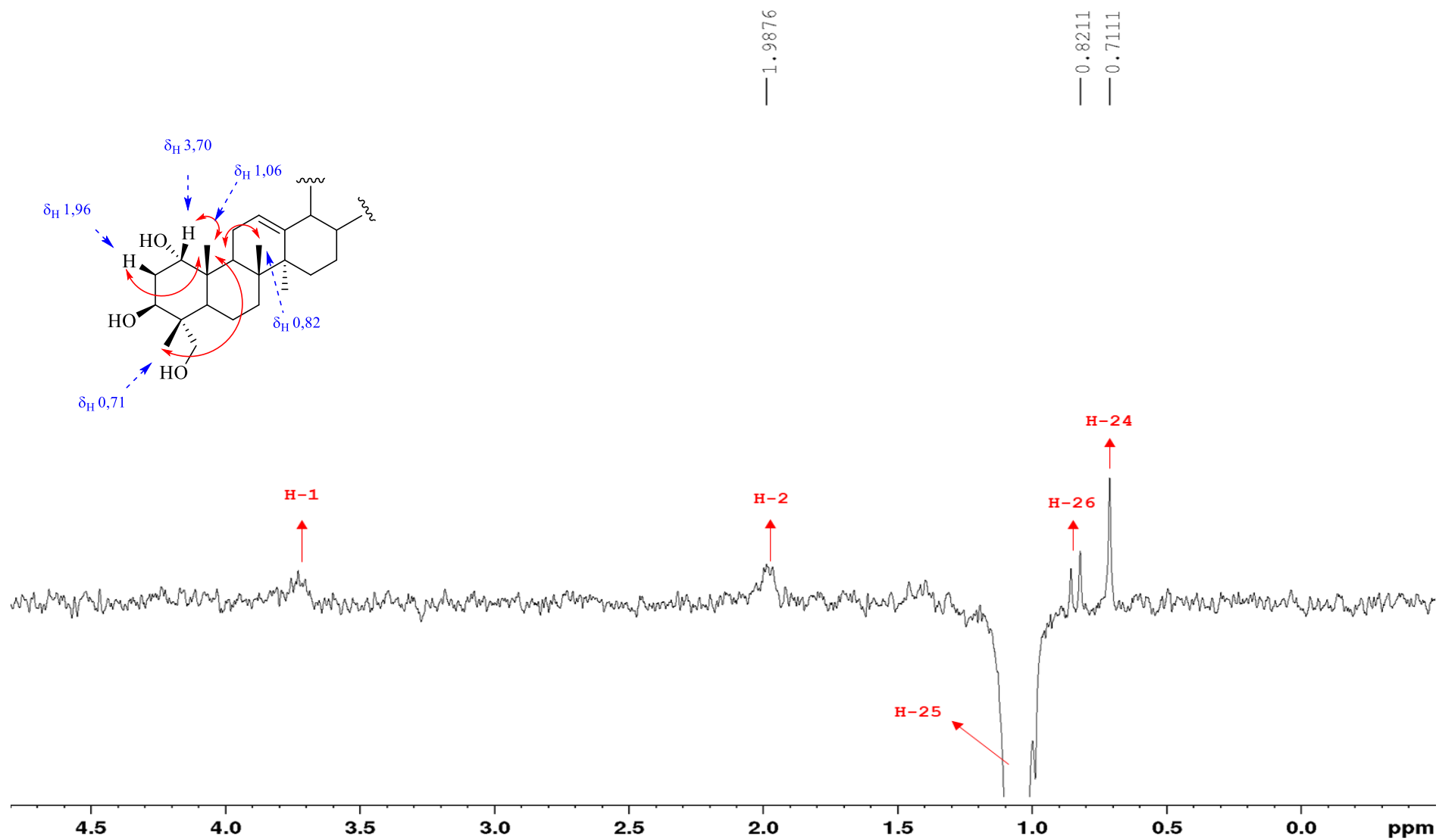
Fonte: Autora.

Figura 64-Espectro NOE da mistura das substâncias **XI** e **XII** (MeOD, ^1H 500 MHz), com irradiação do sinal em 3,70 ppm.



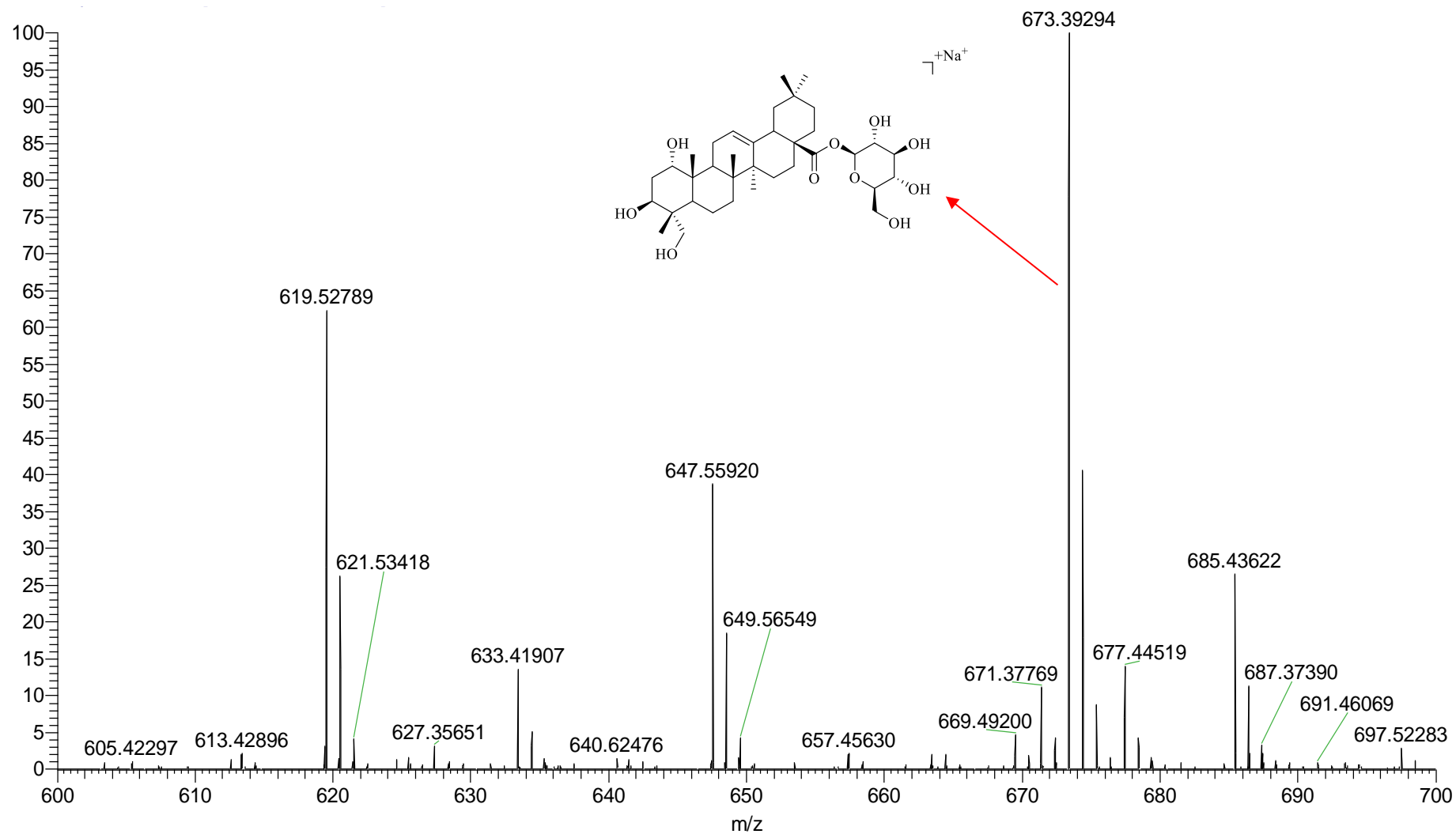
Fonte: Autora.

Figura 65-Espectro NOE da mistura das substâncias **XI** e **XII** (MeOD, ^1H 500 MHz), com irradiação do sinal em 1,06 ppm.

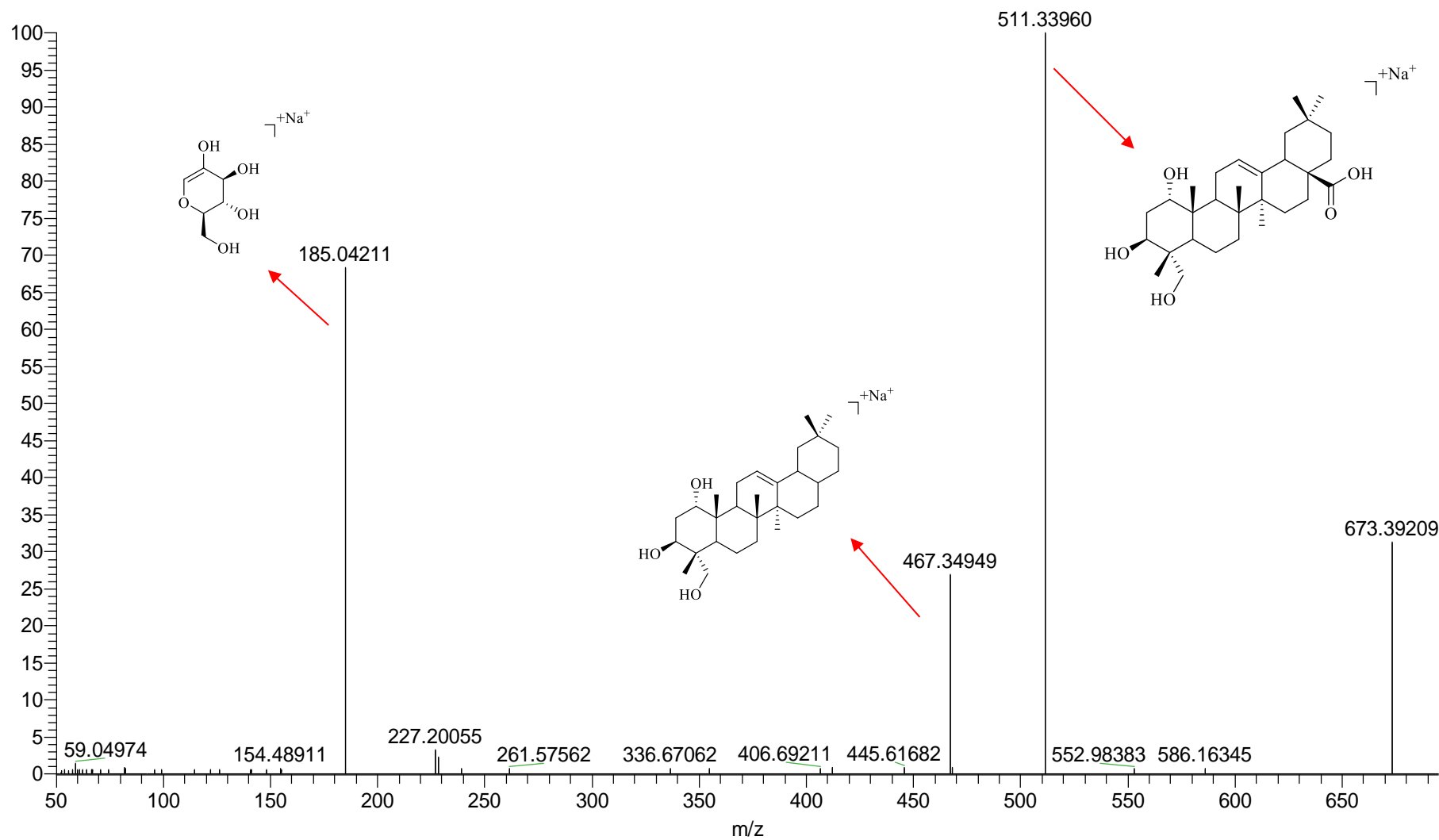


Fonte: Autora.

Figura 66-Espectro de massas de alta resolução no modo positivo da mistura das substâncias XI e XII.



Fonte: Autora.

Figura 67-Espectro MS/MS do íon $[M+Na]^+$ com m/z 673,39294.

Fonte: Autora.

5.2.2.2 Identificação das substâncias XIII e XIV

A substância **XIII** foi identificada em mistura com a substância **XIV**. Elas foram obtidas da fração metanólica das folhas, apresentando-se como um sólido amorfo branco, e foram identificadas através da análise de experimentos de RMN em uma e duas dimensões e espectrometria de massas de alta resolução.

O espectro de RMN de ^1H (Figuras 70-73) mostrou um multipletto centrado em δ_{H} 5,30 (1H, *m*), referente ao H-12 olefínico característico de um esqueleto triterpênico com dupla ligação entre os carbonos C-12 e C-13. Foram observados também sinais em δ_{H} 2,89 (1H, *dd*, $^3J = 13,5$ e $3,5$ Hz) e δ_{H} 2,27 (1H, *d*, $^3J = 11,0$ Hz), referentes aos hidrogênios H-18 dos esqueletos oleano e ursano, respectivamente.

A presença de sinais referentes à hidrogênios anoméricos em δ_{H} 5,40 (1H, *d*, $^3J = 8,1$ Hz) e δ_{H} 5,37 (1H, *d*, $^3J = 8,1$ Hz) indicou a presença de glicosídeo na estrutura, o que foi corroborado pelos multipletos relativos à hidrogênios carbinólicos na região entre δ_{H} 3,82 e 3,32. Estas informações levaram à sugestão de que a amostra em questão se tratava de uma mistura de saponinas triterpênicas de esqueletos oleano e ursano, semelhante às saponinas **XI** e **XII** descritas anteriormente. Entretanto, o simpleto adicional em δ_{H} 7,13 (2H, *s*) sugeriu a presença de um substituinte galoil na estrutura.

Foram observados sinais de hidrogênios oximetínicos em δ_{H} 5,03 (1H, *dd*, $^3J = 9,9$ e $3,0$ Hz) e δ_{H} 3,99 (1H, *m*), além de dois sinais de hidrogênios oximetilênicos em δ_{H} 3,31 (sobreposto pelo solvente, mas observável no HSQC) e δ_{H} 3,01 (1H, *d*, $^2J = 11,8$ Hz). Os sinais entre δ_{H} 2,10-0,85 foram atribuídos aos H metílicos, metilênicos e metínicos dos esqueletos triterpênicos.

No mapa de contorno HSQC (Figuras 74 e 75) foi possível observar a correlação entre o simpleto em δ_{H} 7,13 com o sinal de carbono em δ_{C} 109,0; atribuído aos carbonos C-2'/6' da unidade galoil. No espectro de HMBC (Figuras 76 e 77) observou-se a correlação deste simpleto a duas ligações (2J) com os carbonos em δ_{C} 120,5 (C-1') e 145,0 (C-3'/5'), e a três ligações com os sinais em δ_{C} 109,0 (C-2'/6'), 138,4 (C-4') e 167,8 (C-7').

O duplo dupletto em δ_{H} 5,03 mostrou correlação com o sinal de carbono em δ_{C} 78,6 (HSQC); atribuído ao C-3. No espectro de HMBC, este duplo dupletto apresentou correlação com os sinais em δ_{C} 13,8 (C-24, 3J), δ_{C} 43,2 (C-4, 2J), δ_{C} 63,5 (C-23, 3J), δ_{C} 66,5 (C-1, 3J) e δ_{C} 167,9 (C-7', 3J). Esta última correlação confirmou a unidade galoil esterificada na posição C-3 do triterpeno.

O multipletto em δ_H 3,99 apresentou correlação com um sinal de carbono em δ_C 66,5 (HSQC); atribuído ao carbono C-1 do triterpeno. No espectro de HMBC observou-se a correlação deste multipletto a três ligações (3J) com o carbono em δ_C 78,6; atribuído ao C-3.

Os dupletos em δ_H 3,31 e δ_H 3,01 mostraram correlação com o mesmo sinal de carbono em δ_C 63,5 (HSQC), o qual foi atribuído ao carbono C-23. No espectro de HMBC estes dupletos apresentaram correlação com os sinais em δ_C 13,8 (C-24, 3J), δ_C 43,2 (C-4, 2J), δ_C 46,3 (C-5, 3J) e δ_C 78,6 (C-3, 3J).

Os sinais de hidrogênios anoméricos em δ_H 5,40 e δ_H 5,37 mostraram correlação com o carbono em δ_C 94,4 no espectro de HSQC e com o sinal em δ_C 176,9 (C-28, 3J) no espectro de HMBC. Esta última correlação confirmou a ligação da unidade glicosídica ao triterpeno através do carbono C-28. Com base na constante de acoplamento $J_{1,2}$ dos hidrogênios anoméricos⁶⁹ ($J = 8,1$ Hz) e pelos típicos sinais de RMN de 1H e ^{13}C ⁷⁰, a unidade de açúcar foi determinada como sendo a β -glicopiranosose.

A estereoquímica do carbono C-1 foi definida com base nos espectros de NOE (Figuras 79 e 80). Ao se irradiar o sinal em δ_H 0,86 (H-24), foram observados incrementos nos sinais em δ_H 3,99 (H-1), δ_H 3,33 (H-23a) e em δ_H 3,02 (H-23b). Ao se irradiar o sinal em δ_H 3,99 (H-1) foram observados incrementos nos sinais em δ_H 1,13 (H-25) e em δ_H 0,87 (H-24).

Já a estereoquímica do carbono C-3 foi definida com base na constante de acoplamento do sinal de hidrogênio em δ_H 5,03 (*dd*, $^3J = 9,9$ e $3,0$ Hz), atribuído ao H-3. A constante de acoplamento de $9,9$ Hz indicou que H-3 está na posição axial e acopla com o hidrogênio H-2 β com J diaxial⁶². Deste modo, a unidade galoil está ligada ao C-3 pela face β .

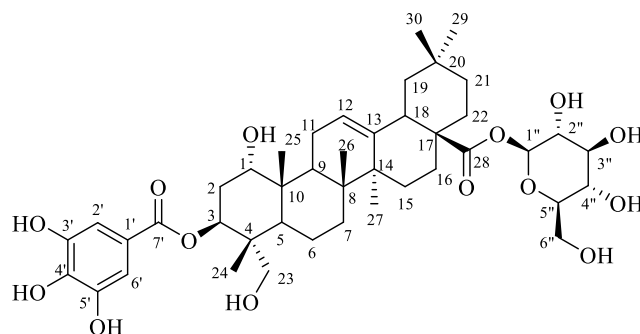
Assim como nas saponinas **XI** e **XII**, os deslocamentos químicos dos sinais atribuídos ao C-23 (δ_C 65,3) e ao C-24 (δ_C 14,9) sugerem que o grupo hidroximetilênico esteja orientado na posição α -equatorial em C-4.

No espectro de massas de alta resolução em modo negativo (Figura 81) o pico do íon molecular $[M-H]^-$ foi observado em m/z 801,40735. Para este íon, a fórmula molecular calculada foi $C_{43}H_{61}O_{14}$ (erro de 2,205 ppm). O espectro MS/MS do íon em m/z 801,40735 (Figura 82) apresentou um fragmento principal em m/z 639,35425; correspondente à perda da unidade glicopiranosídica, $[M-H-162]^-$; além de um pico em m/z 168,00557; correspondente ao íon radicalar galoil.

Deste modo, as estruturas das substâncias **XIII** e **XIV** foram definidas como sendo o éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-olean-12-en-28-oico e

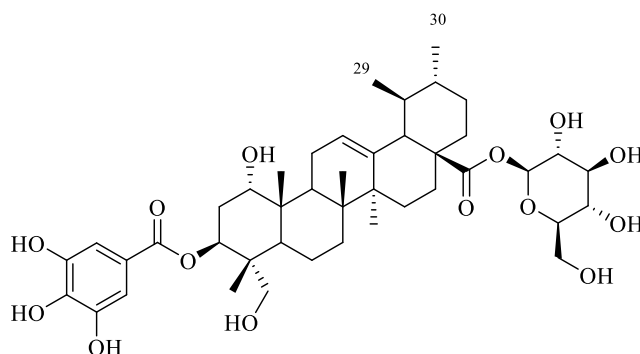
o éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-urs-12-en-28-oico (Figura 68), duas saponinas inéditas na literatura até o momento.

Figura 68-Estruturas das substâncias **XIII** e **XIV**, identificadas como éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-olean-12-en-28-oico e éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-urs-12-en-28-oico.



(XIII)

éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-olean-12-en-28-oico



(XIV)

éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-urs-12-en-28-oico

Fonte: autora.

A Tabela 14 apresenta a proposta de atribuição dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C das substâncias **XIII** e **XIV**.

Tabela 14-Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) das substâncias **XIII** e **XIV**. (continua)

H/C	δ_{H} (ppm), <i>J</i> (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XIII	Substância XIV	Substância XIII	Substância XIV
1	3,99 (<i>m</i>)	3,99 (<i>m</i>)	68,0	68,0

Cont. Tabela 14

(continua)

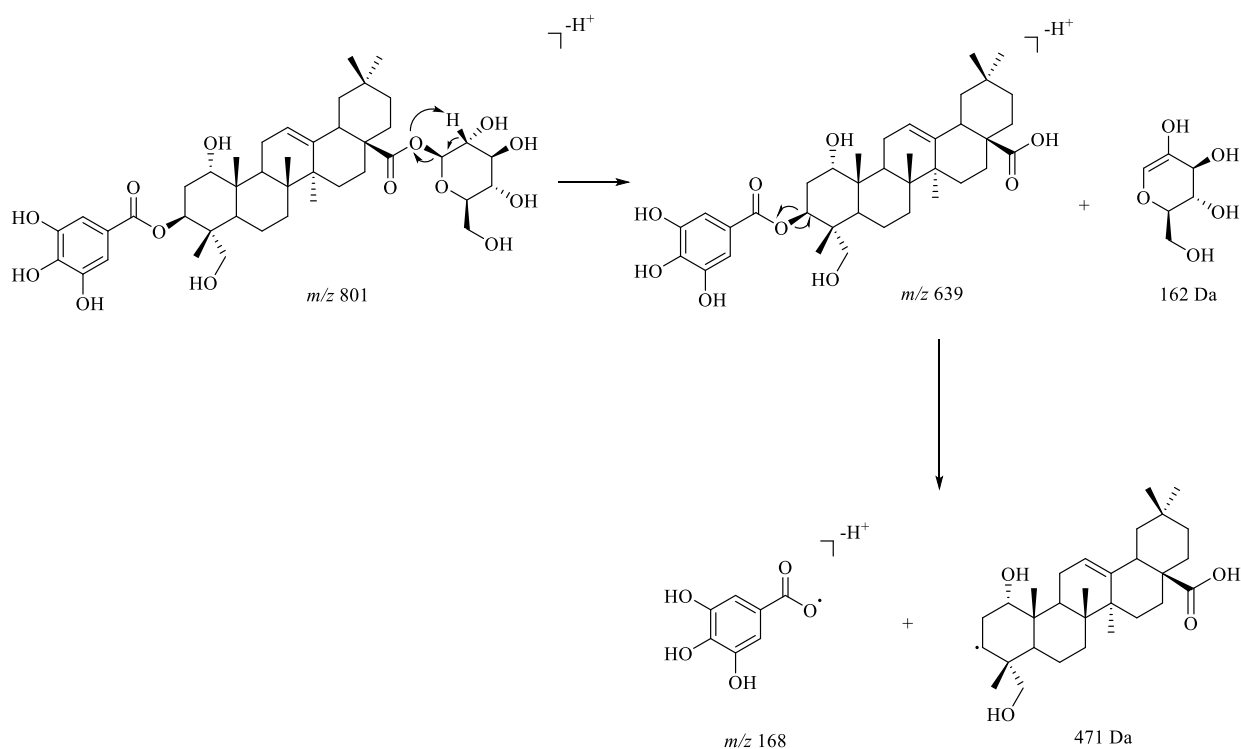
H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XIII	Substância XIV	Substância XIII	Substância XIV
2	2,07 (<i>m</i>) e 1,06 (<i>m</i>)		48,2	48,2
3	5,03 (<i>dd</i> , $^3J = 9,9$ e $3,0$)	5,03 (<i>dd</i> , $^3J = 9,9$ e $3,0$)	80,0	80,0
4			44,8	44,8
5			48,2	48,2
6			19,1	19,1
7			33,6	33,6
8			40,6	40,6
9			48,2	48,2
10			39,1	37,7
11			24,1	24,1
12	5,30 (<i>m</i>)	5,30 (<i>m</i>)	122,5	127,0
13			146,6	138,2
14			43,2	43,2
15			29,4	29,4
16			24,7	24,8
17			47,4	47,4
18	2,89 (<i>dd</i> , $^3J = 13,5$ e $3,5$)	2,27 (<i>d</i> , $^3J = 11,0$)	42,8	54,4
19			48,2	40,4
20			31,7	39,1
21			33,8	31,6
22			33,7	37,6
23	3,31 e 3,01 (<i>d</i> , $^2J = 11,8$)	3,31 e 3,01 (<i>d</i> , $^2J = 11,8$)	65,3	65,3
24	0,87(<i>s</i>)	0,87(<i>s</i>)	14,9	14,9
25	1,13 (<i>s</i>)	1,13 (<i>s</i>)	16,2	16,2
26	0,93 (<i>s</i>)	0,93 (<i>s</i>)	16,3	16,3
27	1,22 (<i>s</i>)	1,22 (<i>s</i>)	25,0	25,0
28			176,8	176,8
29	1,18 (<i>s</i>)	0,85 (<i>s</i>)	22,9	16,6
30	0,94 (<i>s</i>)	0,95 (<i>s</i>)	32,1	22,5
1'			121,7	121,7
2'	7,13 (<i>s</i>)	7,13 (<i>s</i>)	110,4	110,4
3'			146,6	146,6
4'			139,9	139,9

Cont. Tabela 14

H/C	δ_H (ppm), J (Hz)		δ_C (ppm)	
	Substância XIII	Substância XIV	Substância XIII	Substância XIV
5'			146,6	146,6
6'	7,13 (s)	7,13 (s)	110,4	110,4
7'			169,2	169,2
1''	5,40 (d, $^3J = 8,1$)	5,37 (d, $^3J = 8,1$)	95,9	95,9
2''	3,32	3,32	71,3	71,3
3''	3,36	3,36	78,8	78,7
4''	3,37	3,37	68,0	68,0
5''	3,41	3,41	78,4	78,5
6''	3,70 (dd, $^2J = 11,7$ e $^3J = 4,1$) e 3,82 (m)	3,70 (dd, $^2J = 11,7$ e $^3J = 4,1$) e 3,82 (m)	62,6	61,0

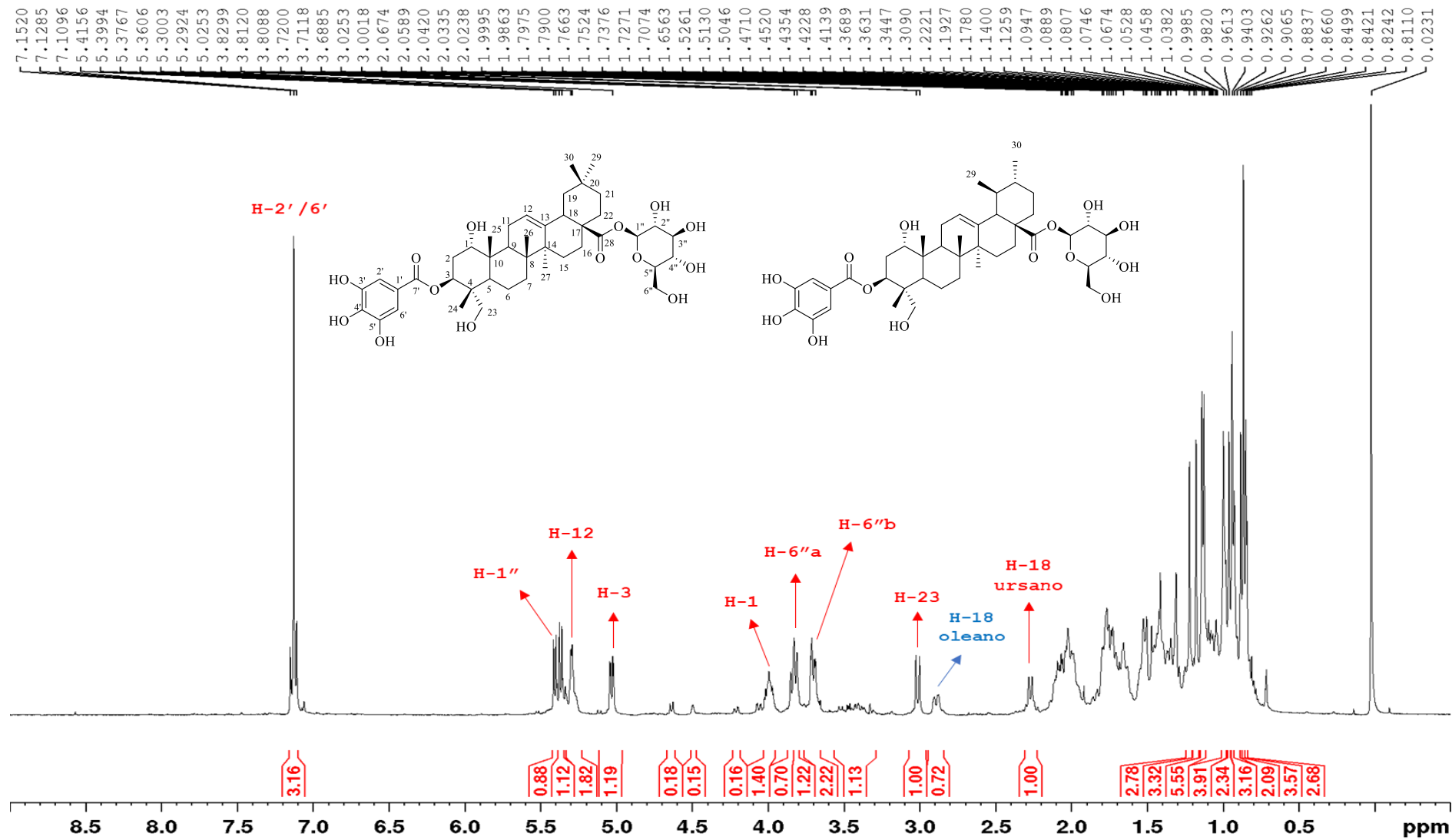
A Figura 69 apresenta a proposta dos mecanismos de fragmentação da substância XIII.

Figura 69-Proposta de fragmentação para a substância XIII.



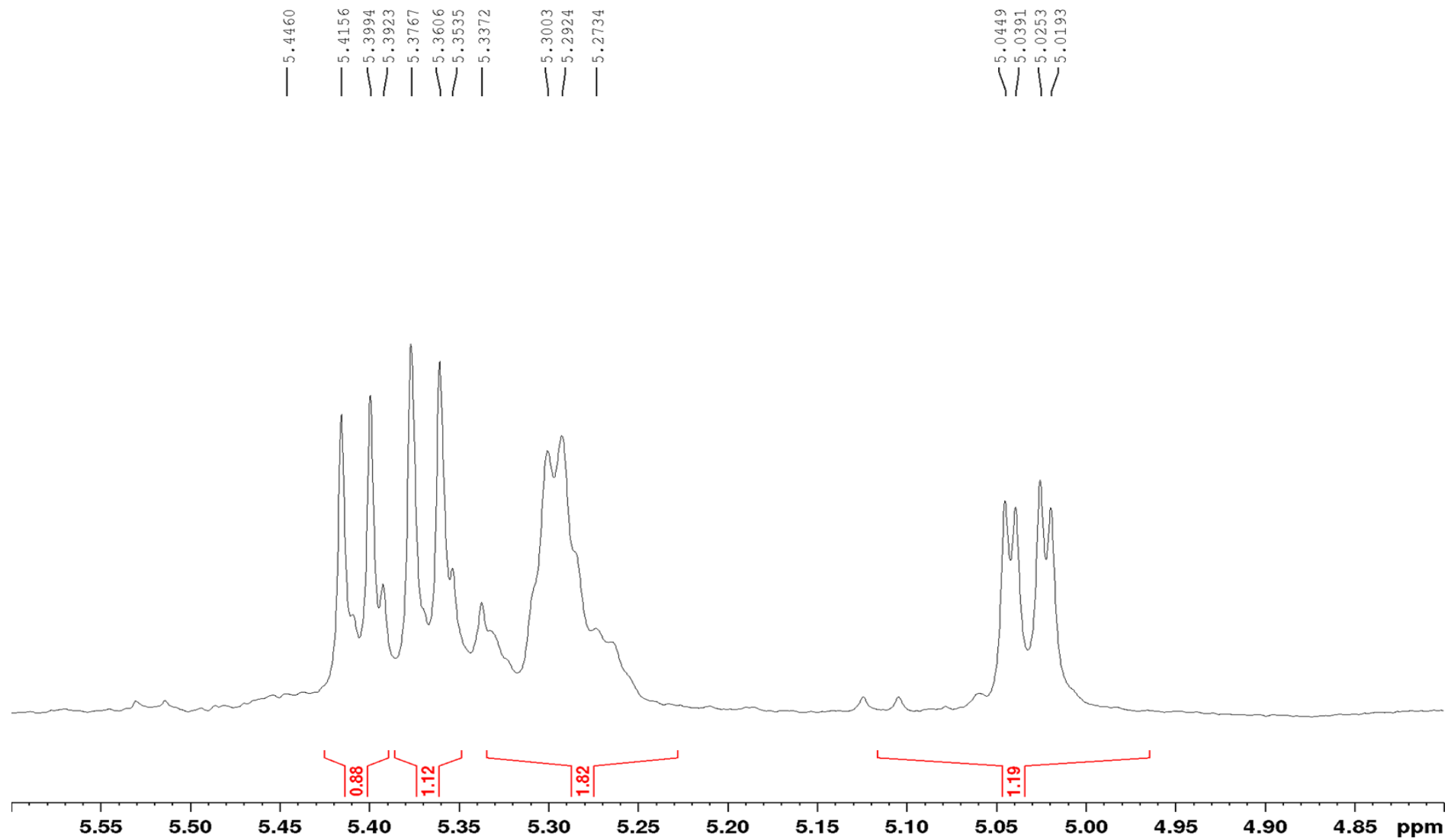
Fonte: autora.

Figura 70-Espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, 500 MHz).



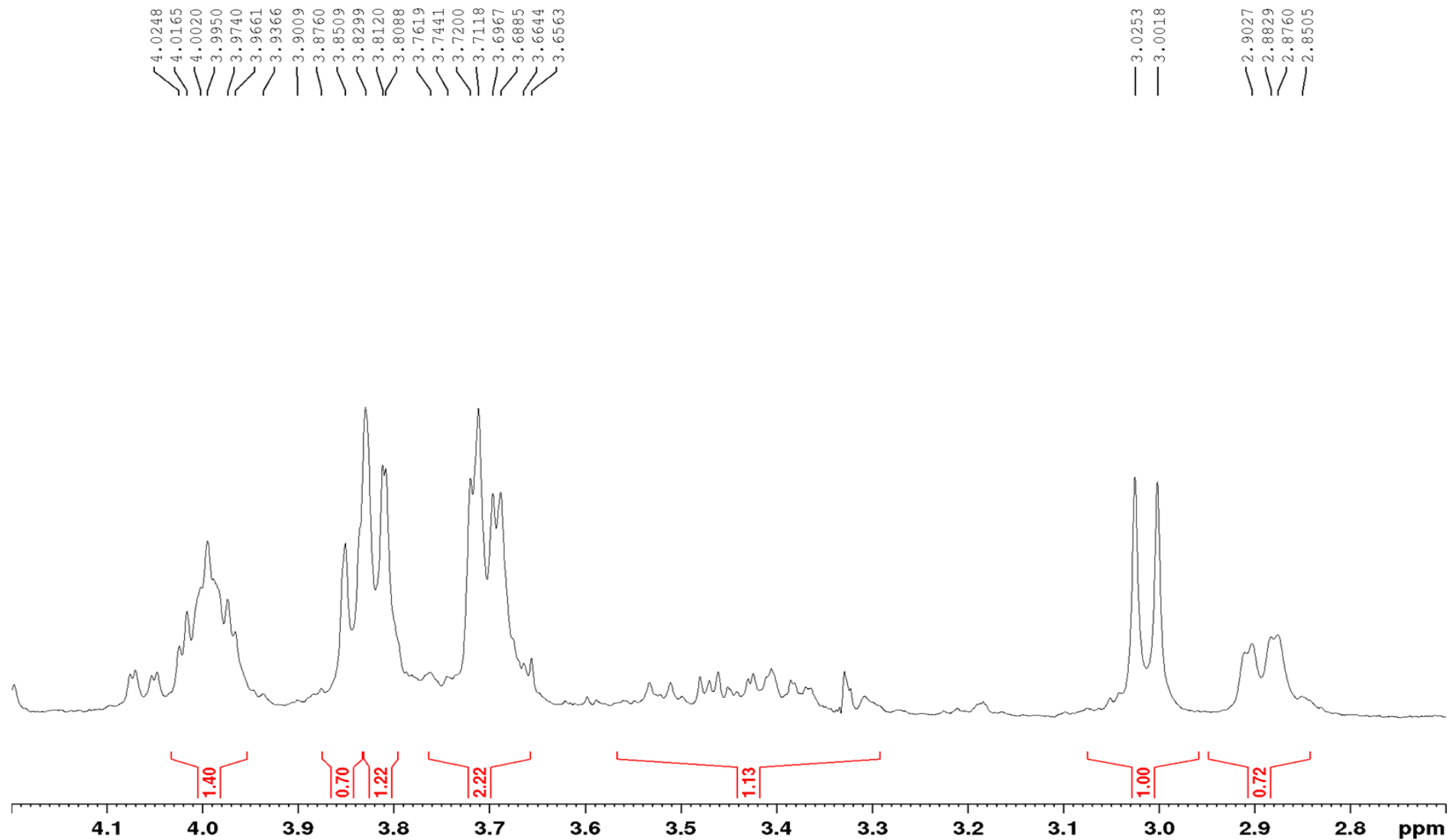
Fonte: Autora.

Figura 71-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias XIII e XIV na região entre 6,0 e 4,8 ppm (MeOD, 500 MHz).



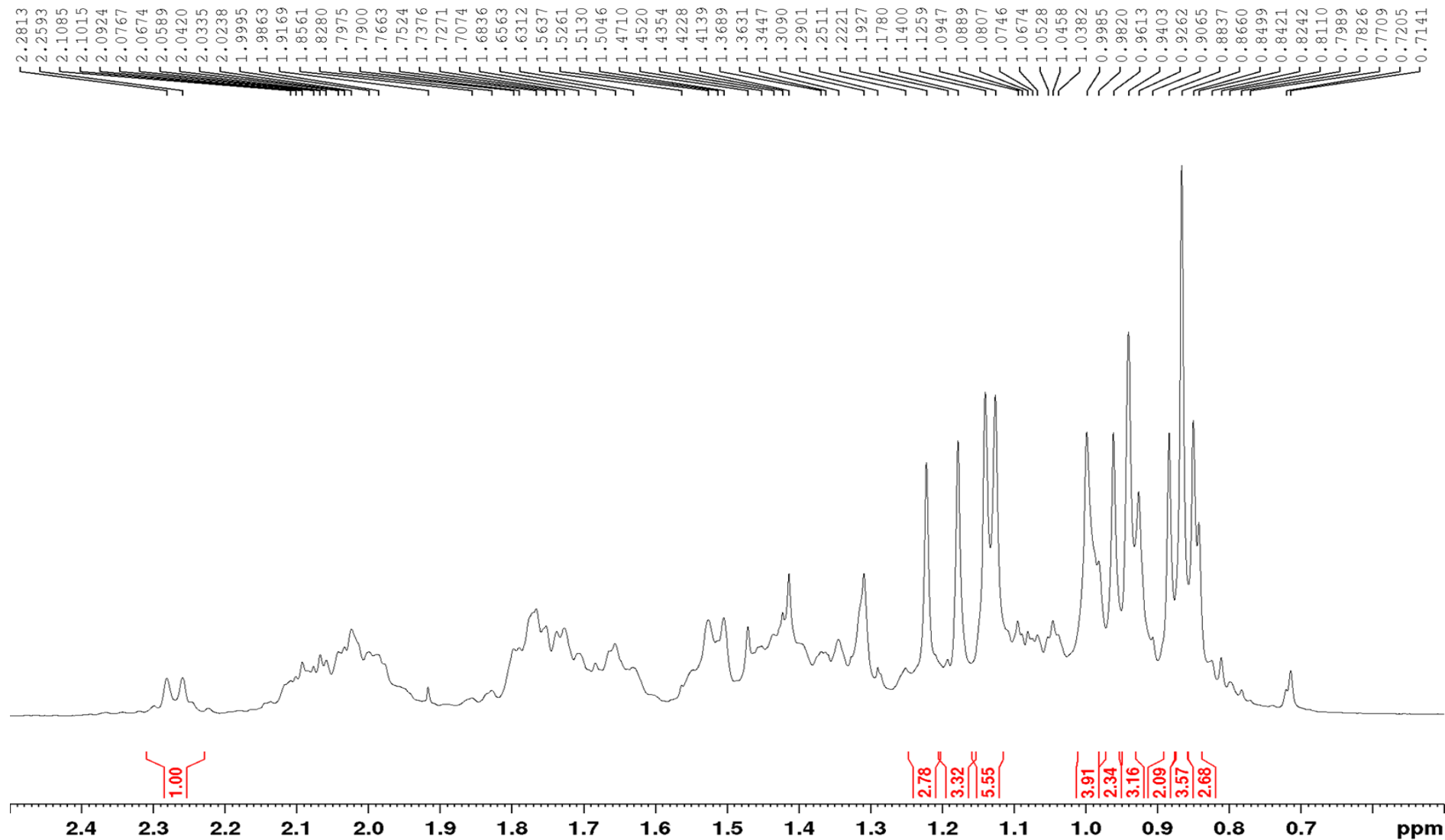
Fonte: Autora.

Figura 72-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias XIII e XIV na região entre 4,2 e 2,7 ppm (MeOD, 500 MHz).



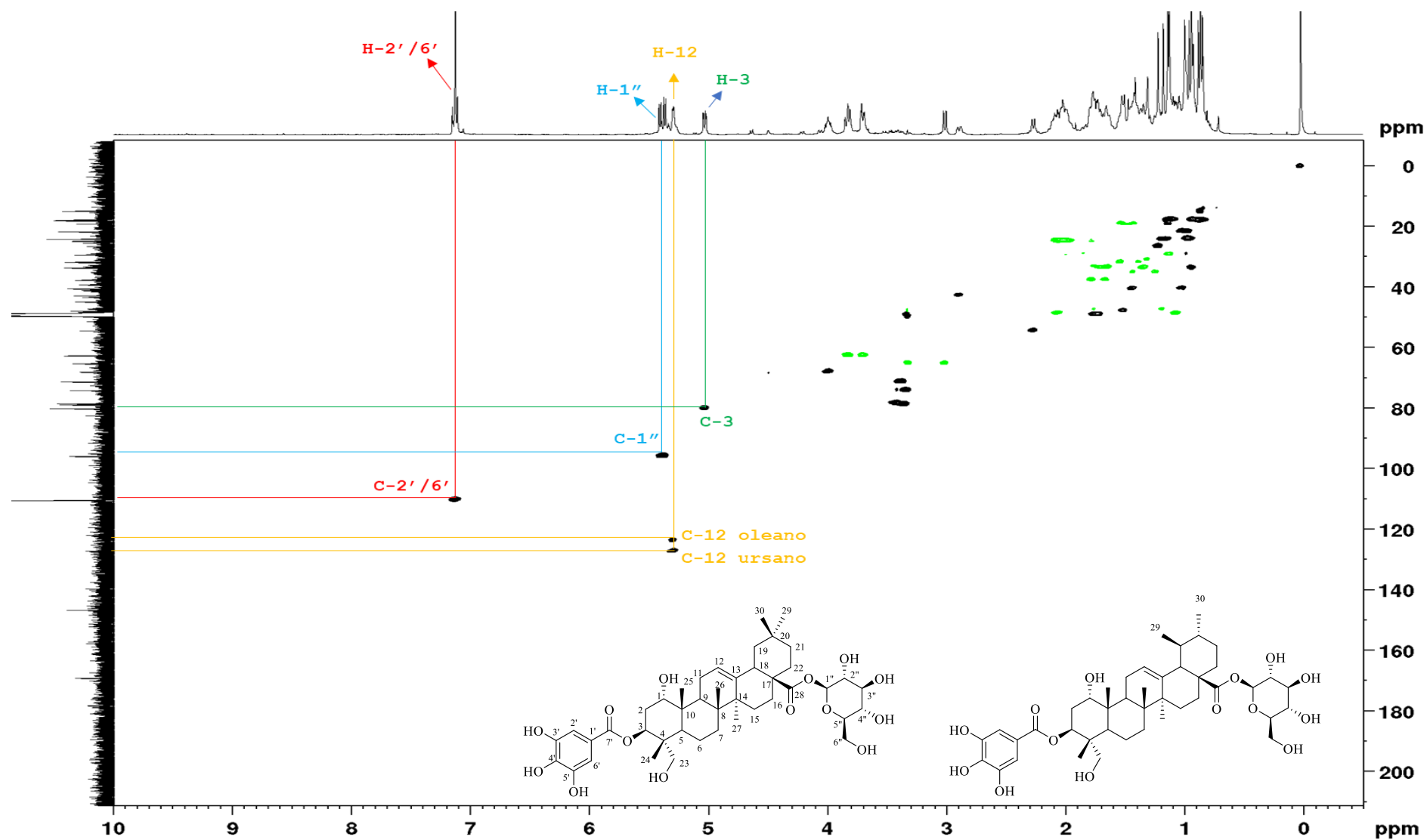
Fonte: Autora.

Figura 73-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias **XIII** e **XIV** na região entre 2,5 e 0,5 ppm (MeOD, 500 MHz).



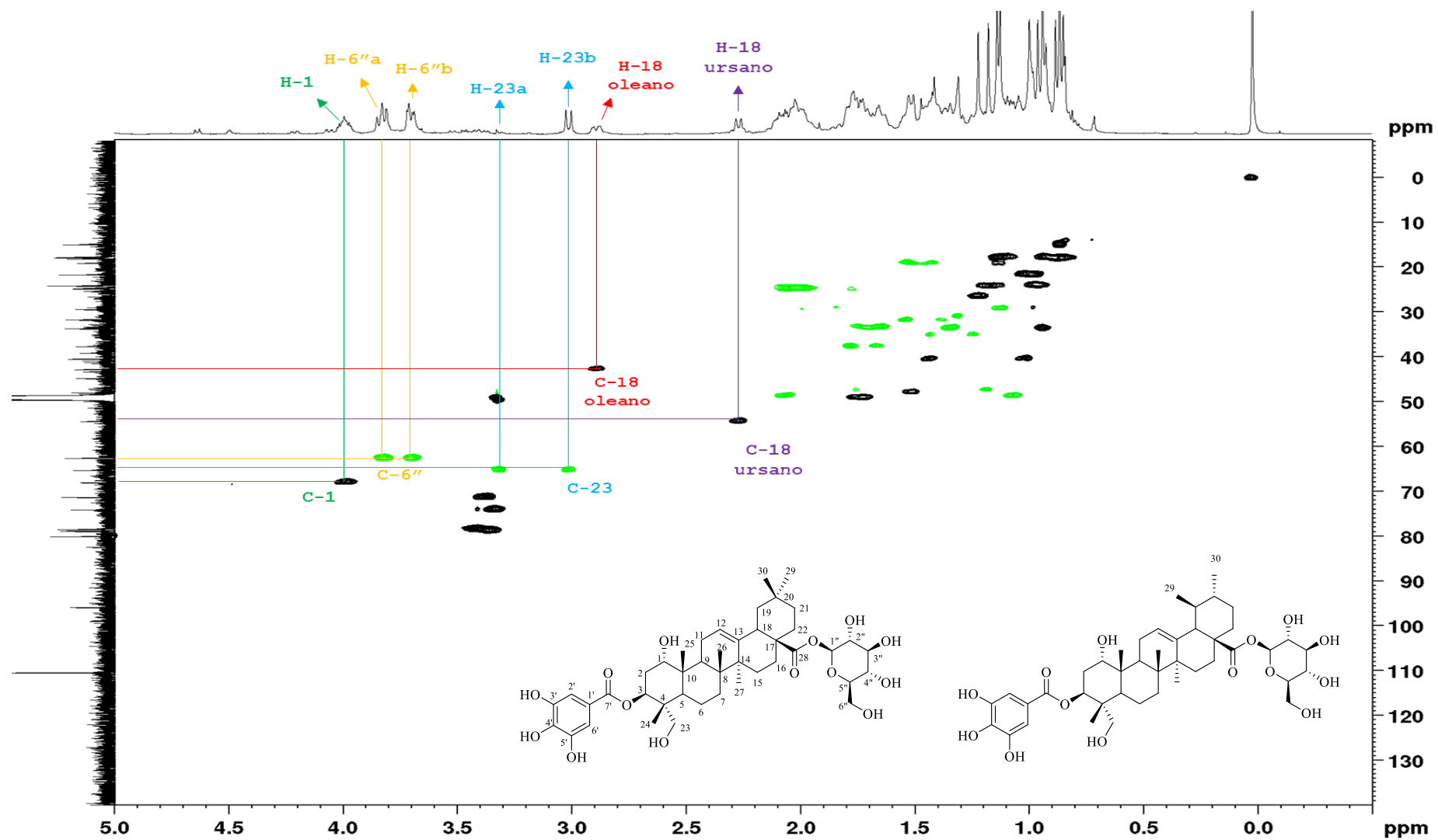
Fonte: Autora.

Figura 74-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



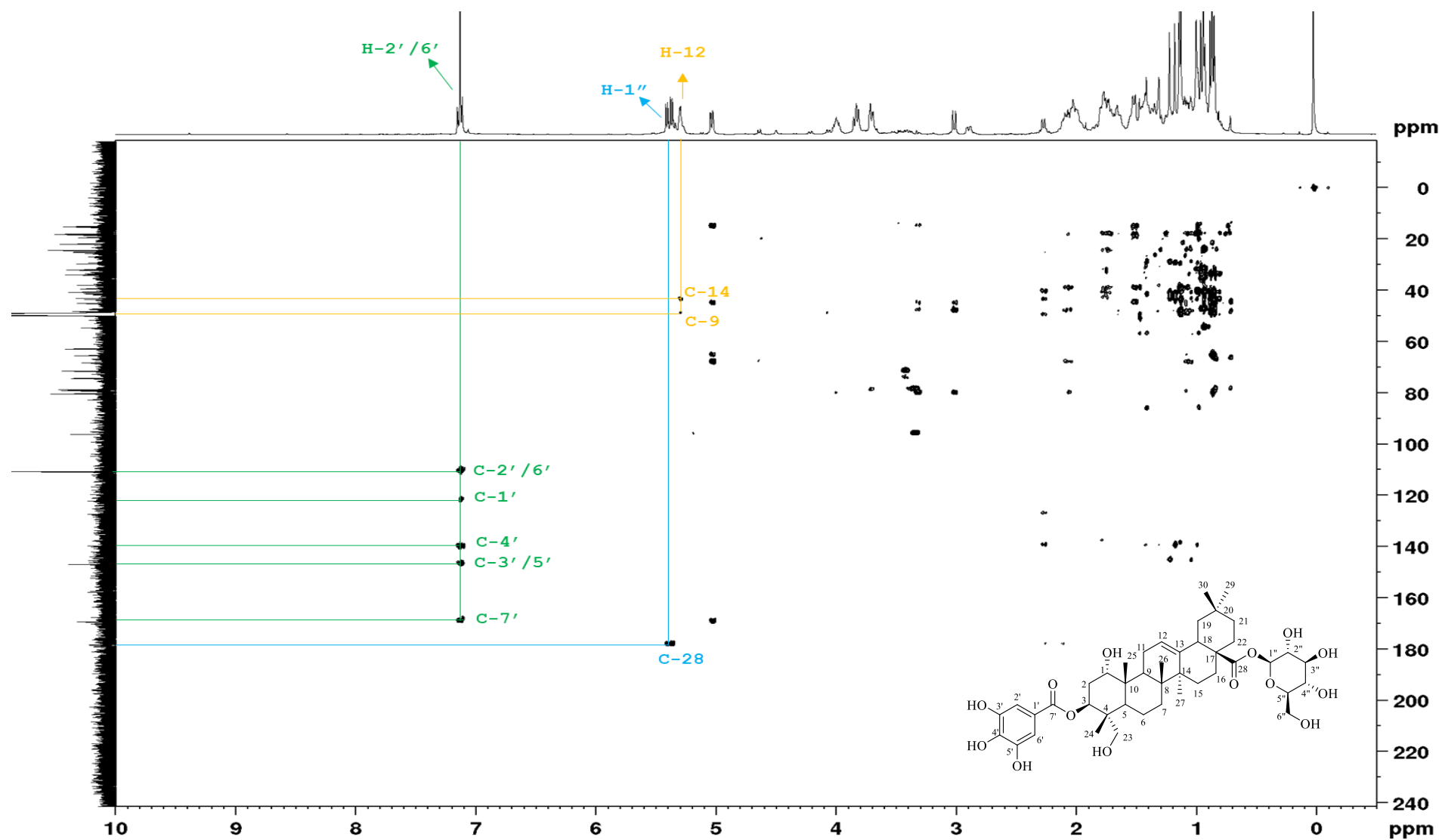
Fonte: Autora.

Figura 75-Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HSQC, da mistura das substâncias **XIII** e **XIV** (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



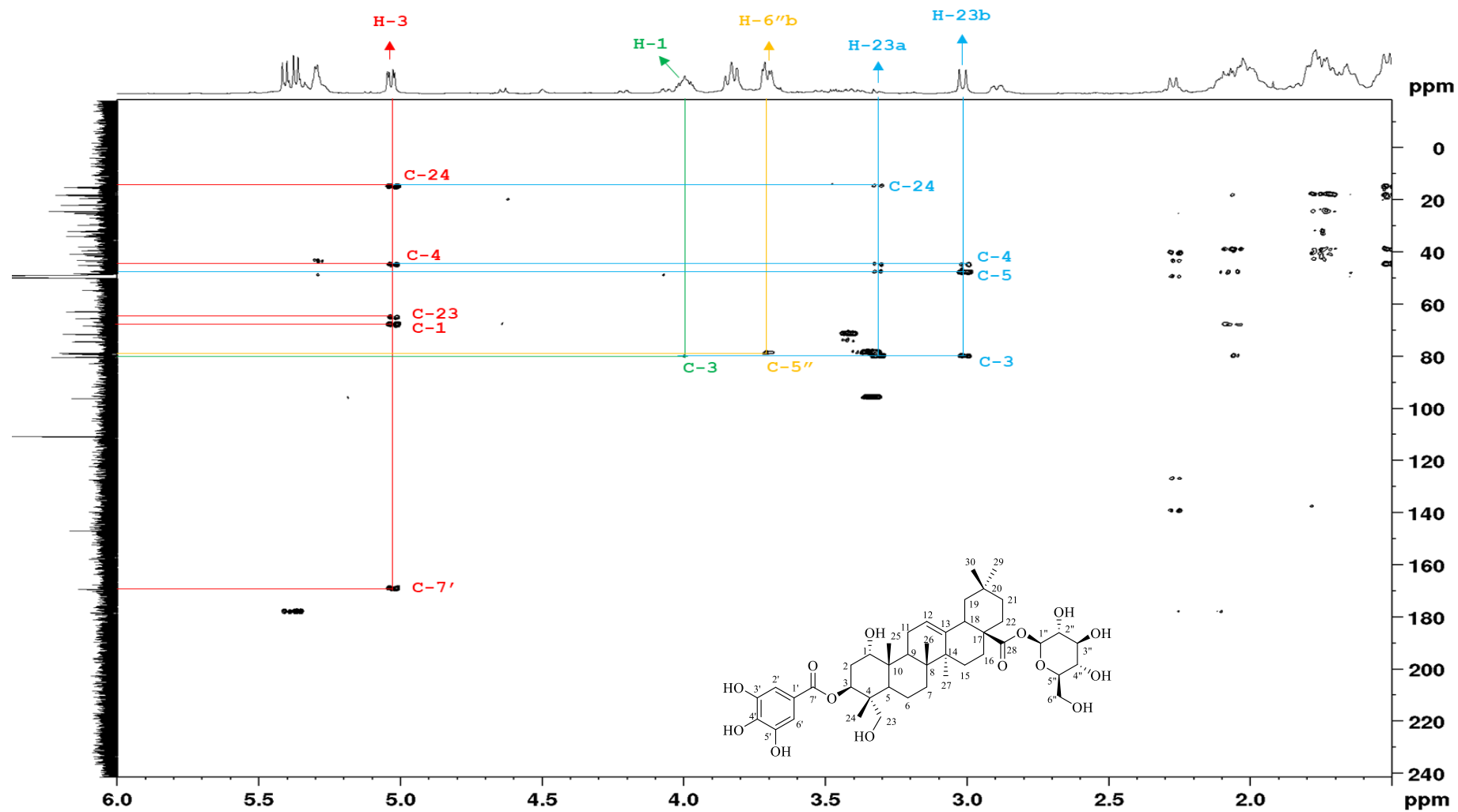
Fonte: Autora.

Figura 76-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



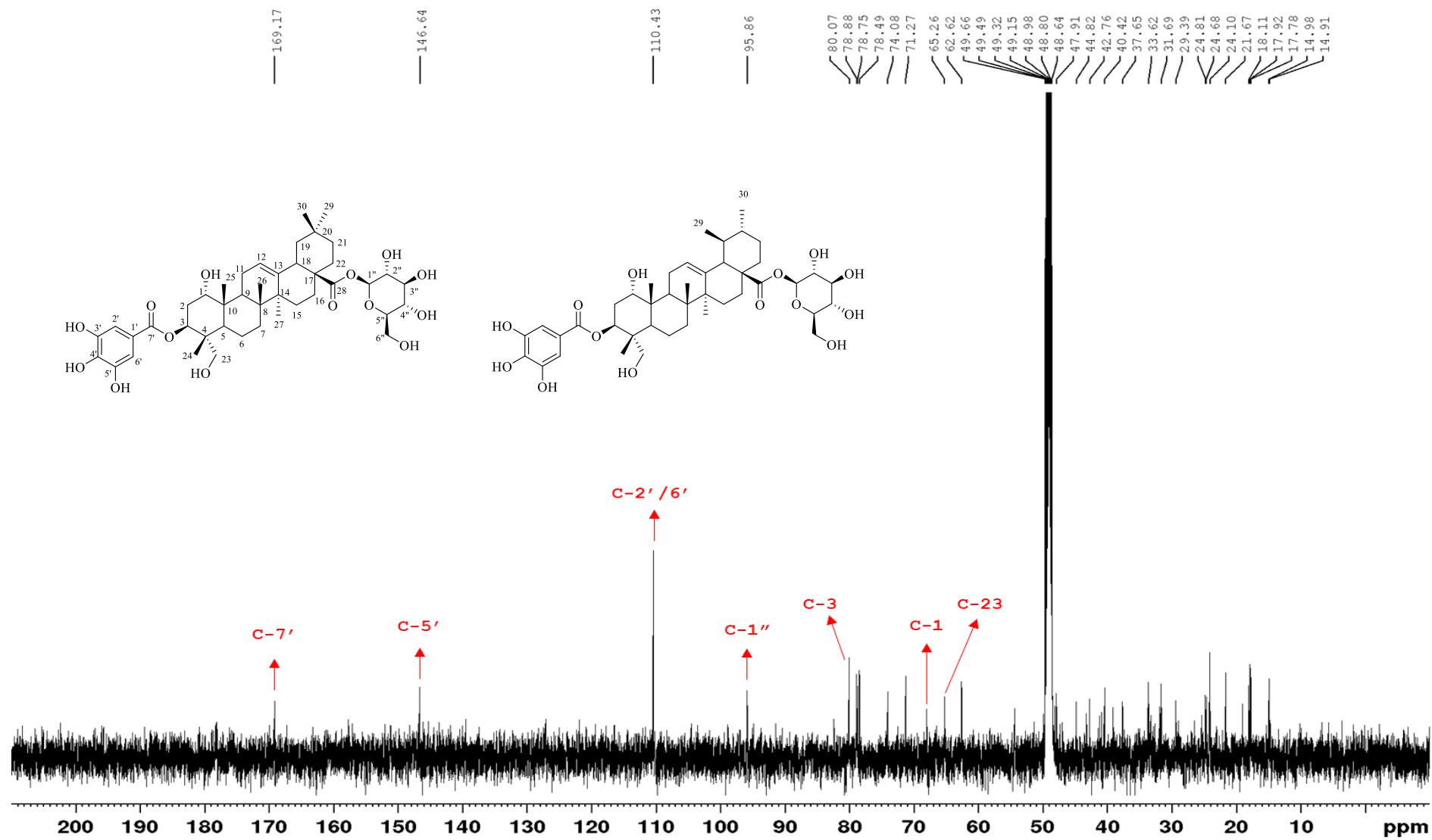
Fonte: Autora.

Figura 77-Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



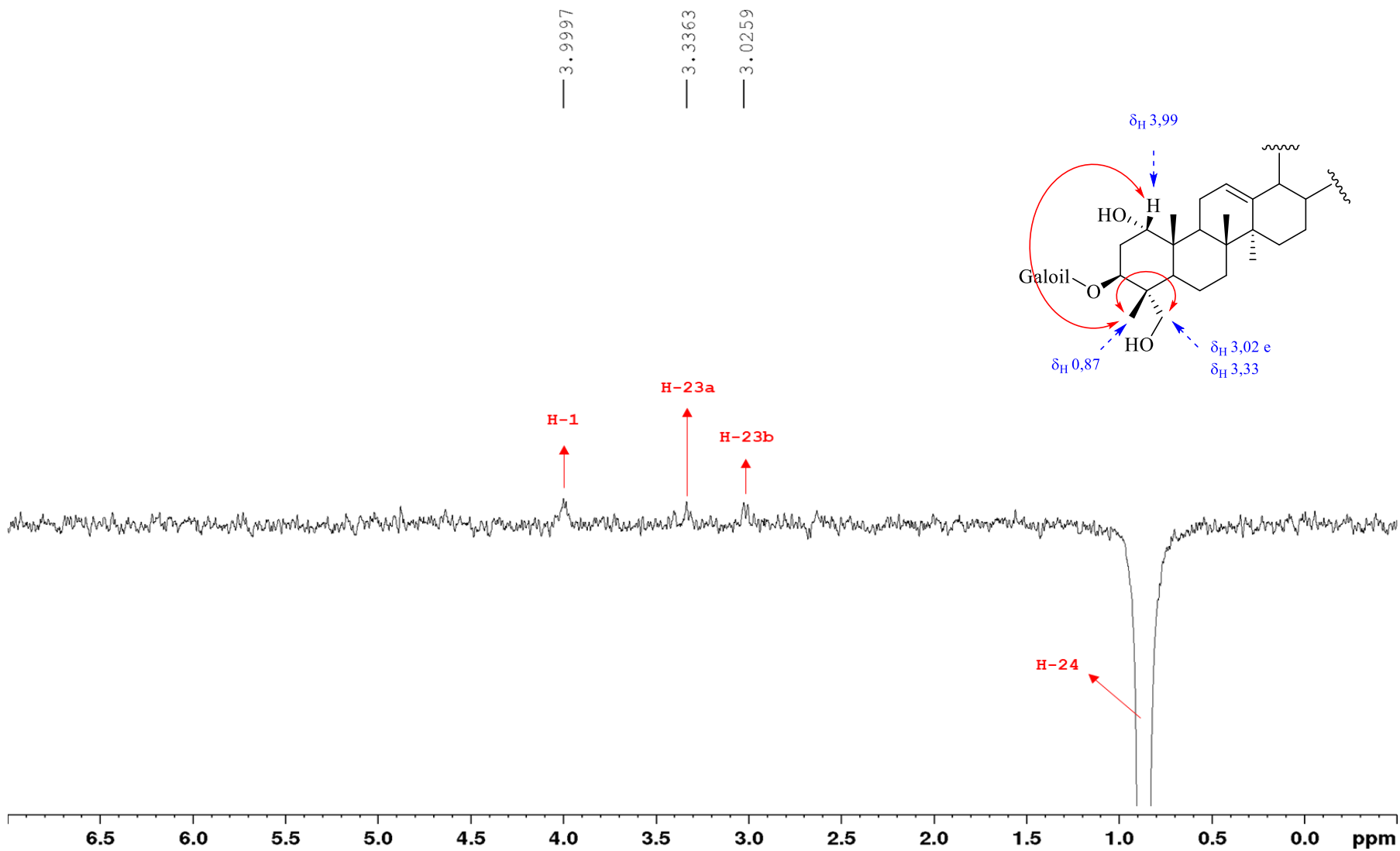
Fonte: Autora.

Figura 78-Espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOH, 125 MHz).



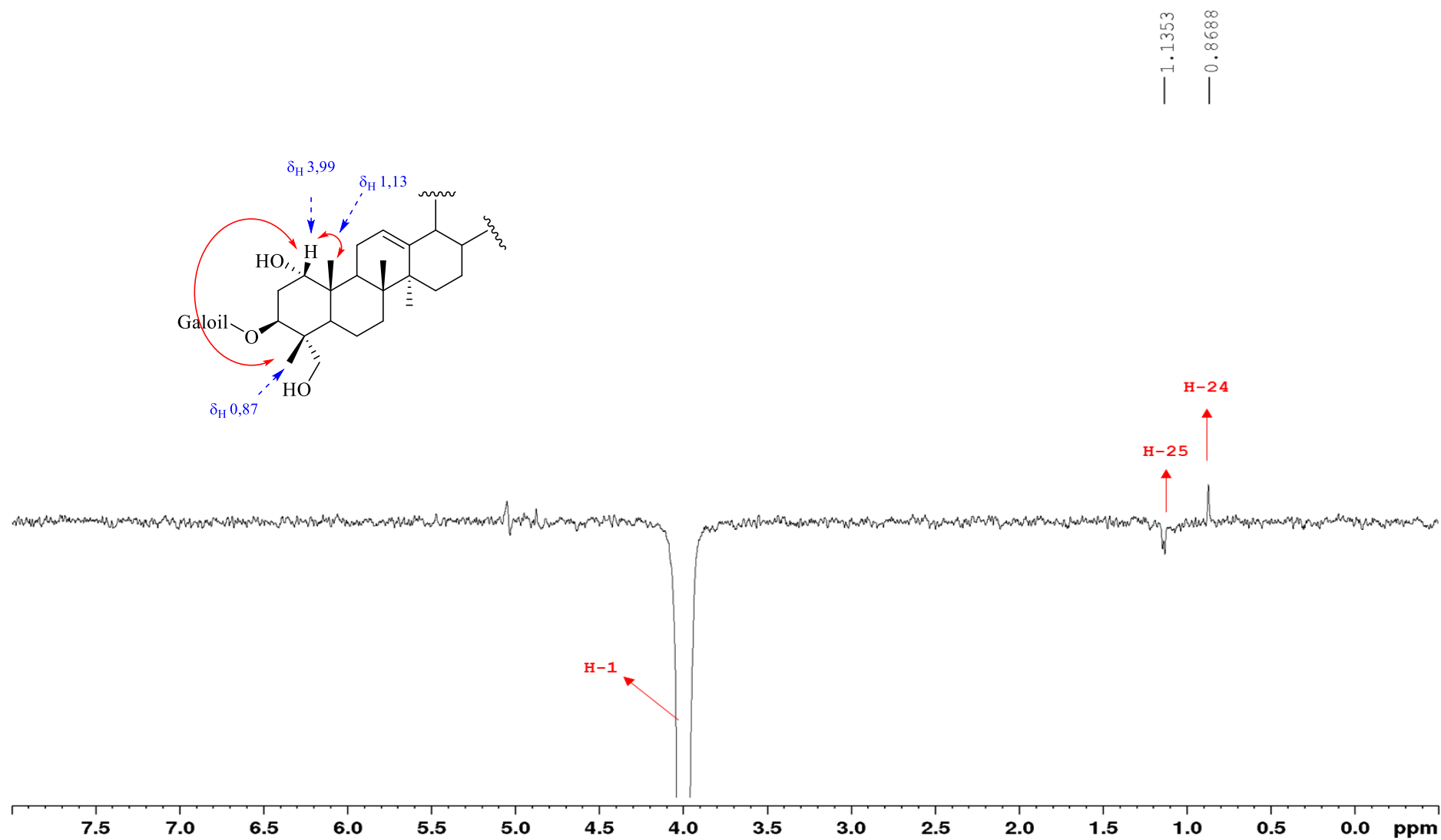
Fonte: Autora.

Figura 79-Espectro NOE da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, ^1H 500 MHz), com irradiação do sinal em 0,87 ppm.



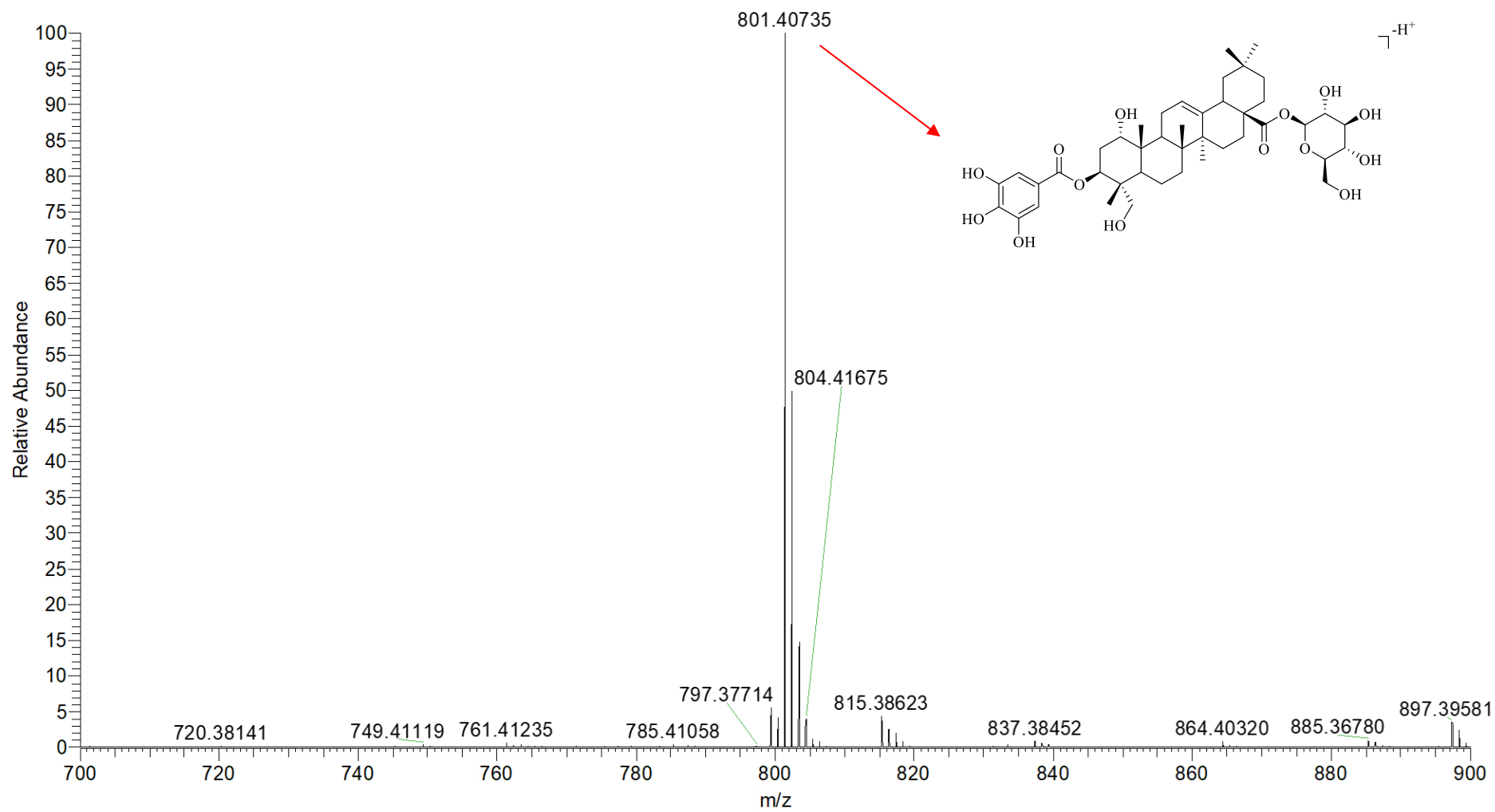
Fonte: Autora.

Figura 80-Espectro NOE da mistura das substâncias XIII e XIV (MeOD, ^1H 500 MHz), com irradiação do sinal em 3,99 ppm.

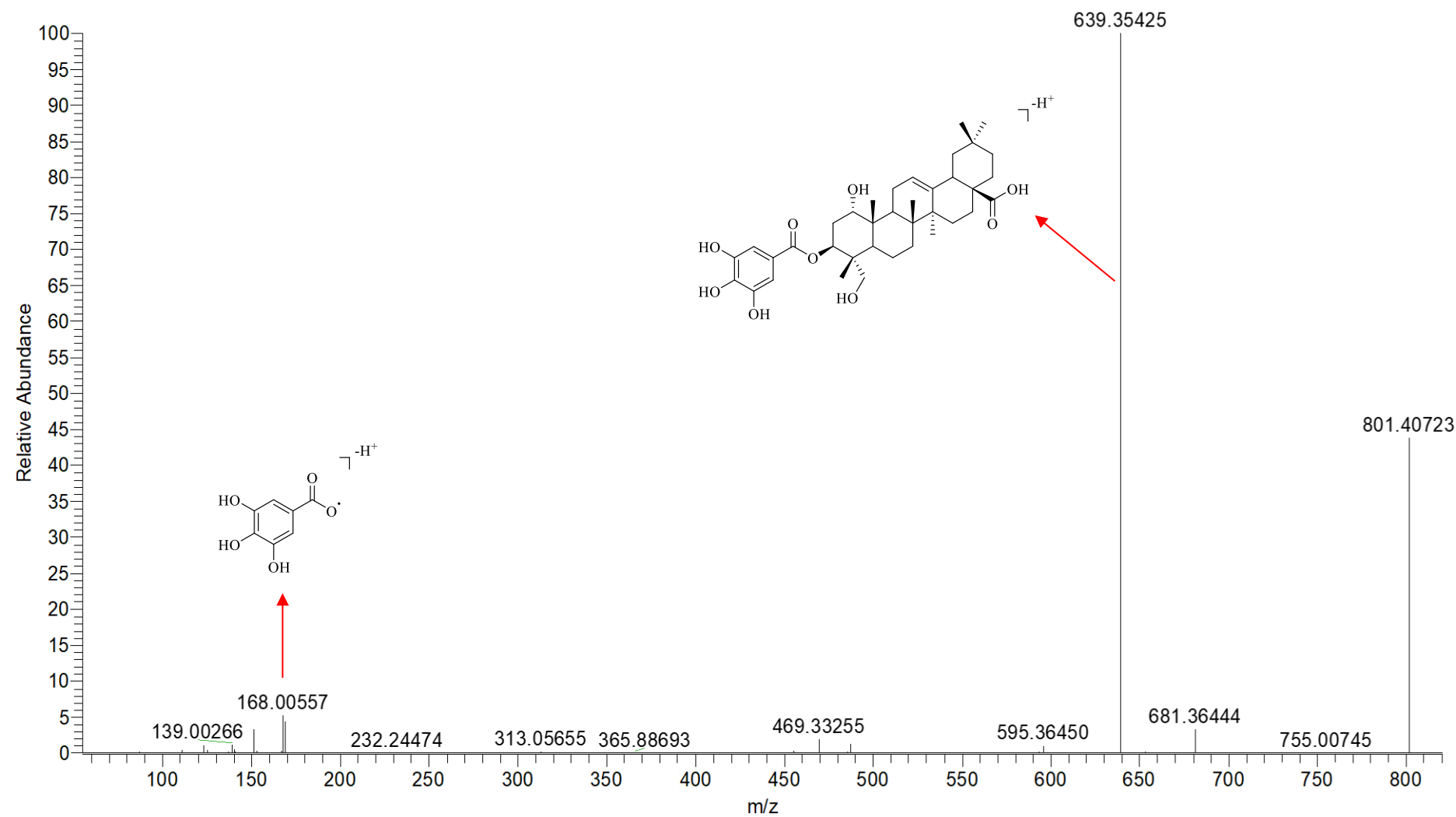


Fonte: Autora.

Figura 81-Espectro de massas de alta resolução no modo negativo da mistura das substâncias **XIII** e **XIV**.



Fonte: Autora.

Figura 82-Espectro MS/MS do íon $[M-H]^-$ com m/z 801,40735.

Fonte: Autora.

5.2.3 IDENTIFICAÇÃO DOS FLAVONOIDES

5.2.3.1 Identificação da substância XV

A substância **XV** foi isolada da fração em acetato de etila das folhas, apresentando-se como um sólido amorfo de coloração amarela. Esta substância foi identificada através da análise de experimentos de RMN em uma e duas dimensões, além de comparação com dados da literatura^{73,74}.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 84) foi observada a presença de dois dupletos em δ_{H} 8,09 (2H, *d*, $^3J = 8,9$ Hz) e δ_{H} 6,90 (2H, *d*, $^3J = 8,9$ Hz) característicos de sinais de hidrogênios aromáticos *orto*-acoplados. Neste mesmo experimento foram observados dois dupletos em δ_{H} 6,40 (1H, *d*, $^4J = 2,0$ Hz) e δ_{H} 6,19 (1H, *d*, $^4J = 2,0$ Hz) com acoplamento tipicamente *meta*. Estas observações, juntamente com a ausência do simpleto na região entre δ_{H} 6,30 e δ_{H} 6,60, atribuído ao hidrogênio H-3 de flavonas, sugeriram a presença de um flavonol contendo um substituinte na posição C-4' do anel B e um anel A substituído nas posições C-5 e C-7.

No mapa de contorno HSQC (Figura 85), pôde-se observar que o duplete em δ_{H} 6,19 (H-6) apresenta correlação com um sinal de carbono em δ_{C} 98,0; atribuído ao carbono C-6. No espectro de HMBC (Figura 86), observou-se a correlação deste duplete a duas ligações (2J) com os carbonos em δ_{C} 161,7 (C-5) e δ_{C} 164,3 (C-7) e a três ligações (3J) com os carbonos em δ_{C} 93,2 (C-8) e δ_{C} 103,4 (C-10).

O duplete em δ_{H} 6,40 (H-8) mostrou correlação com o sinal de carbono em δ_{C} 93,2; referente ao carbono C-8 (HSQC), enquanto no espectro de HMBC foi observada a correlação deste duplete a duas ligações (2J) com os carbonos em δ_{C} 164,3 (C-7) e δ_{C} 156,9 (C-9) e a três ligações (3J) com os carbonos em δ_{C} 98,0 (C-6) e δ_{C} 103,4 (C-10).

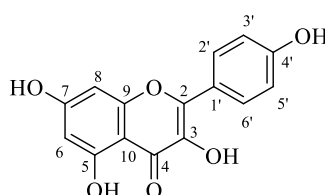
No espectro de HSQC observou-se a correlação do duplete em δ_{H} 6,90 (H-3'/5') com o sinal de carbono em δ_{C} 114,9; referente aos carbonos C-3'/5'. No espectro de HMBC pôde-se observar a correlação destes hidrogênios (H-3'/5') a duas ligações (2J) com o carbono em 159,3 (C-4') e a três ligações (3J) com os carbonos em δ_{C} 122,4 (C-1') e em δ_{C} 114,9 (C-3'/5').

Observou-se ainda, no espectro de HSQC, a correlação do duplete em δ_{H} 8,09 (H-2'/6') com o sinal de carbono em δ_{C} 129,3; referente aos carbonos C-2'/6'. No espectro de HMBC pôde-se observar a correlação destes hidrogênios (H-2'/6') a três ligações (3J) com os

carbonos em δ_c 146,7 (C-2), δ_c 159,3 (C-4') e δ_c 129,3 (C-2'/6') e a duas ligações com o carbono em δ_c 114,9 (C-3'/5').

Com as informações obtidas nos experimentos de RMN e em comparação com dados da literatura^{70,74} (Tabela 15) foi possível concluir que a substância em questão trata-se do kaempferol (Figura 83), isolado na forma aglicona pela primeira vez no gênero *Miconia*.

Figura 83-Estrutura da substância XV, identificada como kaempferol.

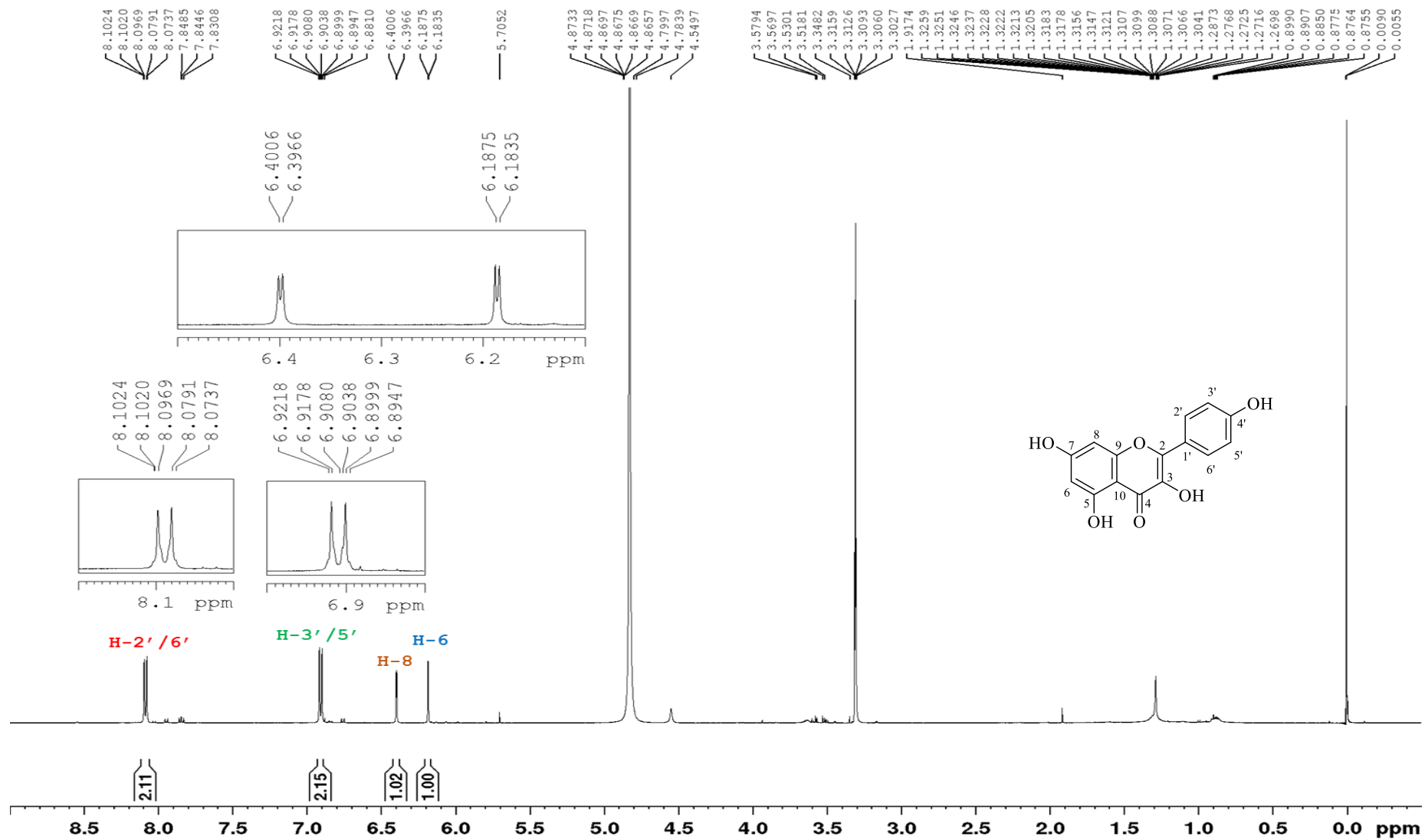


Fonte: autora.

Tabela 15-Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) da substância XV em comparação com os dados de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) e ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) do kaempferol.

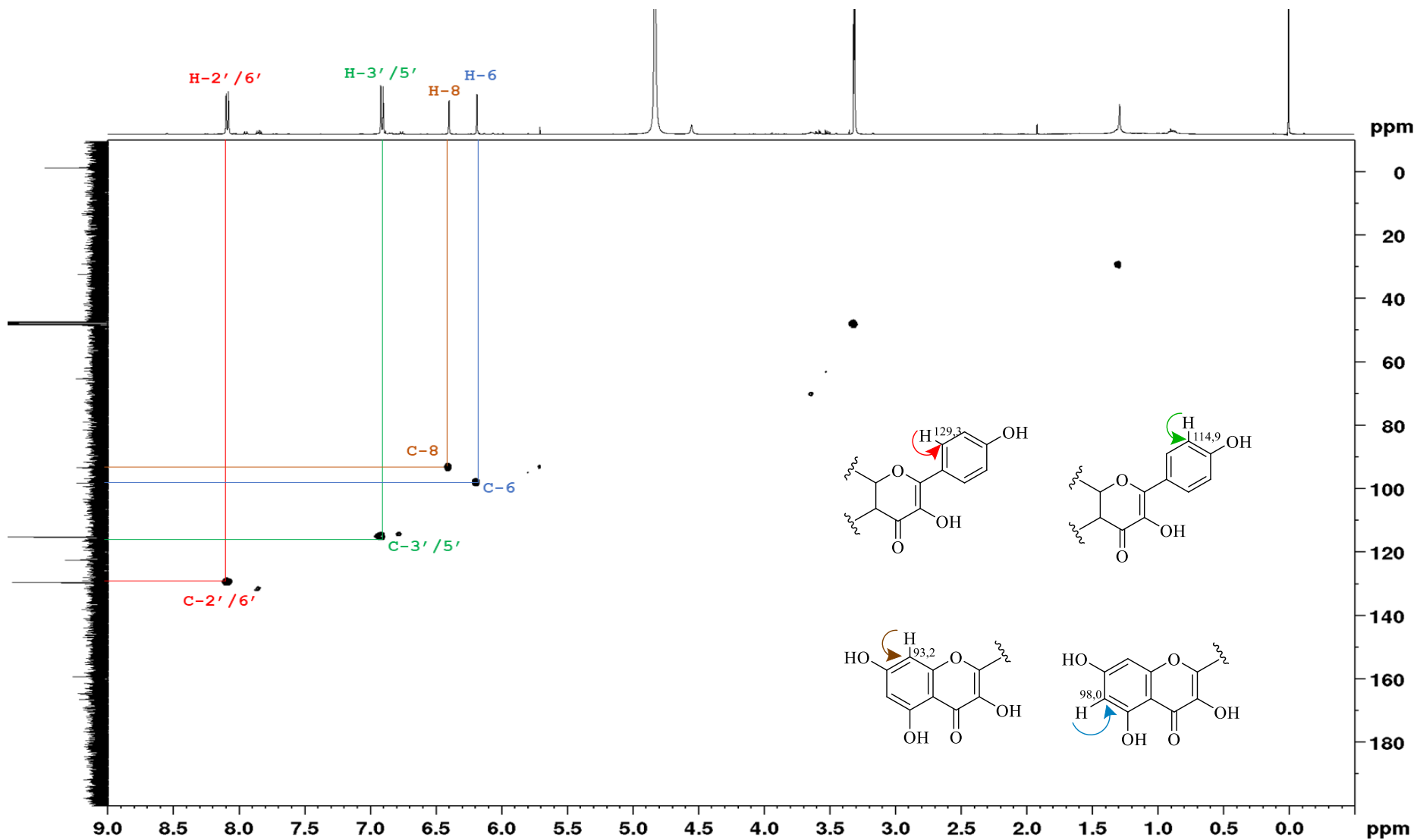
H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XV	Moura, Vilegas e dos Santos ⁷⁴	Substância XV	Agrawal ⁷⁰
2			146,7	146,8
3				135,6
4				175,9
5			161,7	160,7
6	6,19 (d , $^4J = 2,0$)	6,20 (d , $^4J = 2,0$)	98,0	98,2
7			164,3	163,9
8	6,40 (d , $^4J = 2,0$)	6,44 (d , $^4J = 2,0$)	93,2	93,5
9			156,9	156,2
10			103,4	103,1
1'			122,4	121,7
2'/6'	8,09 (d , $^3J = 8,9$)	8,05 (d , $^3J = 8,5$)	129,3	129,5
3'/5'	6,90 (d , $^3J = 8,9$)	6,94 (d , $^3J = 8,5$)	114,9	115,4
4'			159,3	159,2

Figura 84-Espectro de RMN de ^1H da substância XV (MeOD, 500 MHz).



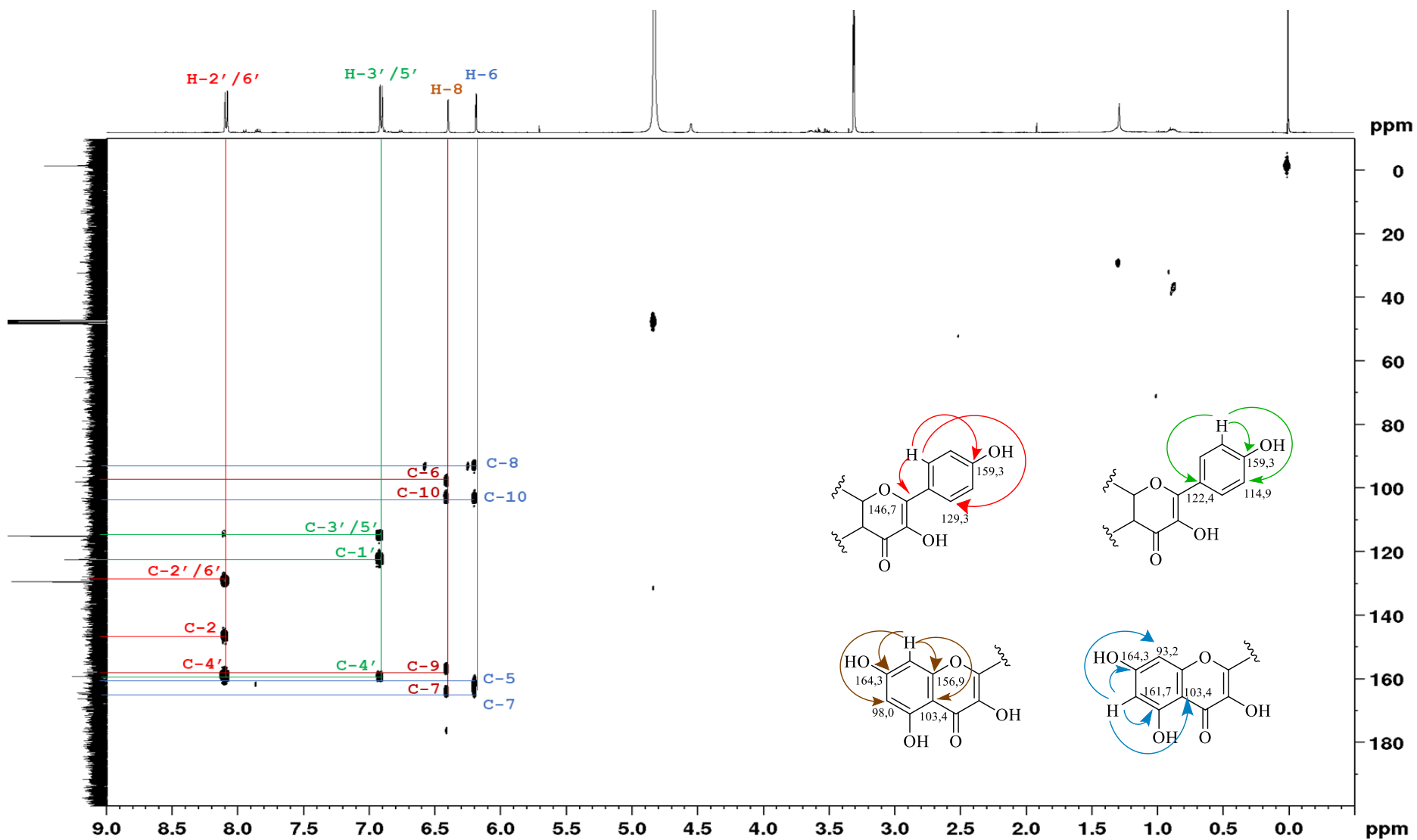
Fonte: Autora.

Figura 85-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da substância XV (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



Fonte: Autora.

Figura 86-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da substância XV (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



Fonte: Autora.

5.2.3.2 Identificação das substâncias XVI e XVII

A substância **XVI** (majoritária) foi identificada em mistura com a substância **XVII** (minoritária). Elas foram obtidas da fração metanólica das folhas, apresentando-se como um sólido amorfo de coloração amarela-esverdeada. Estas substâncias foram identificadas através da análise de experimentos de RMN em uma e duas dimensões, espectrometria de massas, além de comparação com dados da literatura⁷⁵.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 89) mostrou sinais característicos da aglicona kaempferol. Para o composto majoritário foi observada a presença de dois dupletos em δ_{H} 8,06 (2H, d , $^3J = 8,9$ Hz) e δ_{H} 6,89 (2H, d , $^3J = 8,9$ Hz), atribuídos aos hidrogênios H-2'/6' e H-3'/5', respectivamente. Neste mesmo experimento foram observados dois dupletos em δ_{H} 6,41 (1H, d , $^4J = 2,1$ Hz) e δ_{H} 6,21 (1H, d , $^4J = 2,1$ Hz) atribuídos aos hidrogênios H-8 e H-6 do anel A.

Para o composto minoritário foi observada a presença de dois dupletos em δ_{H} 8,08 (2H, d , $^3J = 9,0$ Hz) e δ_{H} 6,88 (2H, d , $^3J = 9,0$ Hz), referentes aos hidrogênios H-2'/6' e H-3'/5', respectivamente, e dois dupletos em δ_{H} 6,41 (1H, d , $^4J = 2,1$ Hz) e δ_{H} 6,21 (1H, d , $^4J = 2,1$ Hz) atribuídos aos hidrogênios H-8 e H-6 do anel A que mantém uma relação *meta* entre si.

No mapa de contorno HSQC (Figura 90), pôde-se observar que o duplete em δ_{H} 6,21 (H-6) apresenta correlação com um sinal de carbono em δ_{C} 98,5; atribuído ao carbono C-6. No espectro de HMBC (Figura 91), observou-se a correlação deste duplete a duas ligações (2J) com os carbonos em δ_{C} 161,5 (C-5) e δ_{C} 164,6 (C-7) e a três ligações (3J) com os carbonos em δ_{C} 93,3 (C-8) e δ_{C} 104,4 (C-10).

O duplete em δ_{H} 6,41 (H-8) mostrou correlação (HSQC) com o sinal de carbono em δ_{C} 93,5; referente ao carbono C-8, enquanto no espectro de HMBC foi observada a correlação deste duplete a duas ligações (2J) com os carbonos em δ_{C} 164,6 (C-7) e δ_{C} 157,0 (C-9) e a três ligações (3J) com os carbonos em δ_{C} 98,5 (C-6) e δ_{C} 104,4 (C-10).

No espectro de HSQC observou-se a correlação do duplete em δ_{H} 6,89 (H-3'/5') com o sinal de carbono em δ_{C} 114,7; referente aos carbonos C-3'/5'. No espectro de HMBC estes hidrogênios (H-3'/5') apresentaram correlação a duas ligações (2J) com o carbono em 160,2 (C-4') e a três ligações (3J) com os carbonos em δ_{C} 121,4 (C-1') e em δ_{C} 114,7 (C-3'/5').

Observou-se ainda, no espectro de HSQC, a correlação do duplete em δ_{H} 8,06 (H-2'/6') com o sinal de carbono em δ_{C} 130,8; referente aos carbonos C-2'/6'. No espectro de

HMBC foi possível observar a correlação destes hidrogênios (H-2'/6') em três ligações (3J) com os carbonos em δ_C 160,2 (C-4') e δ_C 130,8 (C-2'/6').

A presença de multipletos relativos a hidrogênios carbinólicos na região entre δ_H 3,18 e 3,70 indicou a presença de glicosídeo na estrutura, o que foi corroborado pelos sinais referentes aos hidrogênios anoméricos em δ_H 5,23 (1H, *d*, $^3J = 7,5$ Hz) para o composto majoritário e δ_H 5,12 (1H, *d*, $^3J = 7,8$ Hz) para o minoritário.

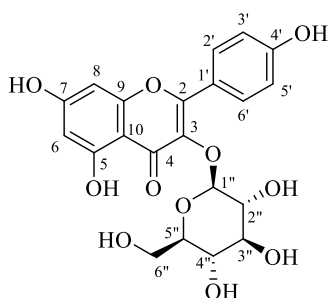
O resíduo de açúcar do composto majoritário foi confirmado na posição C-3 através da correlação observada no espectro de HMBC entre o hidrogênio anomérico em δ_H 5,23 com o carbono δ_C 134,1; atribuído ao carbono C-3 (3J). No espectro de HSQC pôde-se observar a correlação deste hidrogênio (H-1'') com o sinal de carbono em δ_C 102,7; referente ao carbono C-1''.

Em um flavonoide glicosilado, a configuração do glicosídeo ligado à aglicona pode ser determinada por meio do valor da constante de acoplamento do sinal do hidrogênio anomérico (Tabela 11, página 116)⁶⁹. Na amostra em questão, os valores das constantes de acoplamento dos sinais referentes aos hidrogênios anoméricos em δ_H 5,23 ($^3J = 7,5$ Hz) para o composto majoritário e δ_H 5,12 ($^3J = 7,8$ Hz) para o minoritário sugerem que as unidades de açúcar sejam os piranosídeos glicose, galactose ou xilose ligadas ao carbono C-3 pela face β .

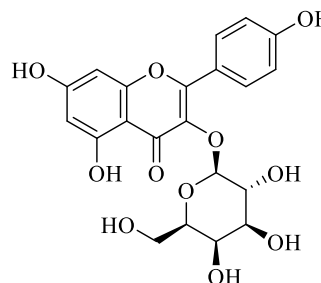
No espectro de massas de alta resolução em modo negativo (Figura 92) o pico do íon molecular $[M-H]^-$ foi observado em m/z 447,09320. Para este íon, a fórmula molecular calculada foi $C_{21}H_{19}O_{11}$ (erro de 2,264 ppm). O espectro MS/MS do íon em m/z 447,09320 (Figura 93) apresentou um fragmento em m/z 285,04028; correspondente à perda da unidade glicosídica, mais especificamente uma hexose, $[M-H-162]^-$.

Deste modo, com as informações obtidas nos experimentos de RMN anteriormente descritos, no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 94), além de comparação com dados da literatura⁷⁵ (Tabelas 16 e 17) foi possível concluir que a substância majoritária é o kaempferol-3-*O*- β -glicopiranosídeo (**XVI**), isolado pela primeira vez no gênero *Miconia* e a substância minoritária é o kaempferol-3-*O*- β -galactopiranosídeo (**XVII**) (Figura 87), previamente isolado das espécies *Miconia rubiginosa*⁴⁸ e *Miconia alypifolia*²¹.

Figura 87-Estruturas das substâncias **XVI** e **XVII**, identificadas como kaempferol-3-*O*- β -glicopiranosídeo e kaempferol-3-*O*- β -galactopiranosídeo.



(XVI)



(XVII)

Fonte: autora.

Tabela 16-Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) da substância **XVI** em comparação com os dados de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) e ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) do kaempferol-3-*O*- β -glicopiranosídeo. (continua)

H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XVI	Nugroho et al. ⁷⁵	Substância XVI	Nugroho et al. ⁷⁵
2			157,7	156,3
3			134,1	133,2
4			178,1	177,4
5			161,5	161,2
6	6,21 (d , $^4J = 2,1$)	6,21 (d , $^4J = 2,1$)	98,5	98,7
7			164,6	164,2
8	6,41 (d , $^4J = 2,1$)	6,43 (d , $^4J = 2,1$)	93,5	93,6
9			157,0	156,3
10			104,4	103,9
1'			121,4	120,9
2'/6'	8,06 (d , $^3J = 8,9$)	8,04 (d , $^3J = 8,8$)	130,8	130,7
3'/5'	6,89 (d , $^3J = 8,9$)	6,89 (d , $^3J = 8,8$)	114,7	115,0
4'			160,2	159,9
1''	5,23 (d , $^3J = 7,5$)	5,54 (d , $^3J = 7,2$)	102,7	100,9
2''	3,46 (m)		74,3	74,2
3''	3,44 (m)		76,6	76,4
4''	3,33 (m)		69,9	69,9
5''	3,22 (m)		77,0	77,4

Cont. Tabela 16

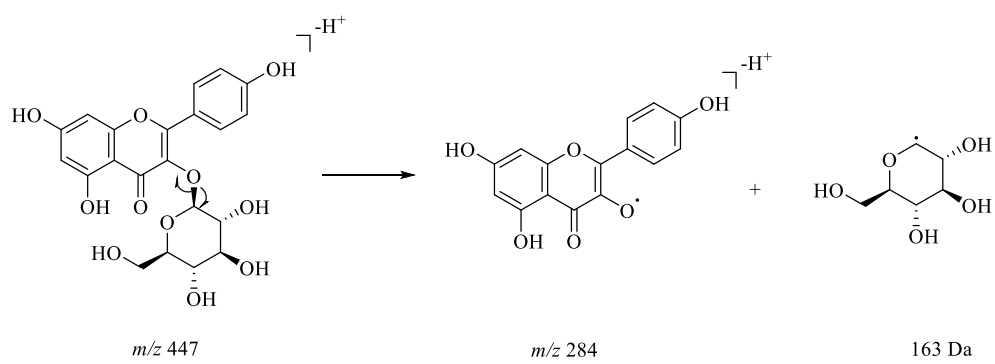
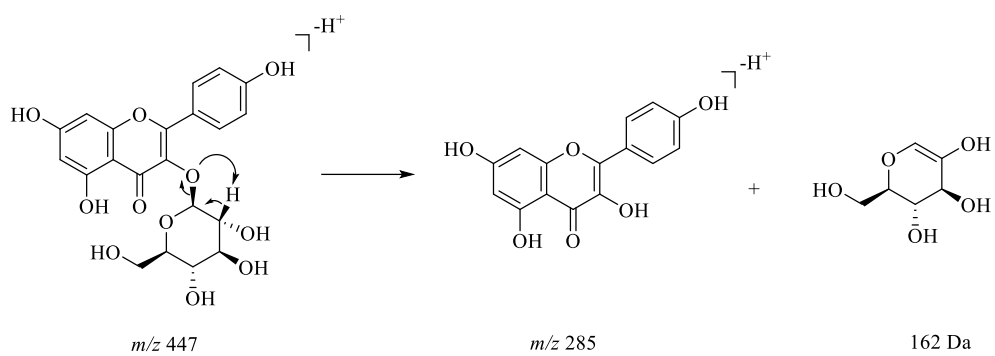
H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XVI	Nugroho et al. ⁷⁵	Substância XVI	Nugroho et al. ⁷⁵
6''	3,55 (<i>m</i>) e 3,69 (<i>dd</i> , $J=11,8$ e $2,5$)		61,2	60,8

Tabela 17-Dados de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) da substância **XVII** em comparação com os dados de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) e ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) do kaempferol-3-*O*- β -galactopiranosídeo.

H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XVII	Nugroho et al. ⁷⁵	Substância XVII	Nugroho et al. ⁷⁵
2			157,7	156,4
3			134,1	133,3
4			178,1	177,6
5			161,7	161,2
6	6,21 (<i>d</i> , $^4J = 2,1$)	6,18 (<i>d</i> , $^4J = 1,9$)	98,5	99,4
7			164,7	164,2
8	6,41 (<i>d</i> , $^4J = 2,1$)	6,42 (<i>d</i> , $^4J = 1,9$)	93,3	93,7
9			157,2	156,4
10			104,3	104,0
1'			121,4	120,9
2'/6'	8,08 (<i>d</i> , $^3J = 9,0$)	8,06 (<i>d</i> , $^3J = 8,8$)	131,0	131,0
3'/5'	6,88 (<i>d</i> , $^3J = 9,0$)	6,85 (<i>d</i> , $^3J = 8,8$)	114,7	115,1
4'			160,2	160,0
1''	5,12 (<i>d</i> , $^3J = 7,8$)	5,39 (<i>d</i> , $^3J = 7,5$)	103,6	101,7
2''	3,81 (<i>m</i>)		71,2	71,2
3''	3,55 (<i>m</i>)		73,6	73,1
4''	3,83 (<i>m</i>)		68,6	67,9
5''	3,33 (<i>m</i>)		75,7	75,6
6''	3,60 (<i>m</i>) e 3,54 (<i>m</i>)		62,9	60,2

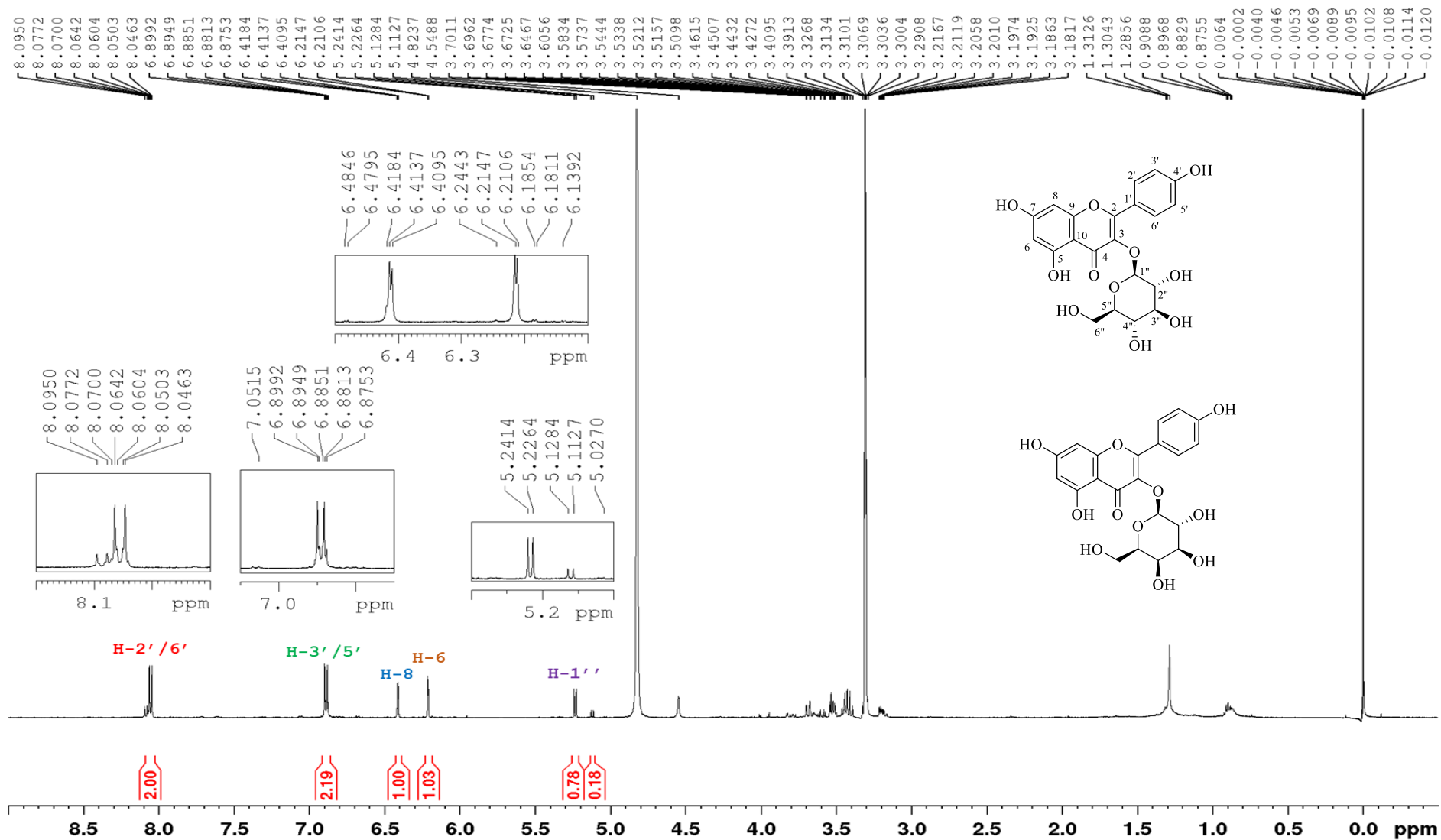
A proposta dos mecanismos de fragmentação da substância **XVI** é apresentada na Figura 88.

Figura 88-Mecanismos de fragmentação da substância **XVI**.



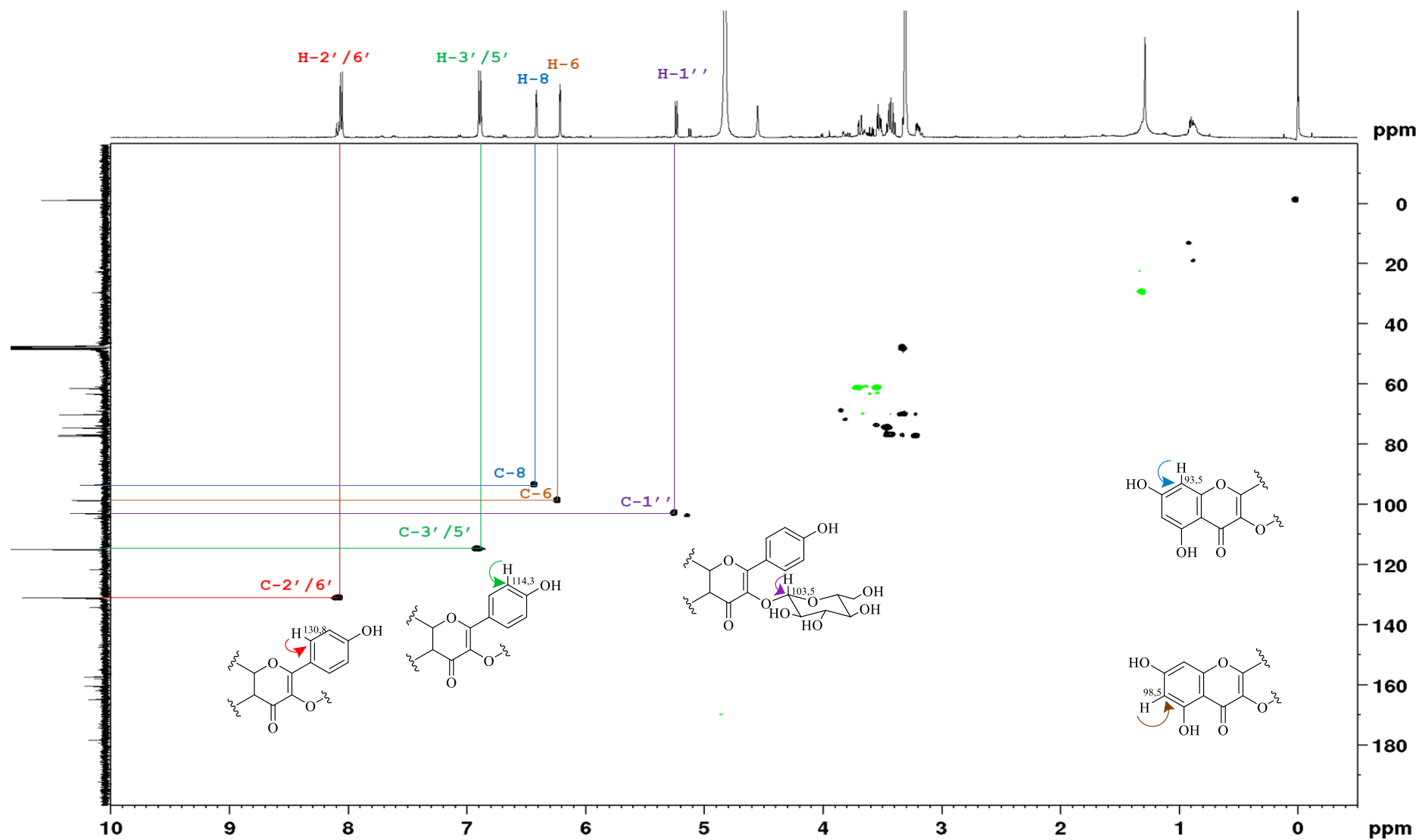
Fonte: autora.

Figura 89-Espectro de RMN de ^1H da mistura das substâncias XVI e XVII (MeOD, 500 MHz).



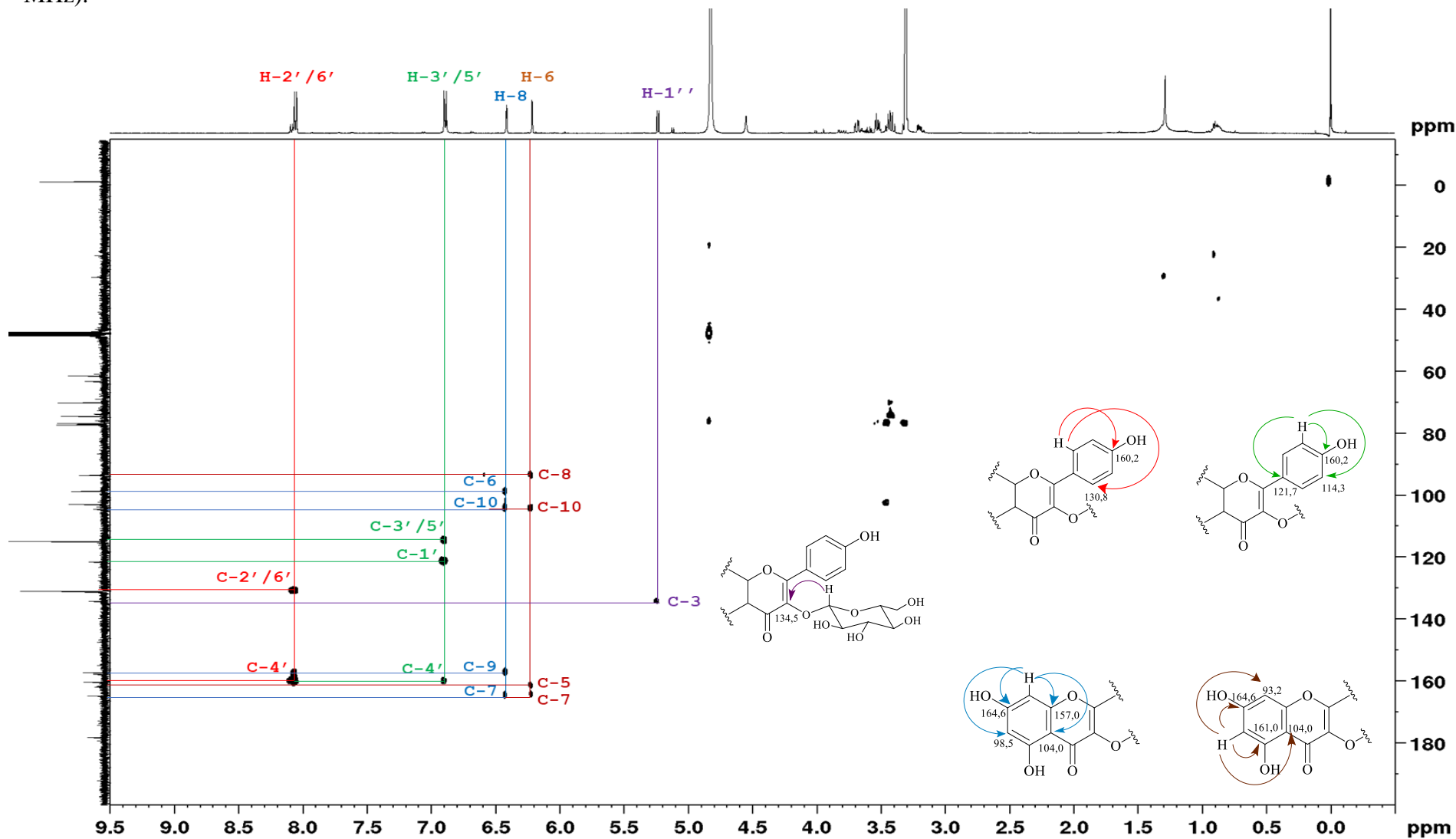
Fonte: Autora.

Figura 90-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da mistura das substâncias XVI e XVII (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



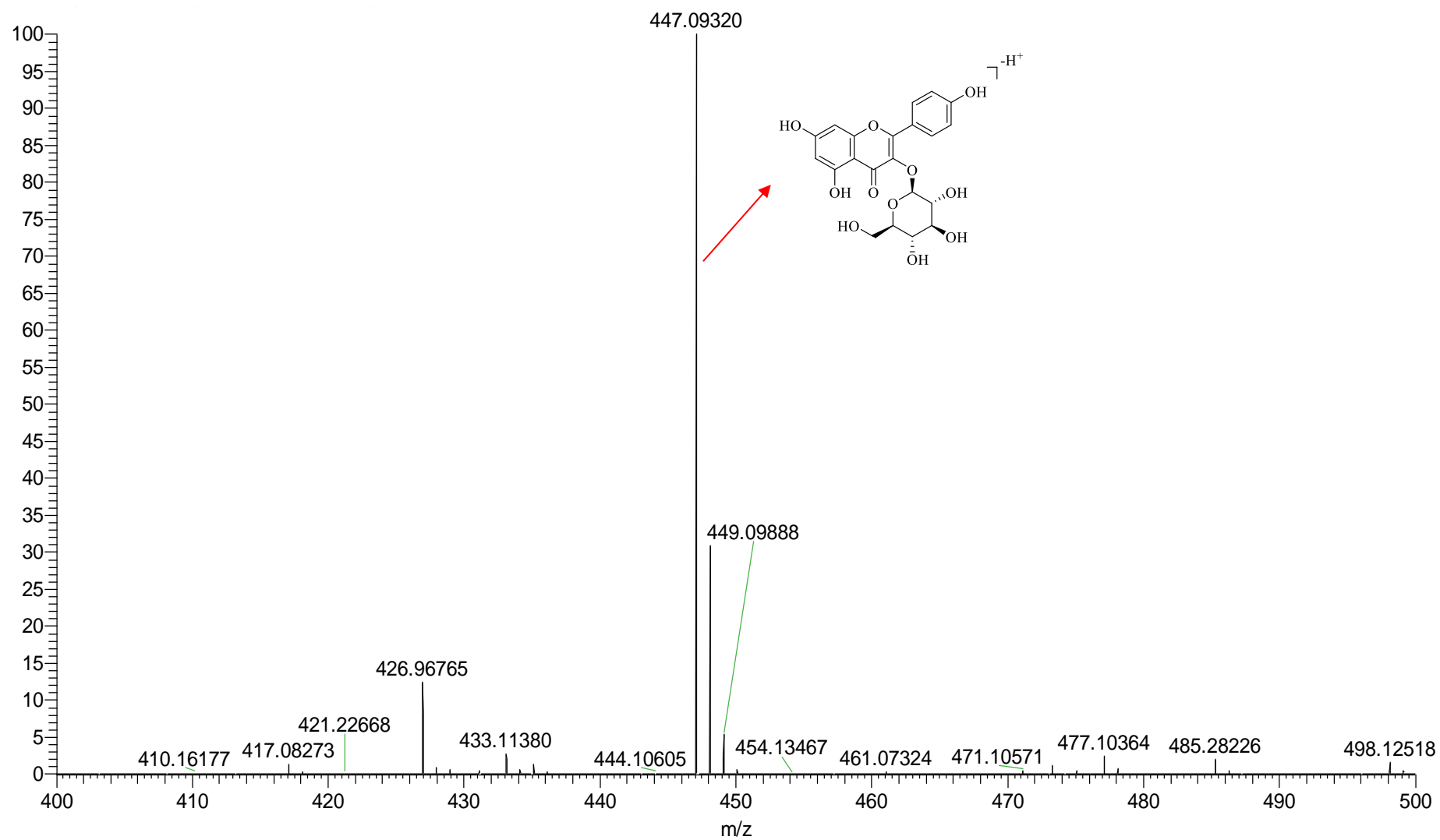
Fonte: Autora.

Figura 91-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da mistura das substâncias **XVI** e **XVII** (MeOD, ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).

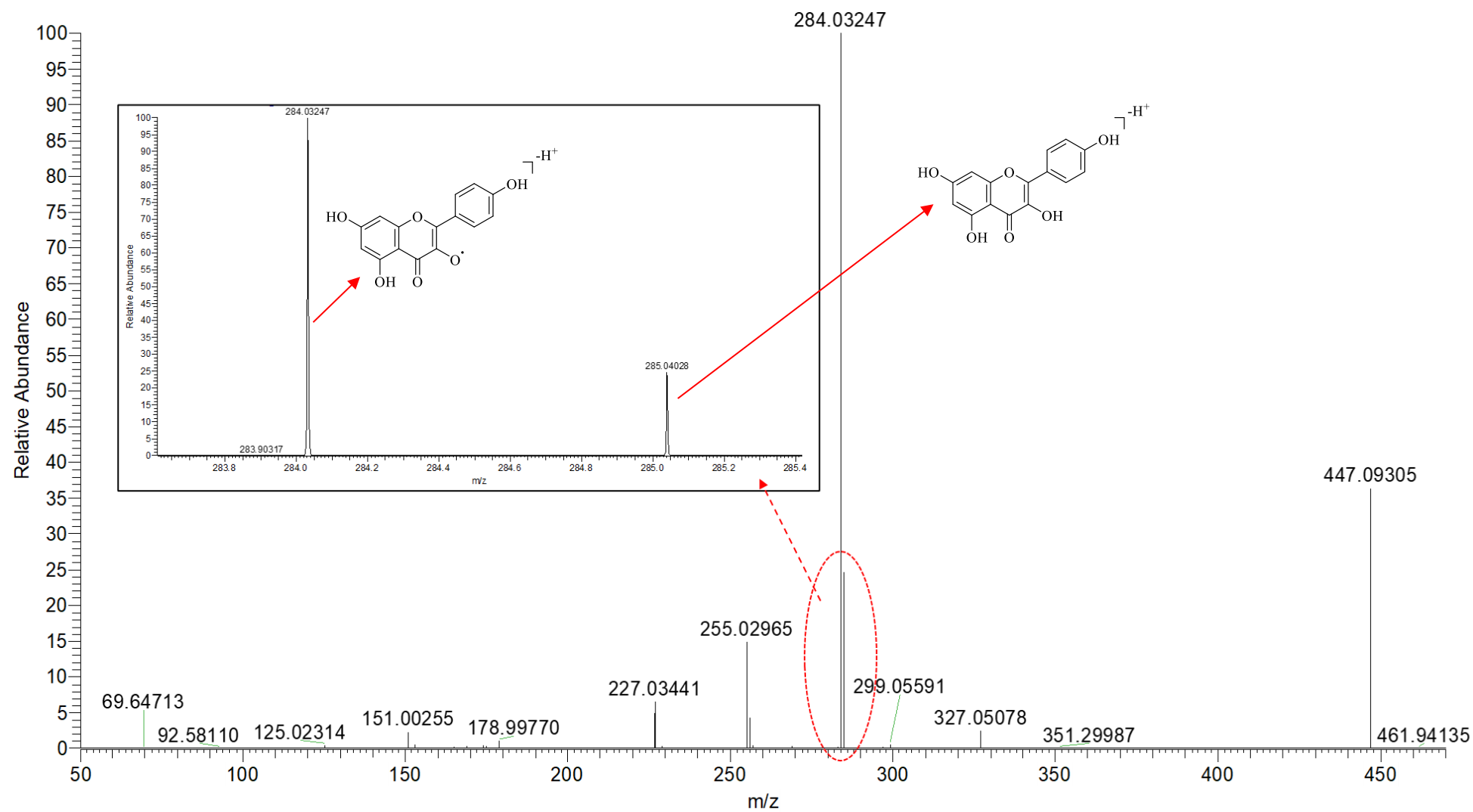


Fonte: Autora.

Figura 92-Espectro de massas de alta resolução no modo negativo da mistura das substâncias **XVI** e **XVII**.

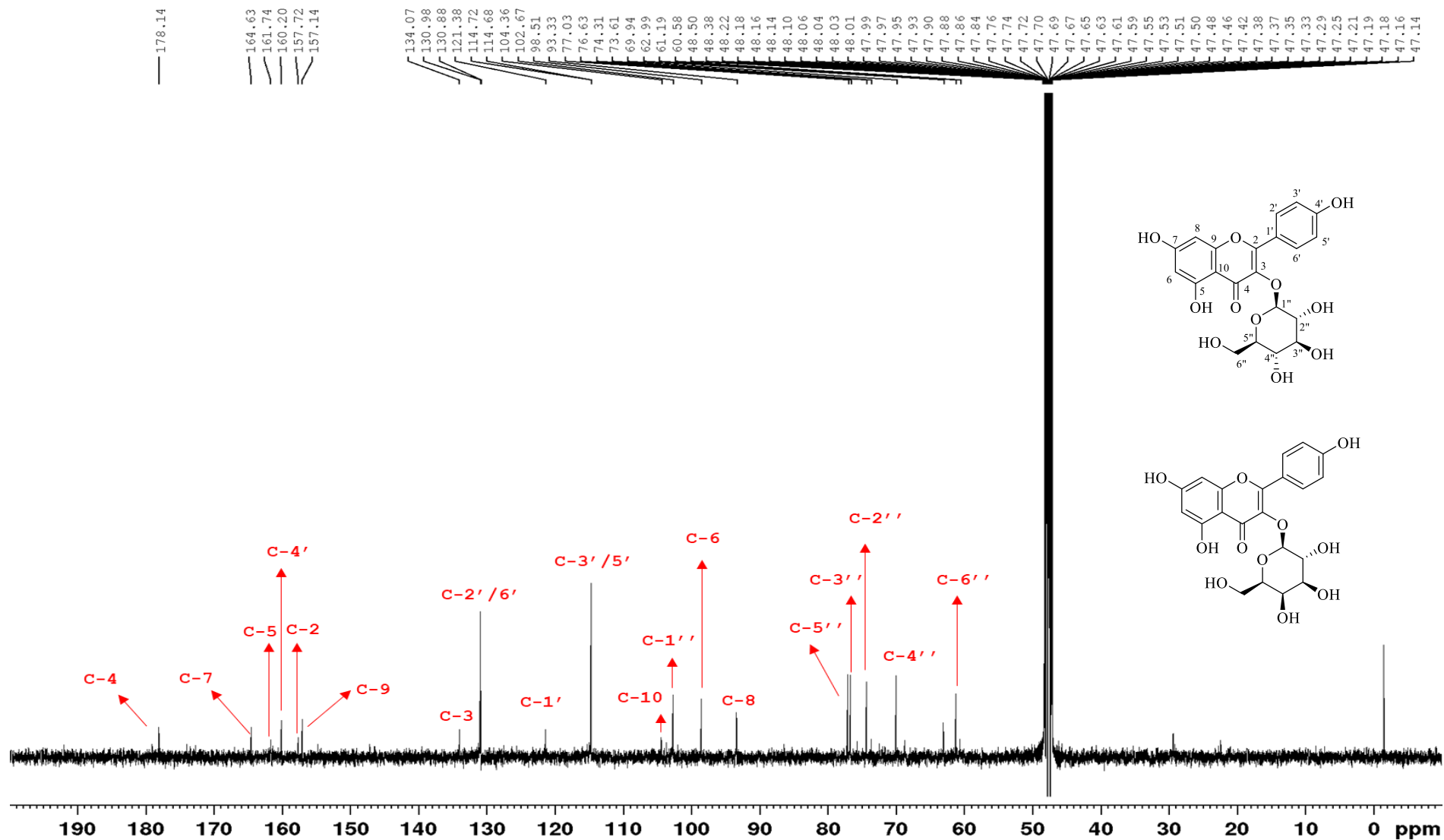


Fonte: Autora.

Figura 93-Espectro MS/MS do íon $[M-H]^-$ com m/z 447,09320.

Fonte: Autora.

Figura 94-Espectro de RMN de ^{13}C da mistura das substâncias XVI e XVII (MeOD, 125 MHz).



Fonte: Autora.

5.2.4 IDENTIFICAÇÃO DOS FEOFORBÍDEOS

5.2.4.1 Identificação da substância XVIII

A substância XVIII foi isolada da fração em acetato de etila das folhas, apresentando-se como um sólido amorfo de coloração preta azulada. Esta substância foi identificada através da análise de experimentos de RMN em uma e duas dimensões, além de comparação com dados da literatura⁷⁶.

O espectro de RMN de ^1H (Figuras 96-100) revelou absorções para um grupo de hidrogênios vinílicos em δ_{H} 7,97 (*dd*, $^3J = 17,8$ e $11,4$ Hz) (H-3¹), 6,29 (*dd*, $^3J = 17,8$ e $^2J = 1,3$ Hz) (H-3² E), 6,17 (*dd*, $^3J = 11,4$ e $^2J = 1,3$ Hz) (H-3² Z), três metilas olefínicas em δ_{H} 3,68 (H-12¹), 3,39 (H-2¹) e 3,21 (H-7¹) e três hidrogênios olefínicos em δ_{H} 9,52; 9,38 e 8,56; estes últimos condizentes com absorções dos hidrogênios 10, 5 e 20 do núcleo porfirínico das feofitinas do tipo A⁷⁶. Adicionalmente, observou-se um conjunto de deslocamentos químicos para hidrogênios metoxílicos em δ_{H} 3,87 (H-13⁴) e etoxílicos em δ_{H} 4,02 (*m*) (H-17⁴) e 1,11 (*t*, $^3J = 7,1$ Hz) (H-17⁵). A ausência de um envelope de sinais na região de hidrogênios alifáticos, normalmente atribuído à cadeia do fitol nas feofitinas, sugeriu que a substância XVIII tratava-se de um feoforbídeo.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 101) mostrou picos para 37 átomos de carbono, com destaque para os carbonos carbonílicos de grupo ceto em δ_{C} 189,6 (C-13¹) e de grupo éster em δ_{C} 172,2 (C-17³) e δ_{C} 169,6 (C-13³).

Através do espectro de HMBC (Figuras 102 e 103) foi possível confirmar as posições dos grupos substituintes no anel porfirínico. Este espectro mostrou correlação a três ligações entre os sinais em δ_{H} 6,29 (H-3² E) e 6,17 (H-3² Z) com δ_{C} 136,3, atribuído ao C-3; entre o sinal em δ_{H} 7,97 (H-3¹) com δ_{C} 131,8, atribuído ao C-2; e ainda entre o sinal em δ_{H} 1,68, atribuído ao CH_3 -8², com δ_{C} 145,2, atribuído ao C-8, permitindo assim definir as posições 3 e 8 para os grupos vinílico e etílico, respectivamente.

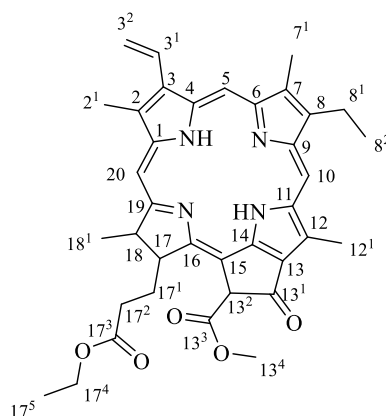
A confirmação das posições dos grupos metílicos olefínicos foi feita com base nas seguintes correlações observadas no espectro HMBC: CH_3 -2¹ (δ_{H} 3,39) com δ_{C} 142,1 (C-1, 3J) e δ_{C} 131,8 (C-2, 2J); CH_3 -7¹ (δ_{H} 3,21) com δ_{C} 136,2 (C-7, 2J), δ_{C} 145,2 (C-8, 3J) e δ_{C} 155,7 (C-6, 3J) e CH_3 -12¹ (δ_{H} 3,68) com δ_{C} 129,1 (C-13, 3J) e δ_{C} 137,4 (C-11, 3J). A presença do grupo metílico na posição 18 foi confirmada pela correlação entre o sinal em δ_{H} 1,81 (CH_3 -18¹) com δ_{C} 50,1, atribuído ao C-18 (2J) e com δ_{C} 172,9, atribuído ao C-19 (3J).

O deslocamento químico observado no espectro de ^{13}C para o carbono carbonílico C-13³ está em desacordo com os dados apontados por Schwikkard, Mulholland e Hutchings⁷⁶, Antas e Silva et al.⁷⁷ e Chaves et al.⁷⁸. Segundo estes autores, o deslocamento químico de C-13³ é δ_{C} 173,0. Entretanto, este valor de deslocamento químico é mais corretamente atribuído ao C-19, enquanto o valor do deslocamento químico de C-13³ é δ_{C} 169,6. Esta atribuição ao C-13³ é inequívoca, uma vez que o espectro de HMBC mostrou correlação entre o C-13³ (δ_{C} 169,6) e os hidrogênios H-13² (δ_{H} 6,26) (2J) e H-13⁴ (δ_{H} 3,88) (3J).

A confirmação da presença do grupo metil éster na posição C-13³ foi possível pela observação das seguintes correlações no espectro de HMBC: H-13² (δ_{H} 6,26) com δ_{C} 169,6 (C-13³, 2J) e CH_3 -13⁴ (δ_{H} 3,88) com δ_{C} 169,6 (C-13³, 3J). Do mesmo modo, a presença do grupo etil éster na posição C-17³ foi confirmada pelas correlações entre CH_2 -17⁴ (δ_{H} 4,02) e δ_{C} 172,2 (C-17³, 3J) e entre CH_3 -17⁵ (δ_{H} 1,10) e δ_{C} 60,5 (C-17⁴, 2J). O espectro COSY (Figura 104) mostrou o acoplamento entre os hidrogênios CH_2 -17⁴ e CH_3 -17⁵, corroborando a presença do grupo etil éster.

Com as informações obtidas nos experimentos de RMN descritos anteriormente, além dos dados do experimento de HSQC (Figuras 105 e 106) e em comparação com dados da literatura⁷⁶ (Tabelas 18 e 19) foi possível concluir que a substância em questão trata-se do etil feoforbídeo A (Figura 95), uma porfirina cuja ocorrência é relatada pela primeira vez no gênero *Miconia*.

Figura 95-Estrutura da substância XVIII, identificada como etil feoforbídeo A.



Fonte: autora.

Tabela 18-Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância XVIII em comparação com os dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do etil feoforbídeo A. (continua)

H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XVIII	Schwikkard, Mulholland e Hutchings ⁷⁶	Substância XVIII	Schwikkard, Mulholland e Hutchings ⁷⁶
1			142,1	142,0
2			131,8	131,8
2 ¹	3,39 (s)	3,39 (s)	12,1	12,1
3			136,3	136,5
3 ¹	7,97 (dd, $^3J = 17,8$ e 11,4)	7,95 (dd, $^3J = 15,2$ e 11,4)	129,0	129,0
3 ² (E)	6,29 (dd, $^3J = 17,8$ e $^2J = 1,3$)	6,25 (dd, $^3J = 15,2$ e $^2J = 2,3$)	122,8	122,8
3 ² (Z)	6,17 (dd, $^3J = 11,4$ e $^2J = 1,3$)	6,15 (dd, $^3J = 11,4$ e $^2J = 2,3$)		
4			136,5	136,2
5	9,36 (s)	9,36 (s)	97,6	97,5
6			155,7	155,5
7			136,2	136,1
7 ¹	3,21 (s)	3,15 (s)	11,2	11,2
8			145,2	145,2
8 ¹	3,67 (m)	3,66 (q, $^3J = 8,3$)	19,5	19,7
8 ²	1,68 (t, $^3J = 7,6$)	1,68 (t, $^3J = 8,3$)	17,4	17,3
9			151,0	151,0
10	9,50 (s)	9,50 (s)	104,4	104,4
11			137,9	137,9
12			129,1	129,1
12 ¹	3,68 (s)	3,65 (s)	12,1	12,2
13			129,1	129,0
13 ¹			189,6	189,6
13 ²	6,26 (s)	6,26 (s)	64,7	64,7
13 ³			169,6	173,0
13 ⁴	3,88 (s)	3,88 (s)	52,8	53,0
14			149,7	150,0
15			105,3	105,2

Cont. Tabela 18

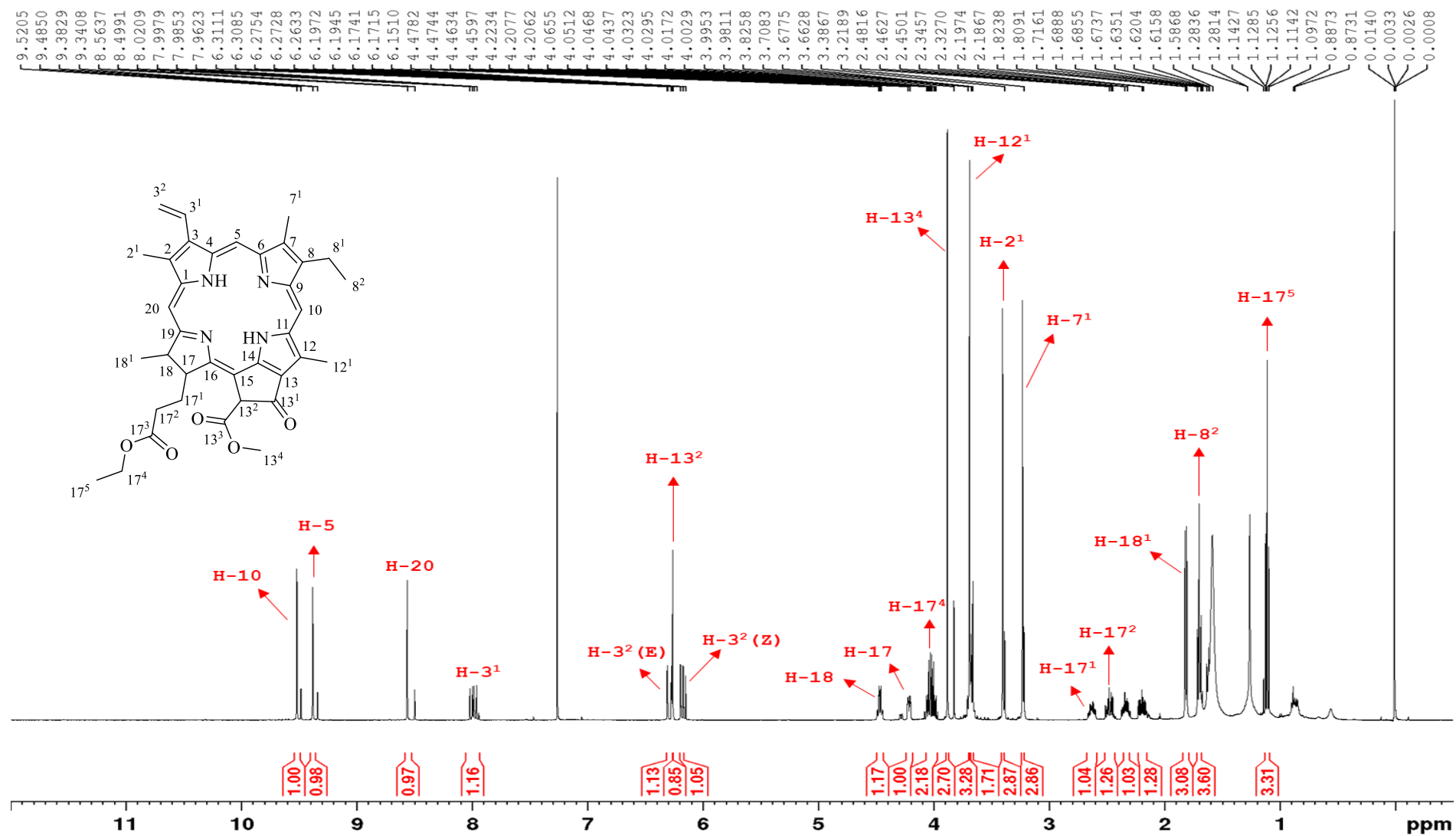
H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XVIII	Schwikkard, Mulholland e Hutchings ⁷⁶	Substância XVIII	Schwikkard, Mulholland e Hutchings ⁷⁶
16			161,3	161,3
17	4,21 (<i>m</i>)	4,21 (<i>m</i>)	51,2	51,1
17 ¹			29,8	29,8
17 ²			31,2	31,2
17 ³			172,2	172,0
17 ⁴	4,02 (<i>m</i>)	4,00 (<i>m</i>)	60,5	61,0
17 ⁵	1,10 (<i>t</i> , ³ $J = 7,3$)	1,10 (<i>t</i> , ³ $J = 7,6$)	14,1	14,0
18	4,47 (<i>m</i>)	4,46 (<i>m</i>)	50,1	50,1
18 ¹	1,81 (<i>d</i> , ³ $J = 7,3$)	1,80 (<i>d</i> , ³ $J = 7,6$)	23,0	22,7
19			172,9	170,0
20	8,55 (<i>s</i>)	8,55 (<i>s</i>)	93,1	93,1

Tabela 19-Dados de RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz), ¹³C (CDCl₃, 125 MHz), HMBC e COSY da substância XVIII. (continua)

H/C	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC		COSY
			² J_{CH}	³ J_{CH}	H \leftrightarrow H
1		142,1			
2		131,8			
2 ¹	3,39	12,0	C-2	C-1	
3		136,3			
3 ¹	7,97	129,1	C-3 ²	C-2; C-4	H-3 ² (<i>E</i>); H-3 ² (<i>Z</i>)
3 ² (<i>E</i>)	6,29	122,8	C-3 ¹	C-3	H-3 ¹
3 ² (<i>Z</i>)	6,17			C-3	H-3 ¹
4		136,5			
5	9,36	97,6		C-7	
6		155,7			
7		136,2			
7 ¹	3,21	11,2	C-7	C-6; C-8	
8		145,2			
8 ¹	3,67	19,5	C-8, C-8 ²	C-9	CH ₃ -8 ²
8 ²	1,68	17,4	C-8 ¹	C-8	CH ₂ -8 ¹

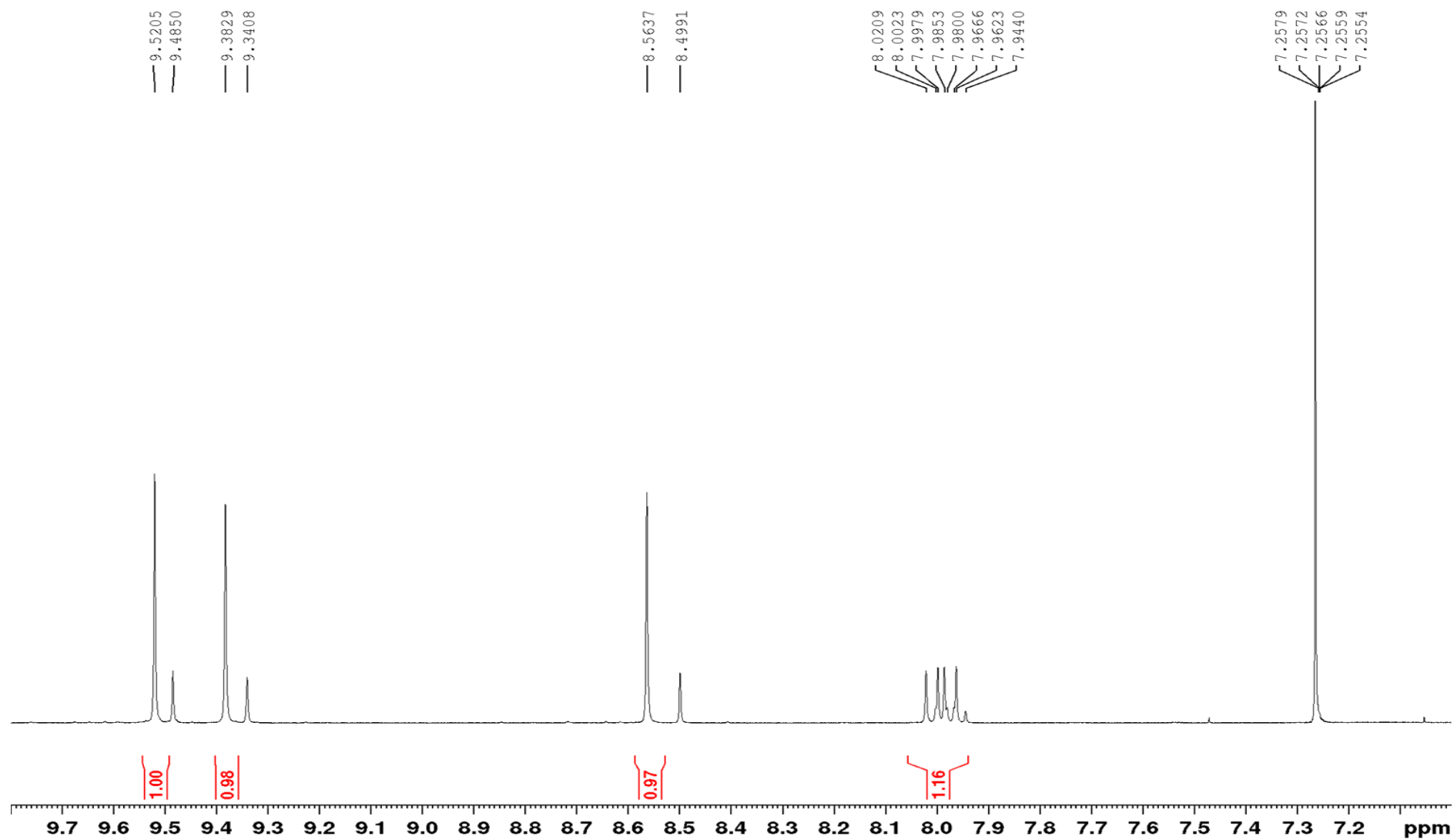
Cont. Tabela 19

H/C	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	HMBC		COSY
			$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	H \leftrightarrow H
9		151,0			
10	9,50	104,4	C-11	C-8; C-12	
11		137,4			
12		129,0			
12¹	3,68	12,1		C-11; C-13	
13		129,1			
13¹		189,6			
13²	6,26	64,7	C-15; C-13 ¹ ; C-13 ³	C-14	
13³		169,6			
13⁴	3,88	52,8	C-13 ³		
14		149,7			
15		105,3			
16		161,3			
17	4,21	51,2	C-17 ¹	C-18 ¹	
17¹		29,7	C-17 ²		
17²		31,2	C-17 ¹ ; C-17 ³	C-17	
17³		172,2			
17⁴	4,02	60,5	C-17 ⁵	C-17 ³	<u>CH</u> ₃ -17 ⁵
17⁵	1,10	14,1	C-17 ⁴		<u>CH</u> ₂ -17 ⁴
18	4,47	50,1	C-17; C-18 ¹ ; C-19	C-16; C-17 ¹	<u>CH</u> ₃ -18 ¹
18¹	1,81	23,1	C-18	C-19	H-18
19		172,9			
20	8,55	93,1	C-1	C-2; C-18	

Figura 96-Espectro de RMN de ^1H da substância XVIII (CDCl_3 , 500 MHz).

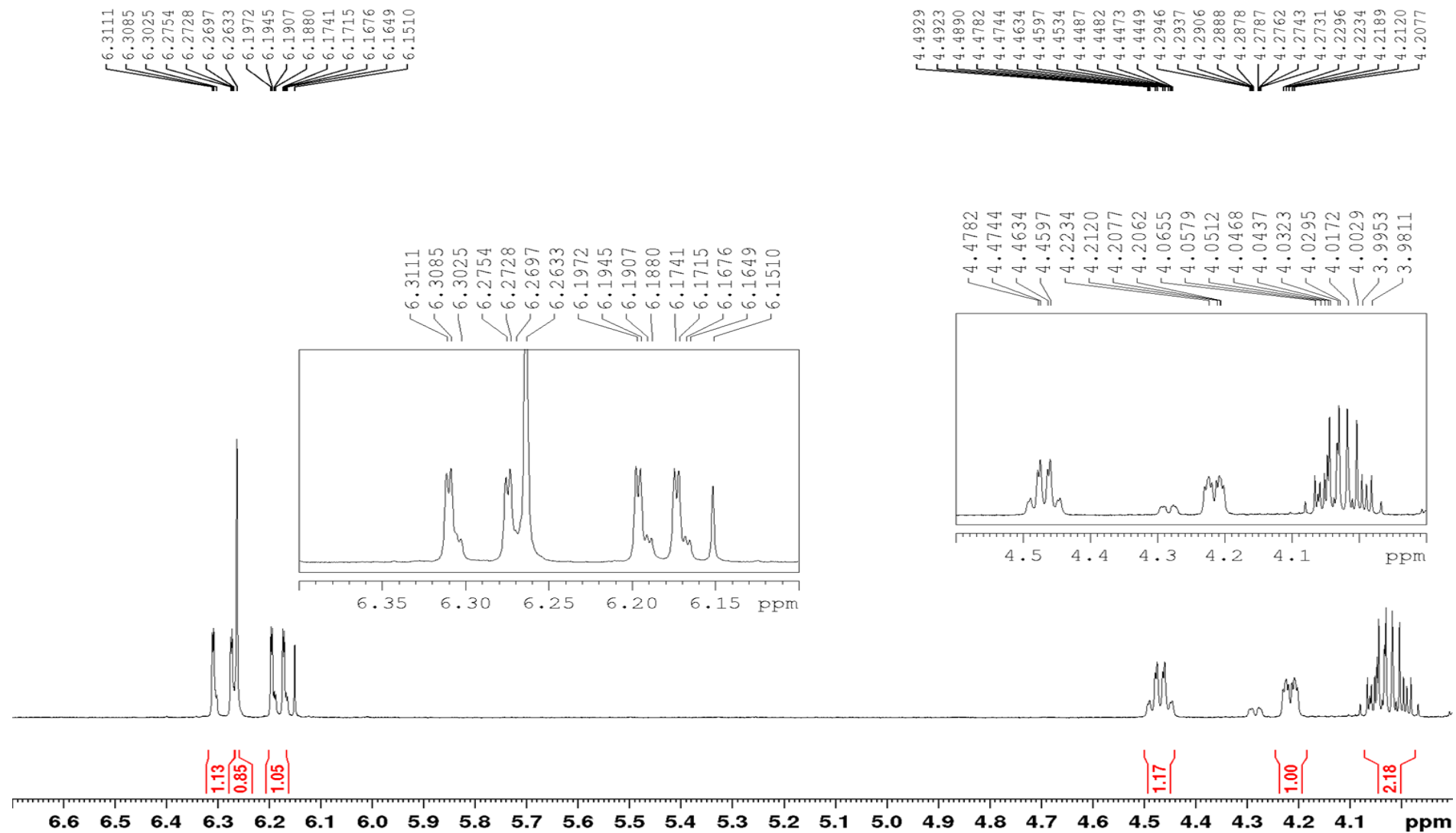
Fonte: Autora.

Figura 97-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **XVIII** na região entre 9,8 e 7,0 ppm (CDCl_3 , 500 MHz).



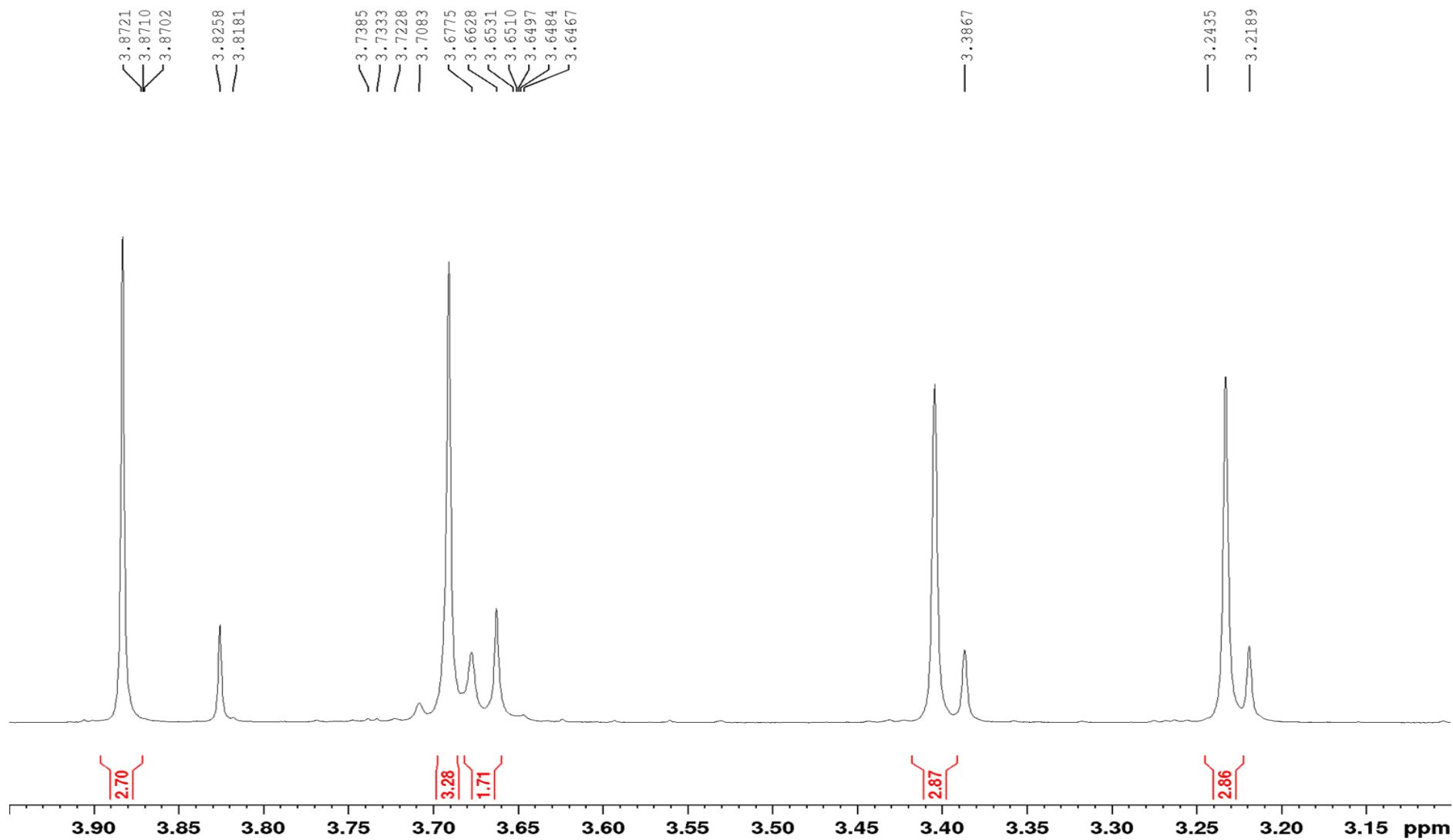
Fonte: Autora.

Figura 98-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **XVIII** na região entre 6,7 e 4,0 ppm (CDCl_3 , 500 MHz).



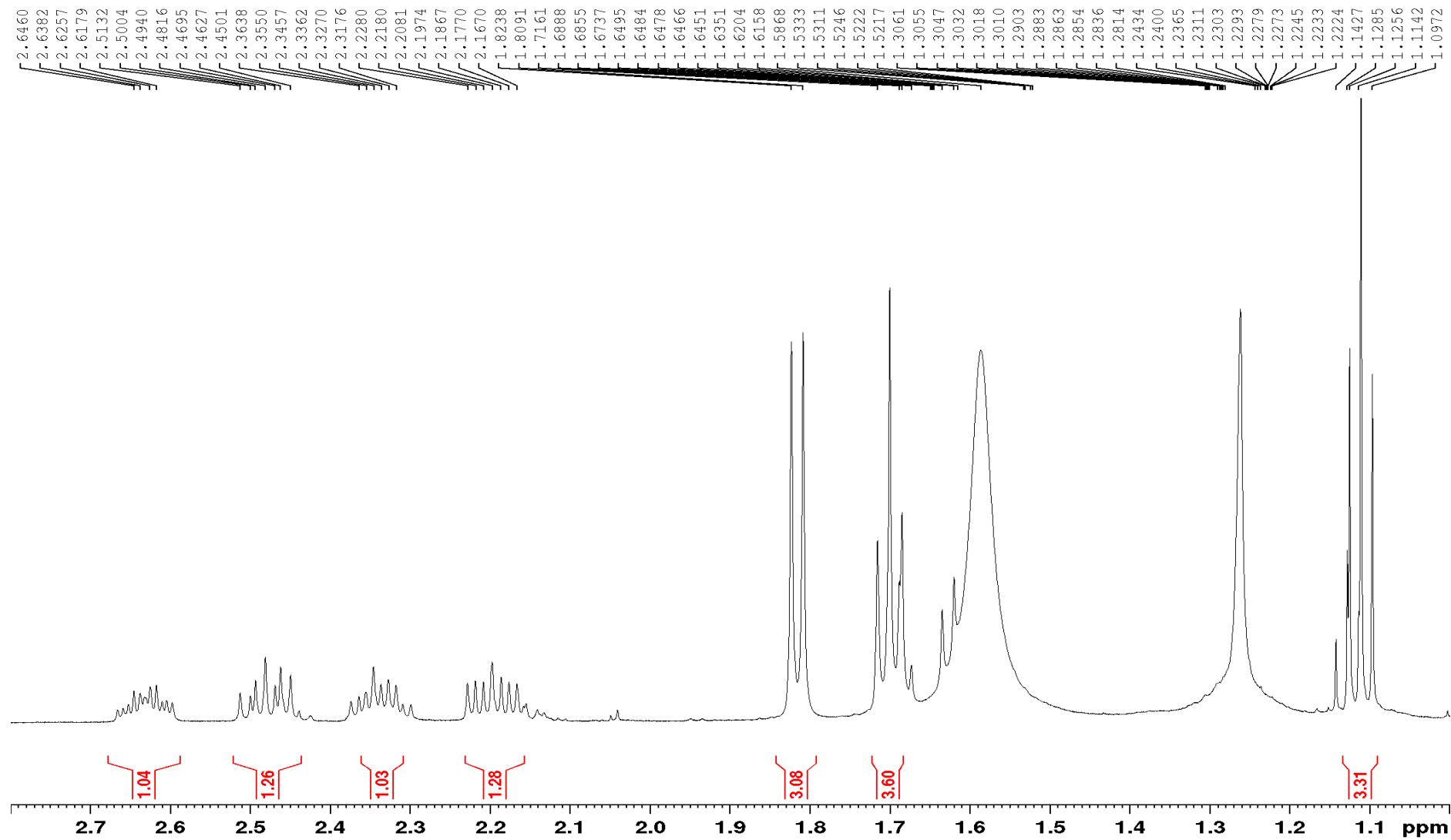
Fonte: Autora.

Figura 99-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **XVIII** na região entre 4,0 e 3,1 ppm (CDCl_3 , 500 MHz).



Fonte: Autora.

Figura 100-Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância XVIII na região entre 2,8 e 1,0 ppm (CDCl_3 , 500 MHz).



Fonte: Autora.

Figura 101-Espectro de RMN de ^{13}C da substância XVIII (CDCl_3 , 125 MHz).

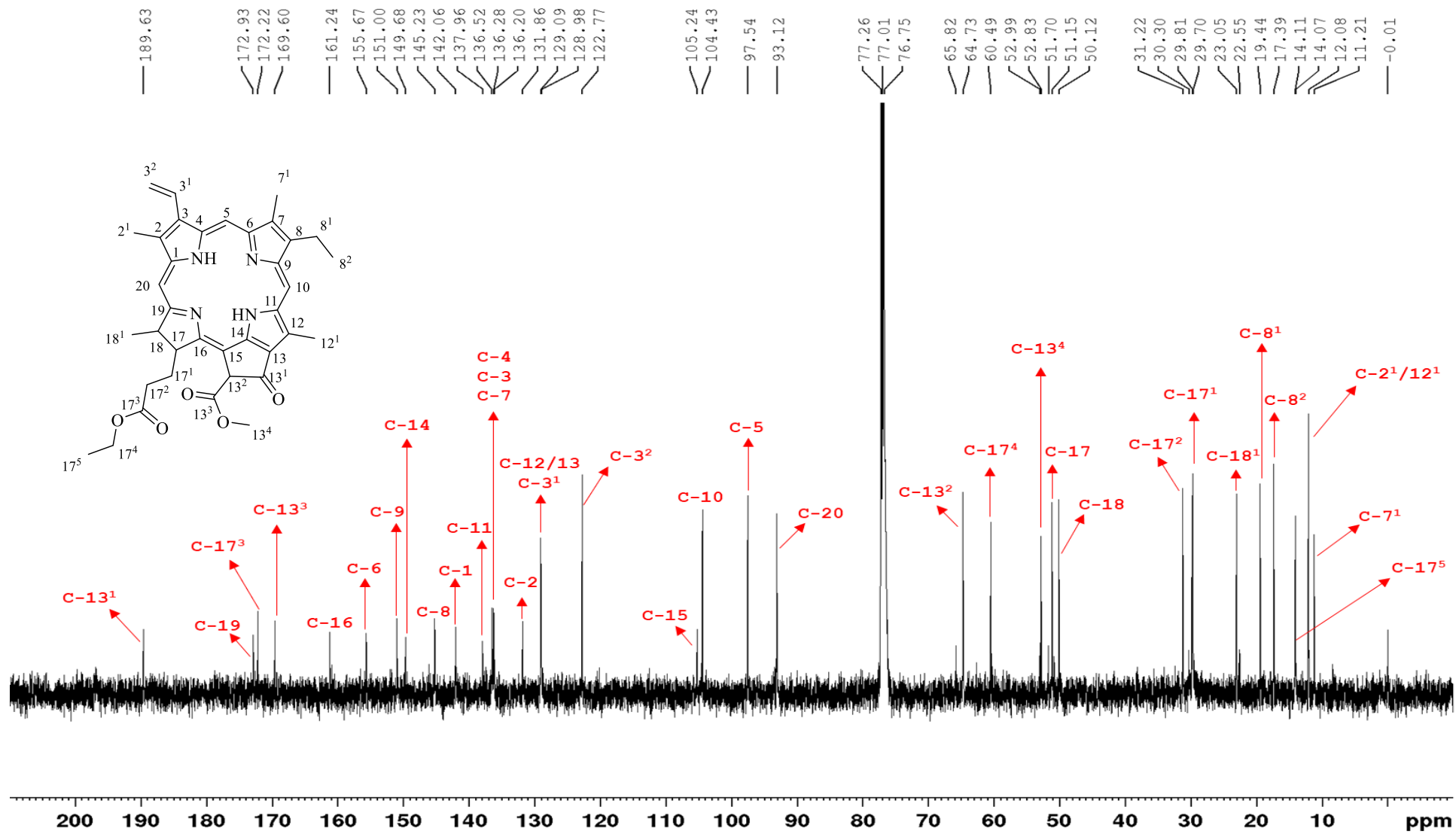
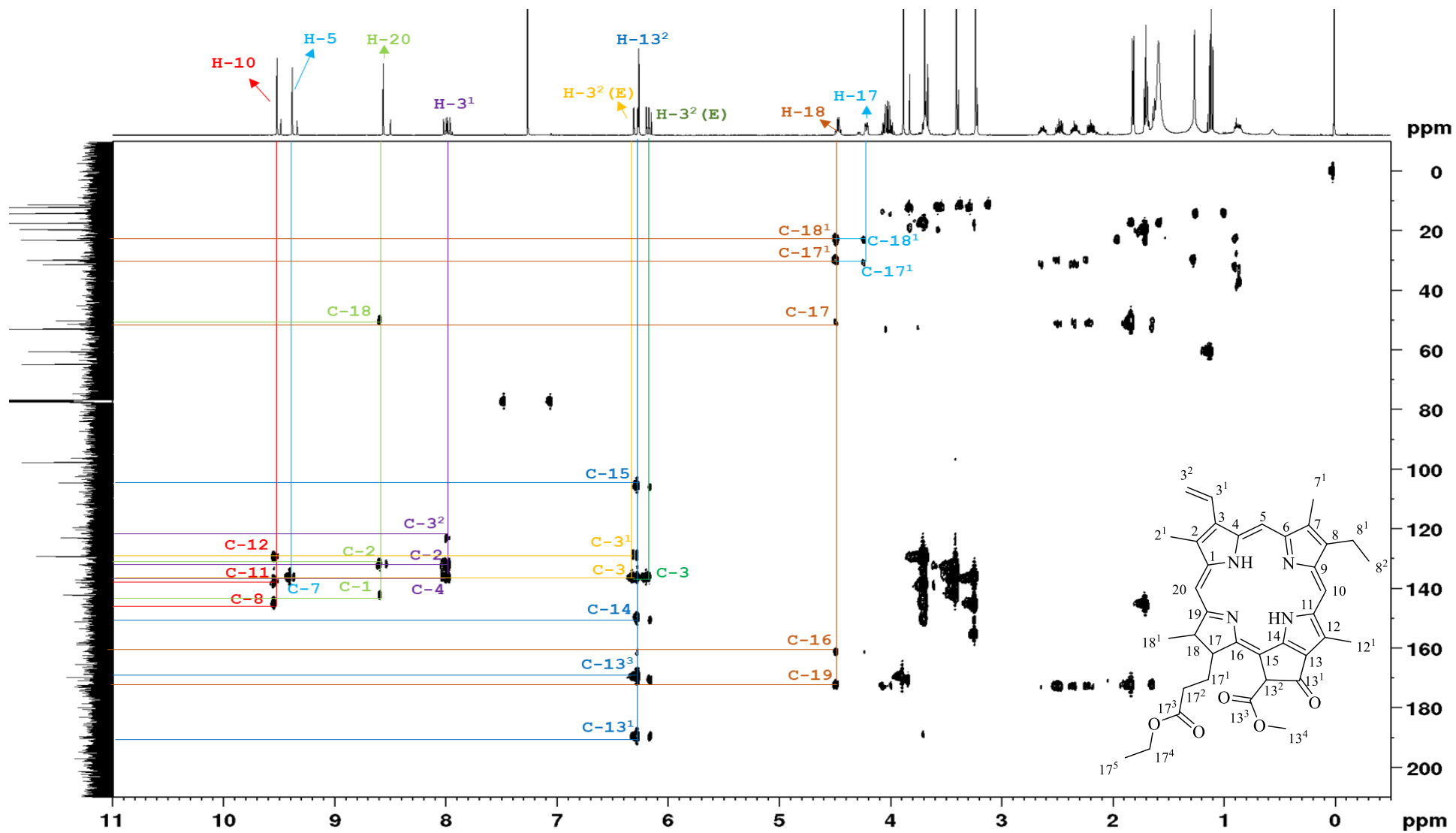
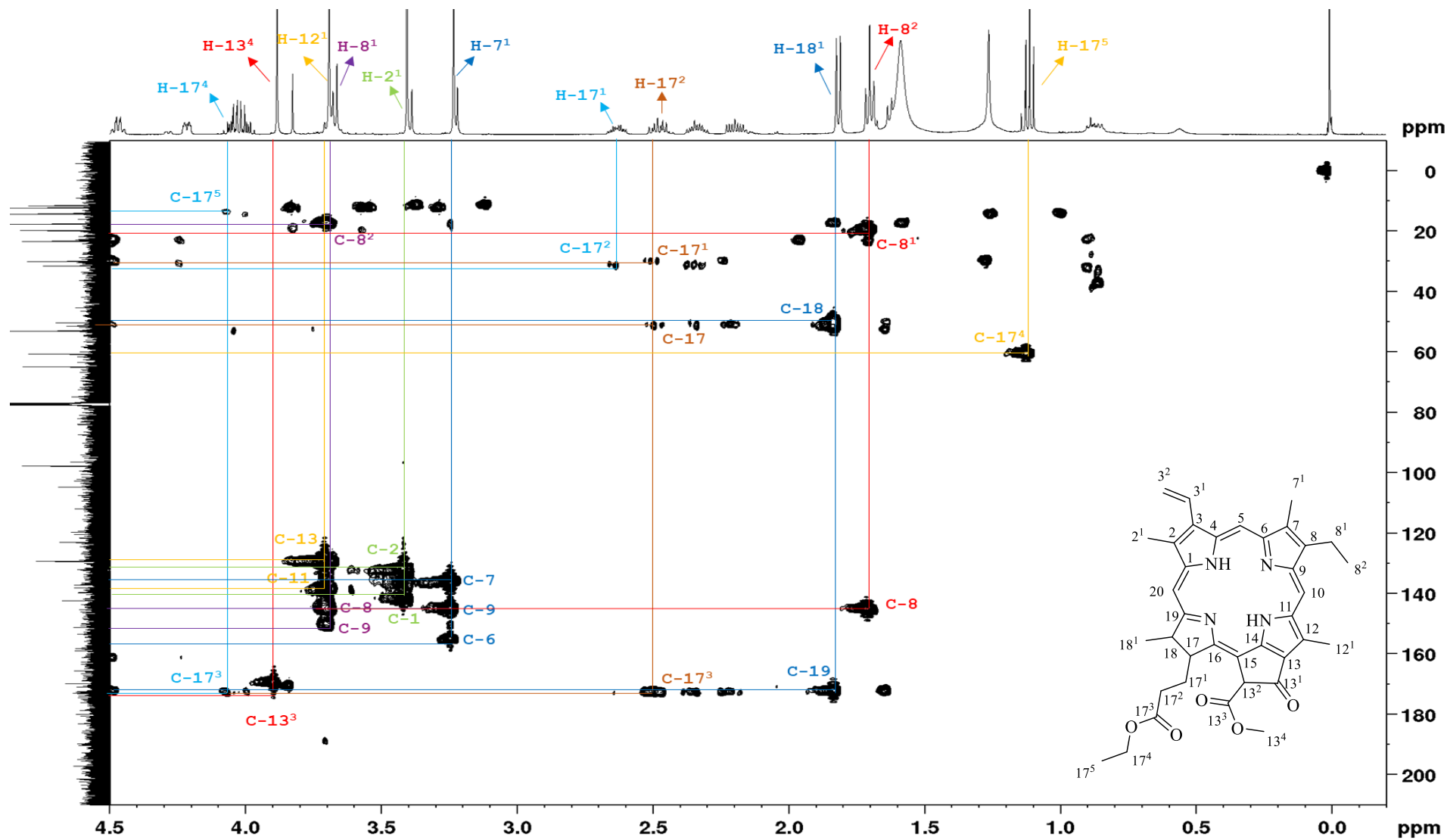


Figura 102-Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, da substância XVIII (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



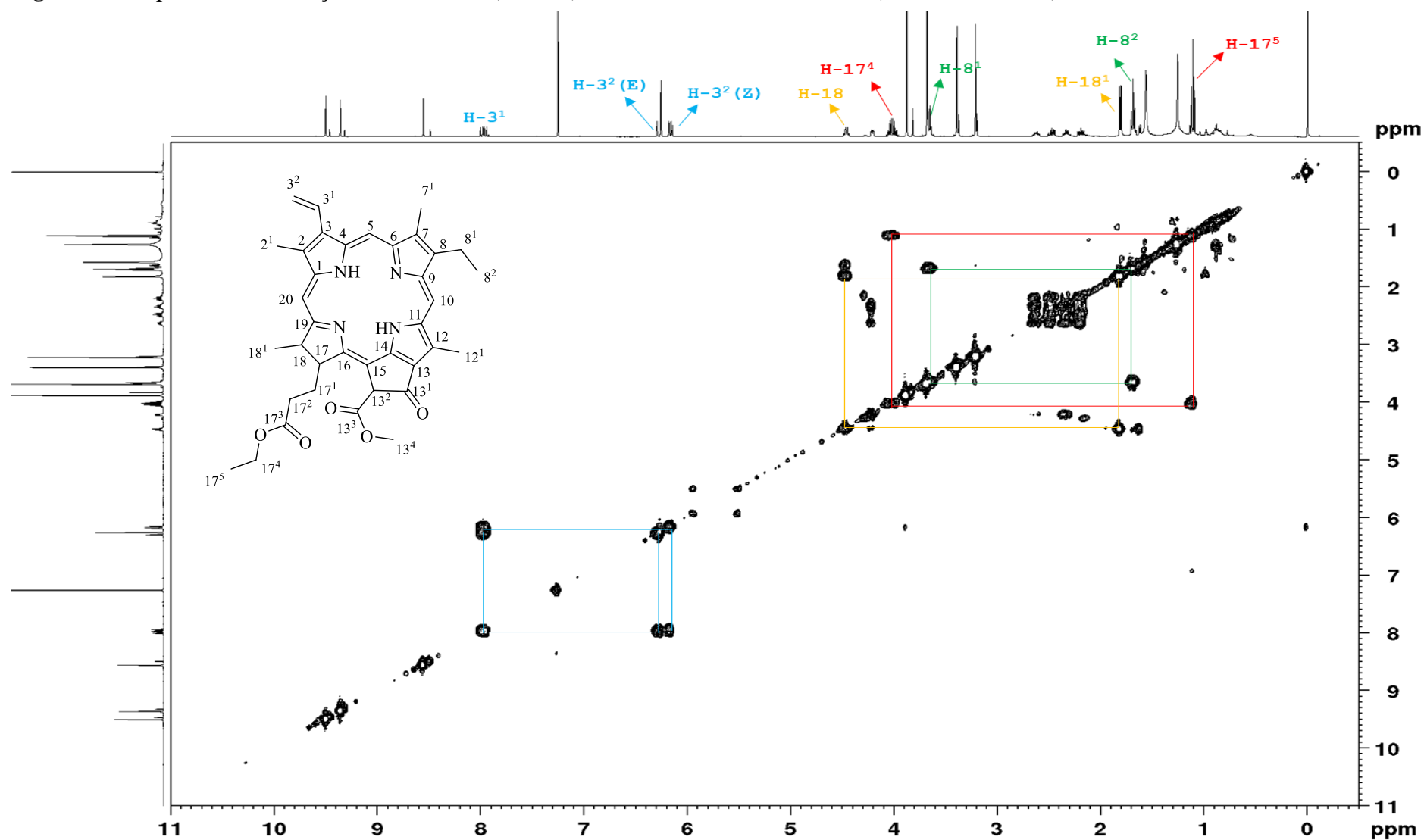
Fonte: Autora.

Figura 103-Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, da substância XVIII (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



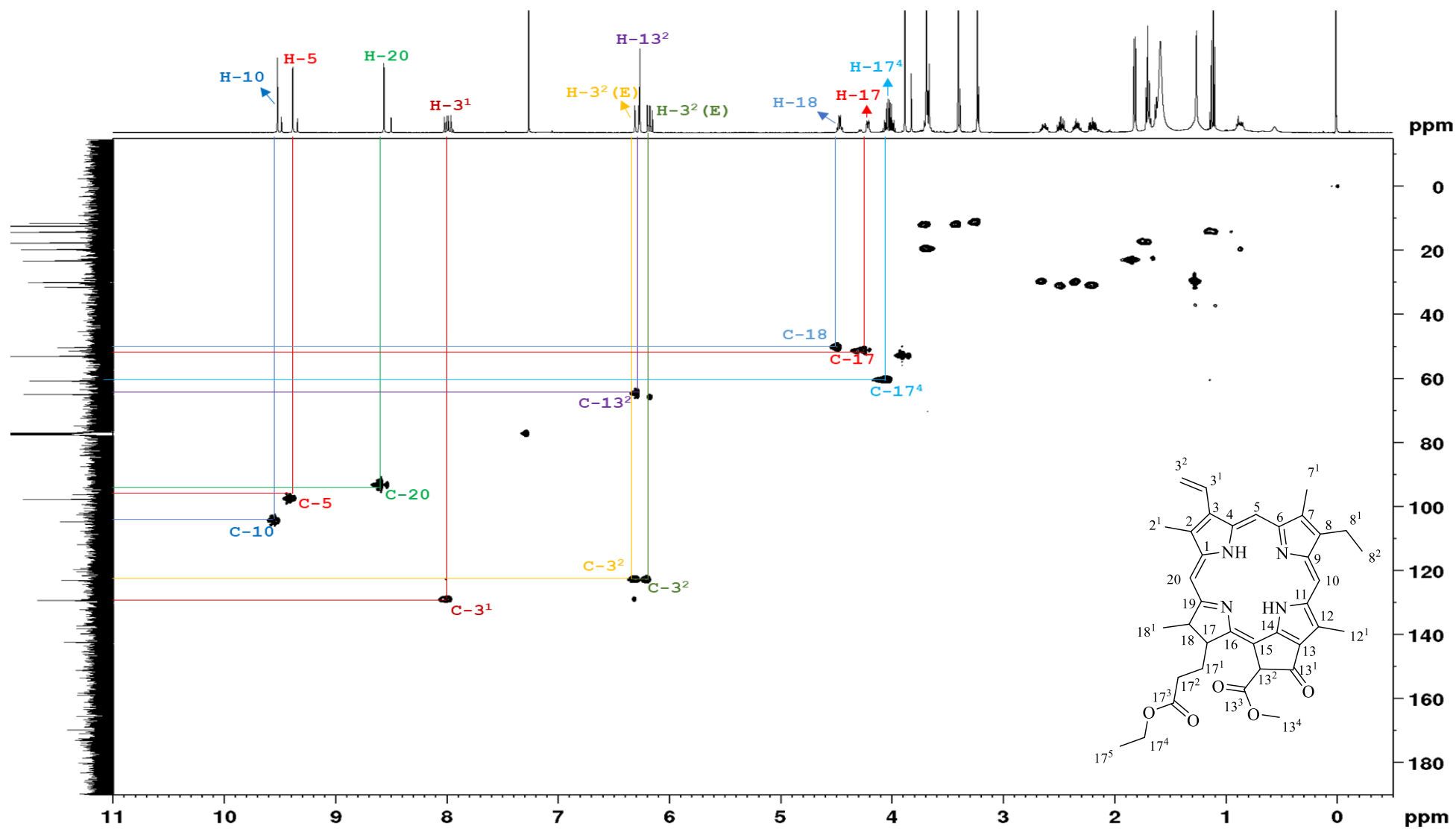
Fonte: Autora.

Figura 104-Espectro de correlação homonuclear ($^1\text{H} - ^1\text{H}$), COSY, da substância XVIII (CDCl_3 , 500 MHz).



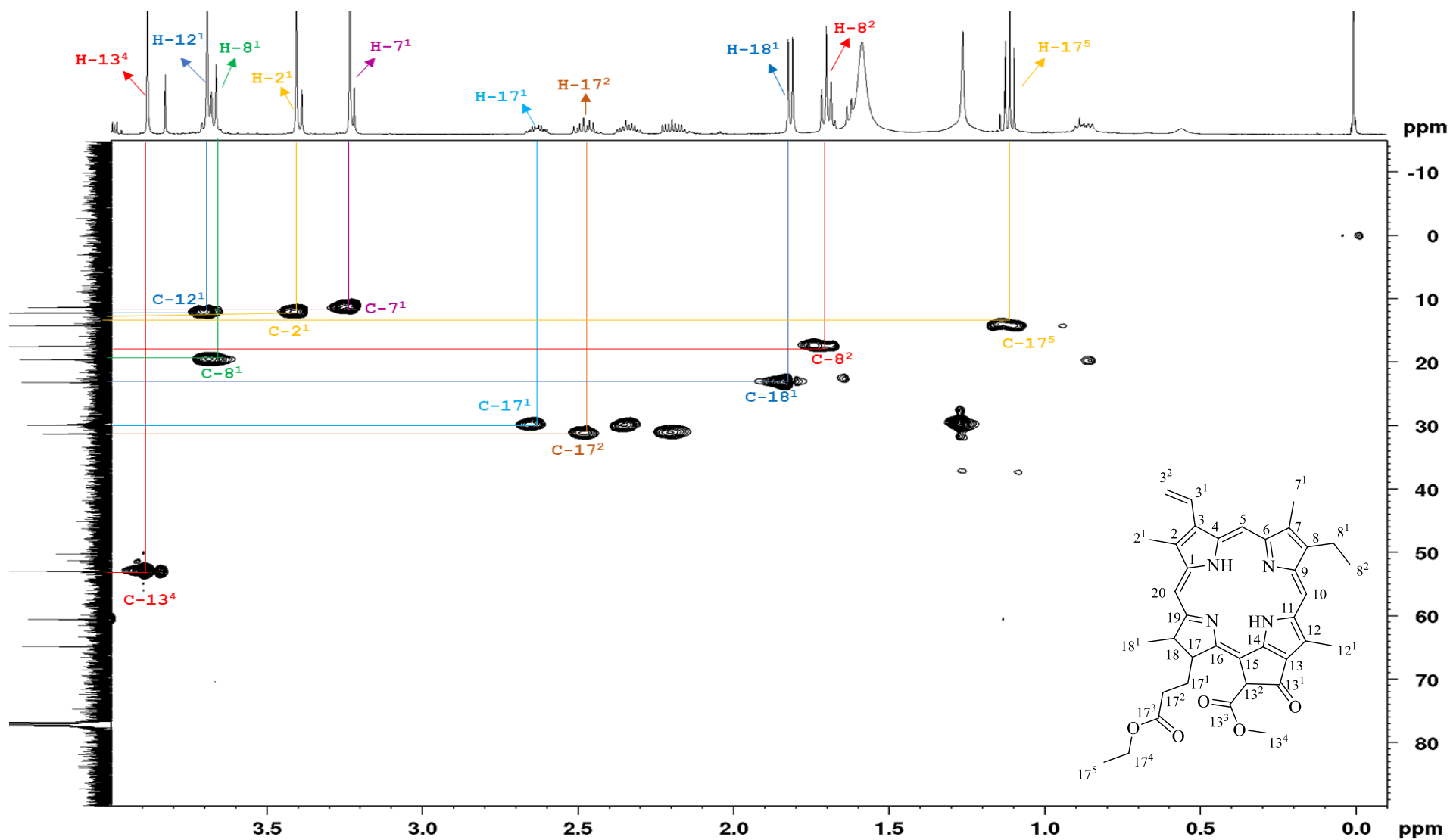
Fonte: Autora.

Figura 105-Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da substância XVIII (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



Fonte: Autora.

Figura 106-Ampliação do espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da substância XVIII (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



Fonte: Autora.

5.2.4.2 Identificação da substância XIX

A substância **XIX** foi isolada da fração em acetato de etila das folhas, apresentando-se como um sólido amorfo de coloração verde amarelada. Esta substância foi identificada através da análise de experimentos de RMN em uma e duas dimensões, além de comparação com dados da literatura⁷⁸.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 108) revelou absorções similares às da substância **XVIII**, sugerindo que a substância **XIX** também possuísse um núcleo porfirínico em sua estrutura. Foram observados os sinais de hidrogênios vinílicos em δ_{H} 8,04 (*dd*, $^3J = 17,8$ e 11,5 Hz) (H-3¹), 6,41 (*dd*, $^3J = 17,8$ e $^2J = 1,0$ Hz) (H-3² E) e 6,26 (*dd*, $^3J = 11,5$ e $^2J = 1,0$ Hz) (H-3² Z) e de três hidrogênios olefínicos em δ_{H} 10,43; 9,72 e 8,57; atribuídos respectivamente aos hidrogênios 5, 10 e 20 do núcleo porfirínico da molécula, além de deslocamentos químicos para hidrogênios metoxílicos em δ_{H} 3,92 (*s*) (H-13⁴) e etoxílicos em δ_{H} 4,04 (*m*) (H-17⁴) e 1,14 (*t*, $^3J = 7,2$ Hz) (H-17⁵).

Foi observado ainda um sinal adicional em δ_{H} 11,21 (*s*), atribuído ao hidrogênio do grupo aldeído localizado na posição 7¹ de derivados da clorofila do tipo b. A localização do grupo aldeído nesta posição foi confirmada pela ausência do sinal em aproximadamente δ_{H} 3,20; relativo à metila olefínica H-7¹.

Assim como no espectro da substância **XVIII**, a ausência de um envelope de sinais na região de hidrogênios alifáticos, normalmente atribuído à cadeia do fitol nas feofitinas, sugeriu que a substância **XIX** também se tratava de um feoforbídeo.

A atribuição dos sinais de carbono da molécula foi feita por meio das correlações observadas nos espectros de HSQC (Figuras 109 e 110) e HMBC (Figuras 111 e 112), em função da massa da amostra ter sido insuficiente para a aquisição do espectro de ^{13}C .

No espectro de HSQC foi possível observar a correlação entre o simpleto em δ_{H} 11,21 (H-7¹) com o sinal de carbono em δ_{C} 187,8; atribuído ao carbono carbonílico do grupo aldeído.

O simpleto em δ_{H} 10,43 (H-5) apresentou, conforme observado no espectro de HSQC, correlação com o sinal de carbono em δ_{C} 101,7; o qual foi atribuído ao carbono olefínico C-5. No espectro de HMBC foi observada correlação a duas ligações (2J) com o carbono em δ_{C} 137,5 (C-4).

O simpleto em δ_{H} 9,72 (H-10) apresentou correlação com o sinal de carbono em δ_{C} 106,9 (C-10) no espectro de HSQC e com os sinais em δ_{C} 132,3 (C-13, 4J) e δ_{C} 159,4 (C-6, 4J).

O sinal atribuído ao hidrogênio olefínico H-20 (δ_H 8,57) apresentou, no espectro de HSQC, correlação com o sinal de carbono em δ_C 93,3 (C-20) e, no espectro de HMBC, correlação a duas ligações (2J) com o carbono em δ_C 143,7 (C-1) e a três ligações (3J) com o carbono em δ_C 132,5 (C-2).

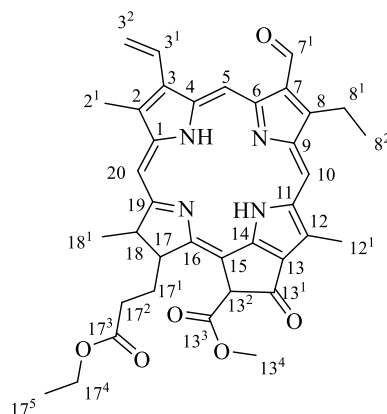
A confirmação das posições dos grupos metílicos olefínicos foi feita com base nas seguintes correlações observadas no espectro HMBC: $\underline{\text{CH}}_3$ -12¹ (δ_H 3,73) com δ_C 129,7 (C-12, 2J), δ_C 132,3 (C-13, 3J) e δ_C 138,0 (C-11, 3J); $\underline{\text{CH}}_3$ -2¹ (δ_H 3,42) com δ_C 132,4 (C-2, 2J), δ_C 137,5 (C-4, 4J) e δ_C 143,7 (C-1, 3J). Já a presença do grupo metílico na posição 18 foi confirmada pela correlação entre o duplete em δ_H 1,84 ($\underline{\text{CH}}_3$ -18¹) com δ_C 50,1 (C-18, 2J) e com δ_C 173,3 (C-19, 3J).

A confirmação da presença do grupo metil éster na posição C-13³ foi possível pela observação das seguintes correlações no espectro de HMBC: H-13² (δ_H 6,25) com δ_C 169,2 (C-13³, 2J) e $\underline{\text{CH}}_3$ -13⁴ (δ_H 3,91) com δ_C 169,2 (C-13³, 3J).

O espectro de HMBC mostrou, ainda, correlação a três ligações entre o duplo duplete em δ_H 6,41 (H-3² *E*) com δ_C 136,1; atribuído ao C-3, permitindo assim definir a posição 3 para o grupo vinílico.

Com as informações obtidas nos experimentos de RMN e em comparação com dados da literatura⁷⁸ (Tabela 20) foi possível concluir que a substância em questão se trata do etil feoforbídeo B (Figura 107), cuja ocorrência está sendo relatada pela primeira vez no gênero *Miconia*.

Figura 107-Estrutura da substância XIX, identificada como etil feoforbídeo B.



Fonte: autora.

A Tabela 20 mostra os dados de RMN do etil feoforbídeo B isolado em comparação com os dados da literatura.

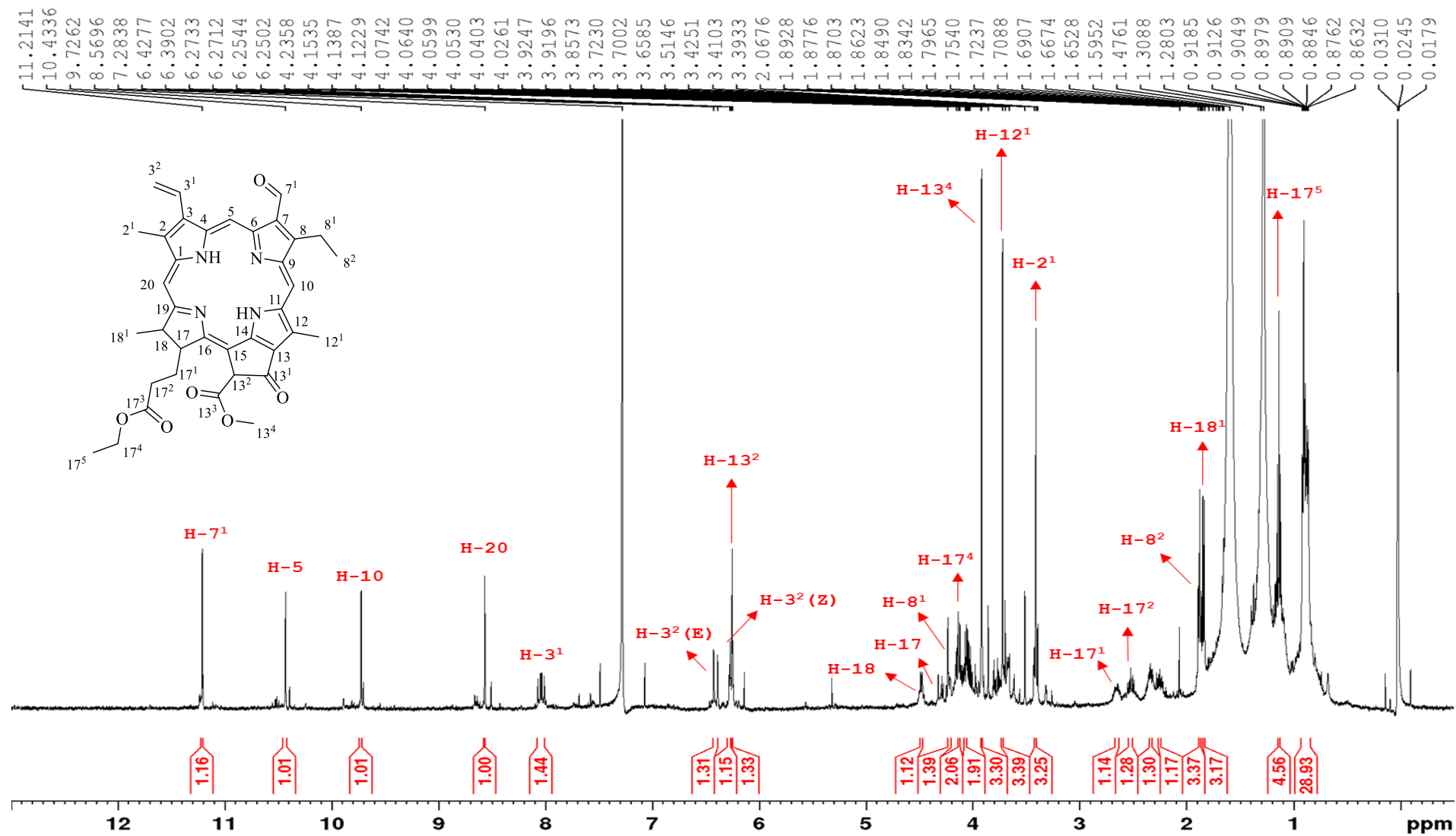
Tabela 20-Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância **XIX** em comparação com os dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) do etil feoforbídeo B. (continua)

H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XIX	Chaves et al. ⁷⁸	Substância XIX	Chaves et al. ⁷⁸
1			143,7	143,6
2			132,5	132,4
2 ¹	3,42 (s)	3,36 (s)	12,1	12,1
3			136,1	135,5
3 ¹	8,04 (dd, $^3J = 17,8$ e 11,5)	7,97 (dd, $^3J = 15,0$ e 10,0)	128,6	128,6
3 ² (E)	6,41 (dd, $^3J = 17,8$ e $^2J =$ 1,0)	6,20 (d, $^3J = 15,0$)	123,7	123,6
3 ² (Z)	6,26 (dd, $^3J = 11,5$ e $^2J =$ 1,0)	6,23 (d, $^3J = 10,0$)	123,7	123,6
4			137,5	137,2
5	10,43 (s)	10,33 (s)	101,7	101,6
6			159,4	159,4
7				137,2
7 ¹	11,21 (s)	11,12 (s)	187,8	187,7
8				147,2
8 ¹	4,13 (m)	4,00 (m)	19,4	19,1
8 ²	1,88 (t, $^3J = 7,7$)	1,62 (m)	19,5	19,4
9			150,9	150,7
10	9,72 (s)	9,61 (s)	106,9	105,0
11			138,0	138,0
12			129,7	129,7
12 ¹	3,73 (s)	3,66 (s)	12,2	12,2
13			132,3	132,2
13 ¹			189,5	189,5
13 ²	6,25 (s)	6,21 (s)	64,6	64,6
13 ³			169,2	172,8
13 ⁴	3,92 (s)	3,88 (s)	52,9	52,9
14			151,2	151,2
15			104,9	105,0
16				164,0

Cont. Tabela 20

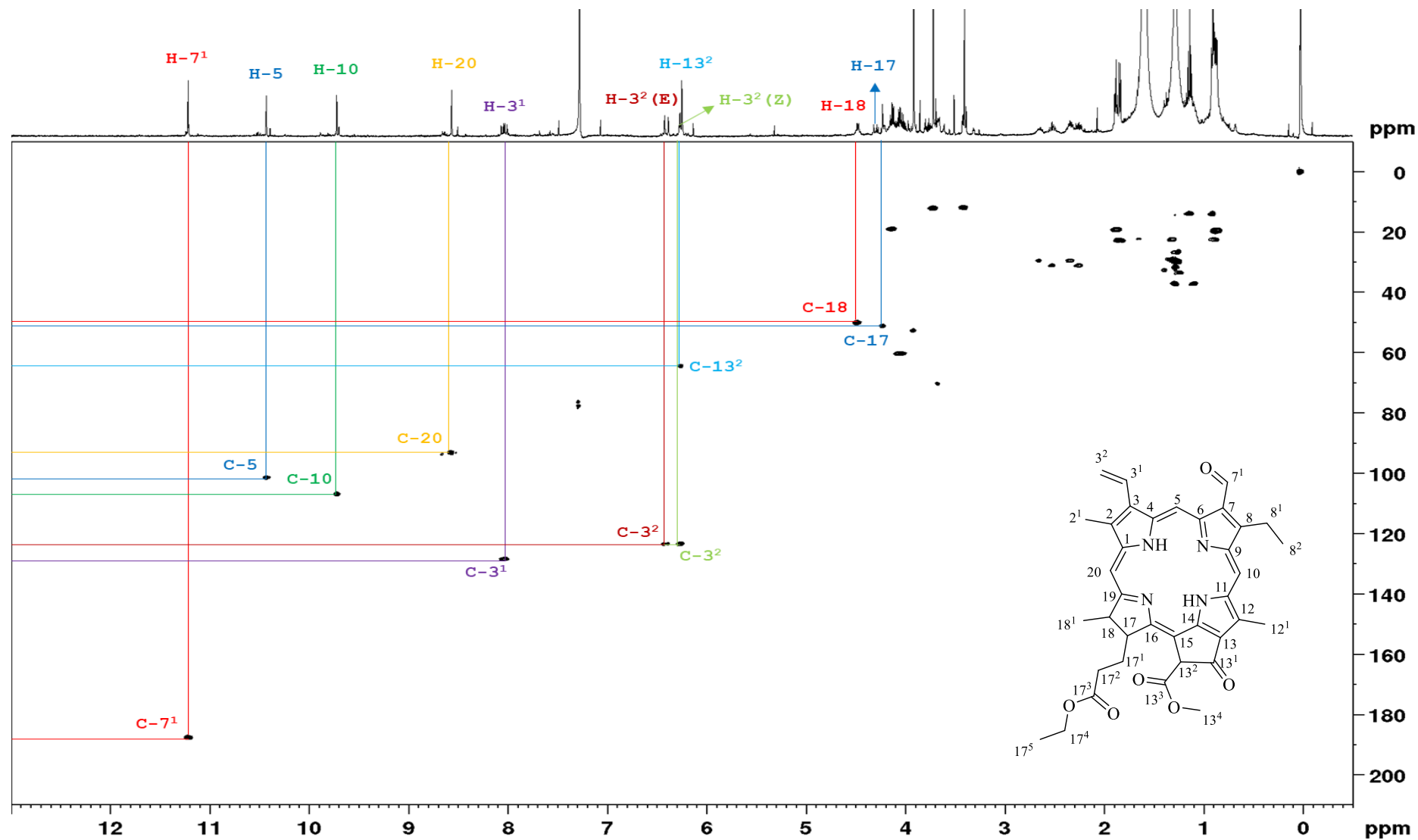
H/C	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	Substância XIX	Chaves et al. ⁷⁸	Substância XIX	Chaves et al. ⁷⁸
17	4,22 (<i>m</i>)	4,44 (<i>dl, d, J = 10,0</i>)	51,2	51,3
17¹	2,66	2,46-2,61 (<i>m</i>)	29,6	31,2
17²	2,53	2,20-2,33 (<i>m</i>)	31,2	29,7
17³				174,0
17⁴	4,04 (<i>m</i>)	4,00 (<i>m</i>)	60,2	60,5
17⁵	1,14 (<i>t, ³J = 7,2</i>)	1,10 (<i>t, ³J = 7,5</i>)	14,2	14,1
18	4,48 (<i>m</i>)	4,18 (<i>dl, d, J = 10,0</i>)	50,1	50,1
18¹	1,84 (<i>d, ³J = 7,5</i>)	1,80 (<i>d, ³J = 5,0</i>)	23,0	23,0
19			173,3	169,2
20	8,57 (<i>s</i>)	8,52 (<i>s</i>)	93,3	93,5

Figura 108-Espectro de RMN de ^1H da substância XIX (CDCl_3 , 500 MHz).



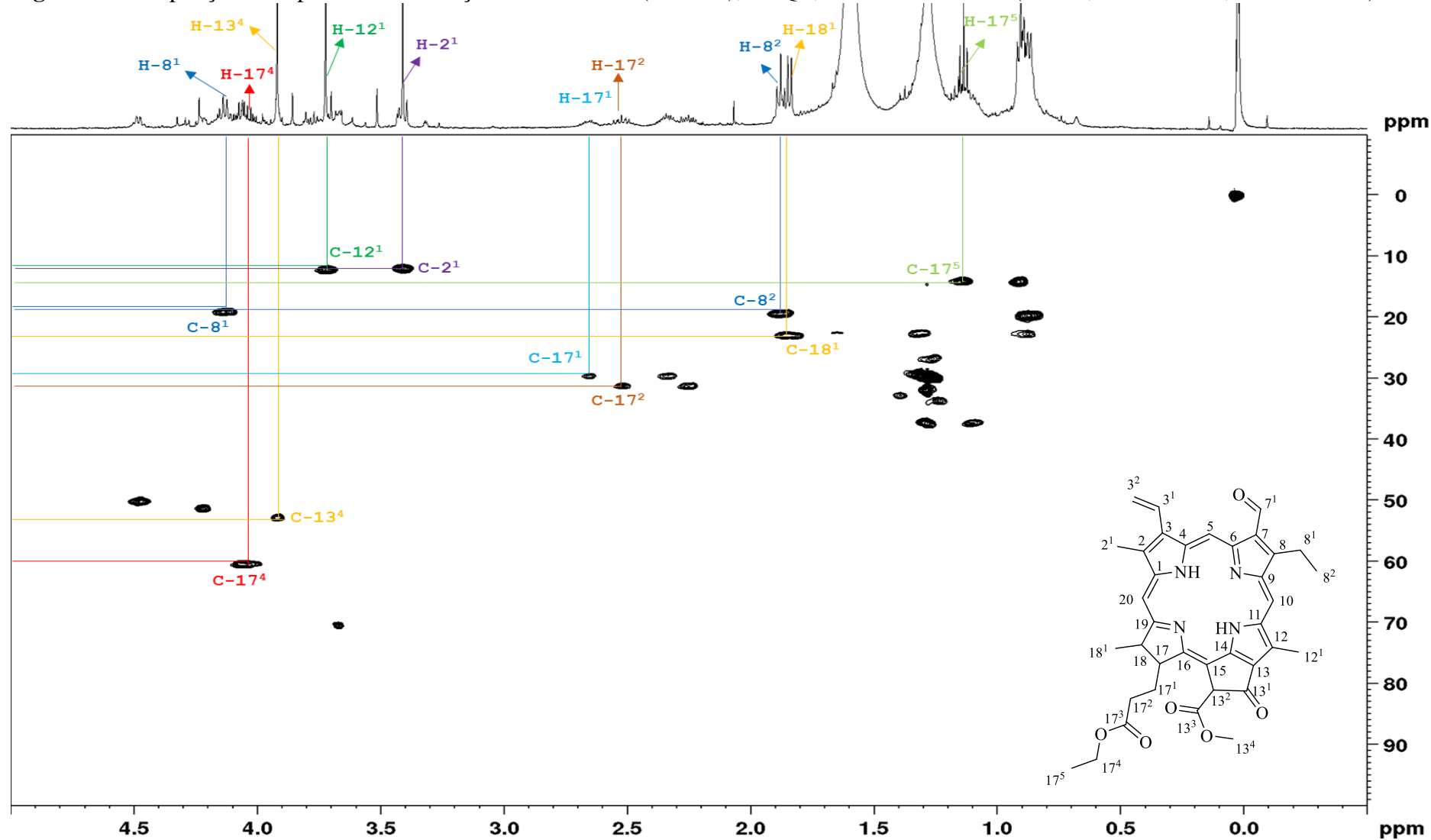
Fonte: Autora.

Figura 109-Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HSQC, da substância XIX (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



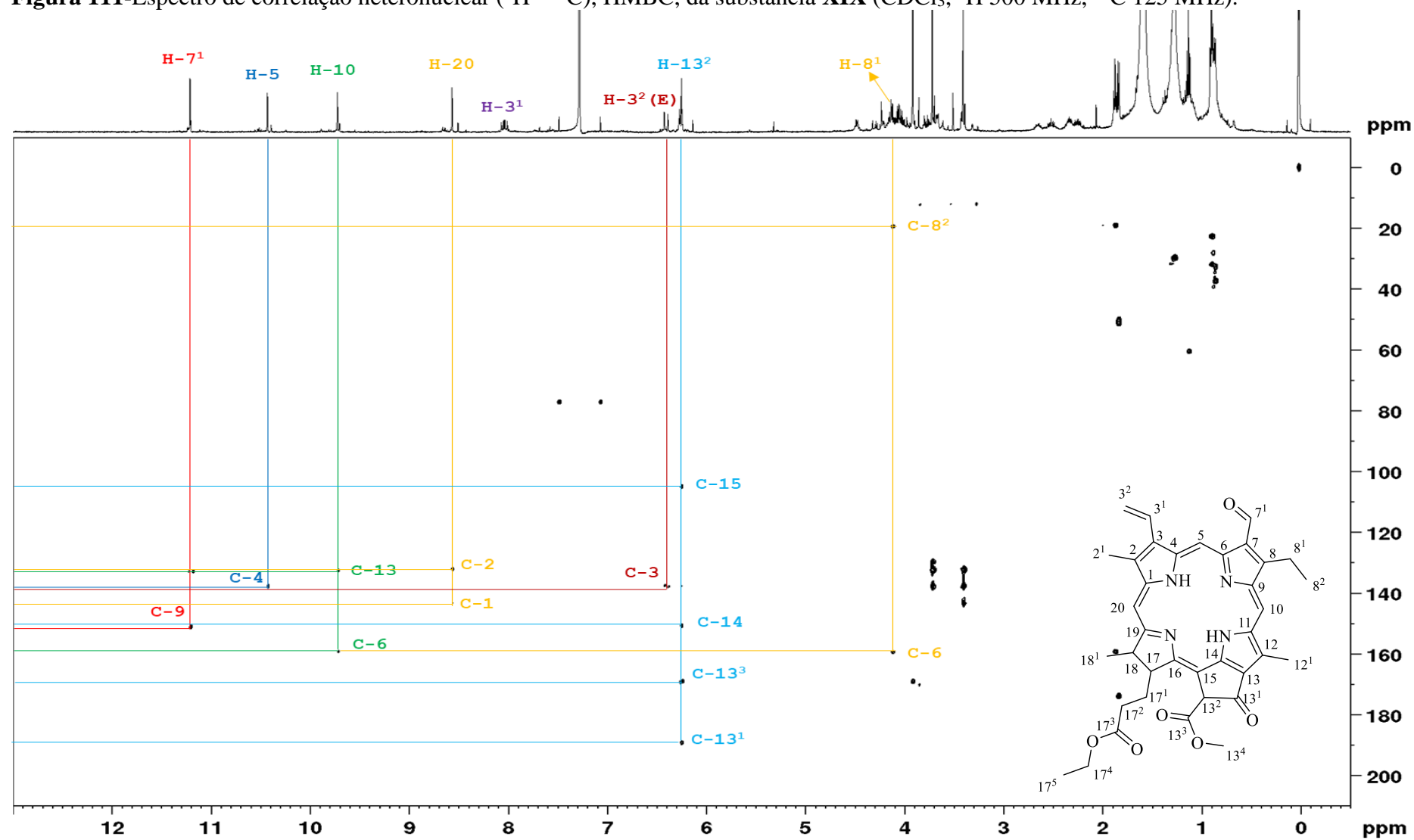
Fonte: Autora.

Figura 110-Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HSQC, da substância XIX (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



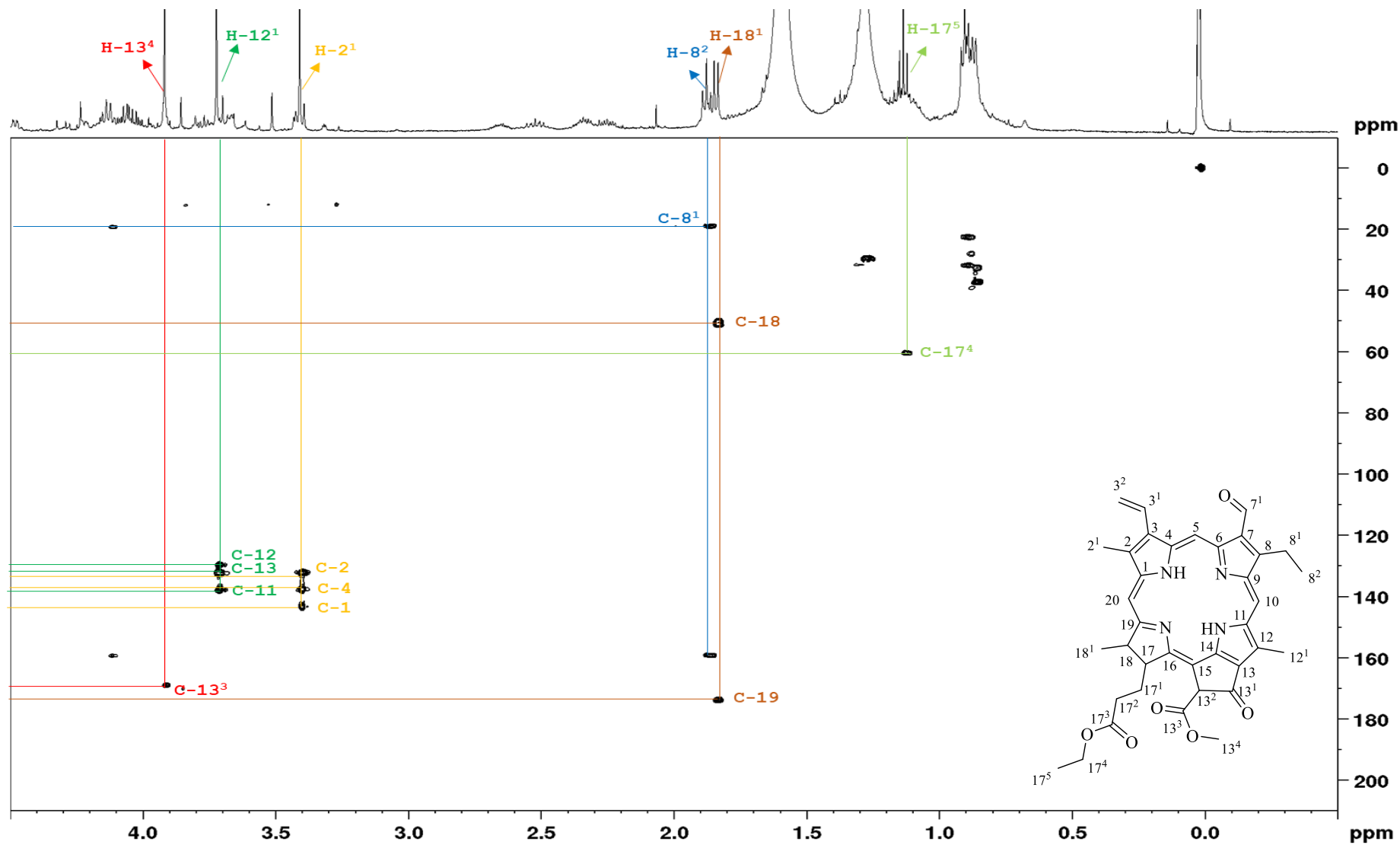
Fonte: Autora.

Figura 111-Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, da substância XIX (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



Fonte: Autora.

Figura 112-Ampliação do espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, da substância XIX (CDCl_3 , ^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz).



Fonte: Autora.

5.2.5 IDENTIFICAÇÃO DO ESTEROIDE

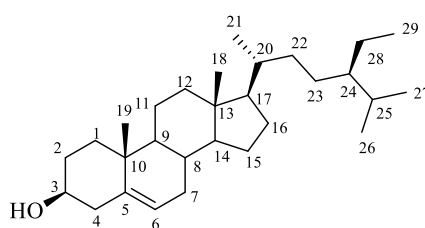
5.2.5.1 Identificação da substância XX

A substância **XX** foi isolada da fração hexânica das folhas, apresentando-se como cristais incolores em forma de agulha. Esta substância foi identificada através da análise de experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C , além de comparação com dados da literatura⁷⁹.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 114) foram observados sinais característicos de esteroides, tais como o duplete largo em δ_{H} 5,35 (1H, *d*, $^3J = 5,2$ Hz), referente ao H-6 olefínico, e o multiplete em δ_{H} 3,52 (1H, *m*), atribuído ao hidrogênio H-3, além de um acúmulo de sinais na região de δ_{H} 0,68 a δ_{H} 2,31 referentes aos vários grupos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos, os quais caracterizam a presença do esqueleto esteroidal.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 115) mostrou sinais em δ_{C} 140,8 e δ_{C} 121,7 característicos de esteroides com uma ligação dupla entre C-5 e C-6. Estes sinais foram atribuídos, portanto, aos carbonos C-5 e C-6, respectivamente. O sinal em δ_{C} 71,8 foi atribuído ao carbono carbinólico C-3. A comparação dos dados de RMN ^{13}C com os valores descritos por Chaurasia e Wichtl⁷⁹ (Tabela 21) tornou possível identificar a substância **XX** como sendo o β -sitosterol (Figura 113), um esteroide frequentemente encontrado no reino vegetal cuja presença já foi observada em outras espécies de *Miconia*^{36,53}.

Figura 113-Estrutura da substância **XX**, identificada como β -sitosterol.



Fonte: autora.

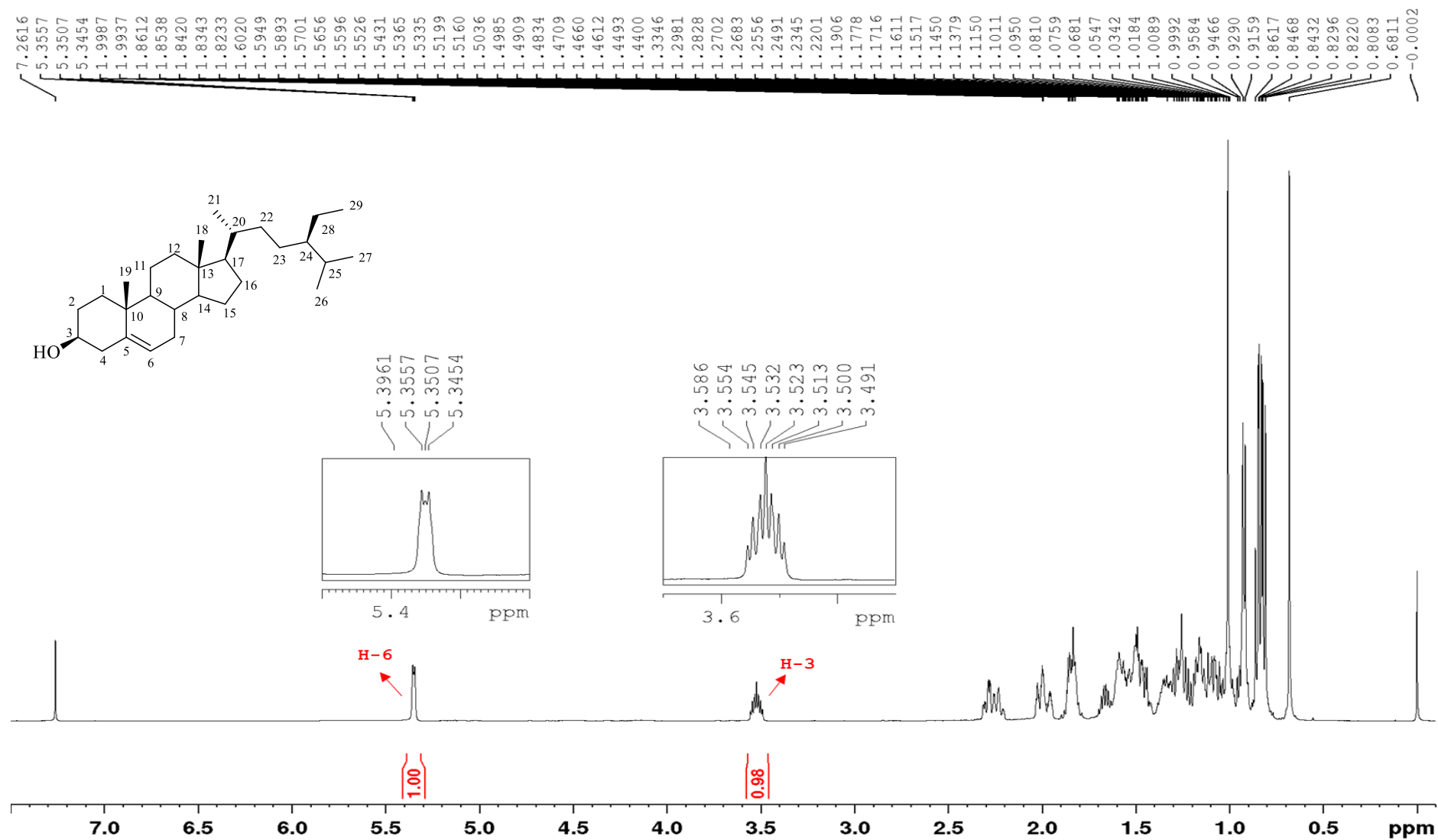
Tabela 21-Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância **XX** em comparação com os dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do β -sitosterol. (continua)

δ_{C} (ppm)		
C	Substância XX	Chaurasia e Wichtl ⁷⁹
1	37,3	37,2
2	31,7	31,6

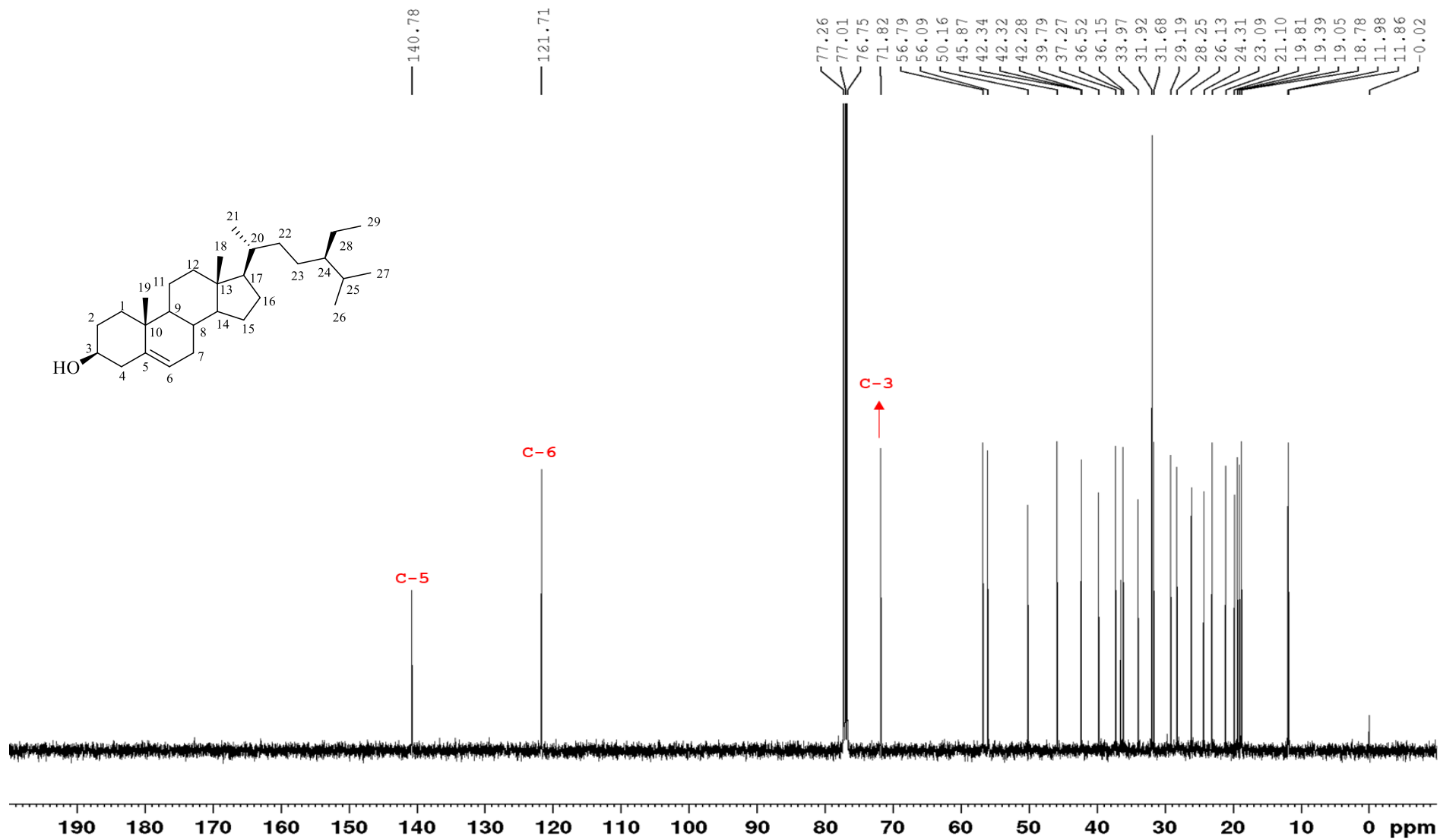
Cont. Tabela 21

δ_c (ppm)		
C	Substância XX	Chaurasia e Wichtl ⁷⁹
3	71,8	71,8
4	42,3	42,3
5	140,8	140,7
6	121,7	121,7
7	31,9	31,9
8	31,9	31,9
9	50,2	50,1
10	36,5	36,5
11	21,1	21,1
12	39,8	39,8
13	42,3	42,3
14	56,8	56,7
15	24,3	24,3
16	28,3	28,2
17	56,1	56,0
18	11,9	11,8
19	19,4	19,4
20	36,1	36,1
21	19,0	19,0
22	33,9	33,9
23	29,2	29,1
24	45,9	45,8
25	26,1	26,1
26	18,8	18,8
27	19,8	19,8
28	23,1	22,0
29	12,0	11,9

Figura 114-Espectro de RMN de ^1H da substância **XX** (CDCl_3 , 500 MHz).



Fonte: Autora.

Figura 115-Espectro de RMN de ^{13}C da substância **XX** (CDCl_3 , 125 MHz).

Fonte: Autora.

5.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS

5.3.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A atividade antibacteriana dos extratos e das frações foi classificada como boa (CMI < 100 µg/mL), moderada (CMI entre 100 e 500 µg/mL), fraca (CMI entre 500 e 1000 µg/mL) ou inexistente (CMI maior que 1000 µg/mL), conforme proposto por Holetz et al.⁸⁰. De acordo com os valores de CMI e CMB (Tabela 22), o ensaio antimicrobiano apresentou melhores resultados para as cepas Gram-positivas (*S. aureus* e *S. epidermidis*).

Tabela 22-Concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB) dos extratos e das frações de *M. burchellii*.

Amostra	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	CMI ^a	CMB ^a	CMI ^a	CMB ^a	CMI ^a	CMB ^a	CMI ^a	CMB ^a
MBFE	500	> 1000	250	> 1000	> 1000	> 1000	1000	> 1000
MBFE-H	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
MBFE-A	1000	> 1000	500	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
MBFE-M	500	1000	250	> 1000	> 1000	> 1000	1000	> 1000
MBCE	250	500	62,5	500	1000	1000	250	500
MBCE-H	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
MBCE-A	500	> 1000	250	1000	> 1000	> 1000	500	> 1000
MBCE-M	250	1000	62,5	500	1000	> 1000	250	500

^aResultados expressos em µg/mL.

Cloranfenicol com CMI 4 µg/mL e gentamicina com CMI 0,5 µg/mL foram usados como padrão.

MBFE = *M. burchellii* - folhas - etanol. MBFE-H = *M. burchellii* - folhas - etanol - fração hexânica. MBFE-A = *M. burchellii* - folhas - etanol - fração em acetato de etila. MBFE-M = *M. burchellii* - folhas - etanol - fração metanólica. MBCE = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol. MBCE-H = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol - fração hexânica. MBCE-A = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol - fração em acetato de etila. MBCE-M = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol - fração metanólica.

O extrato etanólico bruto (MBFE) e a fração metanólica (MBFE-M) das folhas de *M. burchellii* apresentaram CMI de 500 µg/mL para *S. aureus* ATCC 25923 e 250 µg/mL para *S. epidermidis* ATCC 12228. Em adição, MBFE-M mostrou CMB de 1000 µg/mL para *S. aureus*. De acordo com a classificação de Holetz et al.,⁸⁰ os resultados obtidos demonstram que as cepas Gram-positivas foram sensíveis ao MBFE e à MBFE-M com moderada intensidade.

Do mesmo modo, a fração em acetato de etila das folhas (MBFE-A) mostrou atividade antibacteriana em cepas Gram-positivas, sendo esta atividade considerada moderada para *S. epidermidis*, CMI 500 µg/mL, e fraca para *S. aureus*, CMI 1000 µg/mL.

Em relação às bactérias Gram-negativas, o extrato etanólico bruto (MBFE) e a fração metanólica (MBFE-M) das folhas apresentaram atividade fraca para *P. aeruginosa* ATCC 27853, CMI 1000 µg/mL. Nem o extrato nem as frações das folhas apresentaram atividade antimicrobiana para a bactéria Gram-negativa *E. coli* ATCC 25312. De acordo com Gontijo et al.²⁰, a ação antibacteriana de extratos de plantas em cepas Gram-negativas é menos frequente devido à existência de uma membrana lipopolissacarídica nestas bactérias, que causa rigidez e dificulta a penetração de compostos bioativos no seu interior.

Comparado ao comportamento apresentado pelo extrato e frações das folhas, o extrato e as frações das cascas do caule foram consideravelmente mais ativos, com destaque para o extrato bruto (MBCE) que inibiu o crescimento de *S. epidermidis* na concentração de 62,5 µg/mL, o que caracteriza forte atividade antibacteriana. Este mesmo extrato apresentou atividade antibacteriana de moderada a fraca para as demais cepas; CMI 250 µg/mL para *S. aureus* e *P. aeruginosa* e CMI 1000 µg/mL para *E. coli*. Em adição, MBCE mostrou CMB de 500 µg/mL para *S. epidermidis*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* e CMB de 1000 µg/mL para *E. coli*.

O perfil antibacteriano apresentado pela fração metanólica das cascas do caule (MBCE-M) foi muito semelhante ao do extrato bruto descrito anteriormente, apresentando diferença apenas na atividade bactericida frente a *S. aureus* e *E. coli*. Isto sugere que as substâncias presentes no extrato bruto que exercem atividade bactericida e bacteriostática são substâncias de caráter polar. Esta sugestão é reforçada pelo fato de que a fração apolar, MBCE-H, não apresentou atividade antimicrobiana em nenhuma das cepas nas concentrações testadas. Já a fração em acetato de etila (MBCE-A), de média polaridade, mostrou atividade moderada para todas as bactérias testadas, exceto *E. coli*.

Estes resultados reforçam o potencial antimicrobiano de *Miconia*, uma vez que várias espécies do gênero (*M. cannabina*, *M. myriantha*, *M. albicans*, *M. rubiginosa*, *M. stenostachya*, *M. cabucu*, *M. fallax*, *M. sellowiana*, *M. ligustroides*, *M. salicifolia* e *M. ioneura*) têm sido exploradas para a busca de compostos com esta finalidade farmacológica, conforme descrito recentemente por Cunha et al.⁴⁵.

5.3.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

Para avaliar o potencial de inibição do crescimento celular das amostras foi utilizada a seguinte escala de intensidade: IC% alta (> 75%), moderada (50-75%) e baixa (<50%)^{81,82}. A Tabela 23 apresenta o percentual de inibição da proliferação das células tumorais SNB-19 (astrocitoma), HCT-116 (carcinoma de cólon humano), PC-3 (próstata) e HL-60 (leucemia) e

da célula não tumoral L-929 (fibroblasto de camundongo) pelos extratos, pelas frações e por algumas substâncias isoladas.

Tabela 23-Percentual de inibição do crescimento (IC%) das amostras frente as linhagens tumorais e não tumoral nas concentrações únicas de 100 µg/mL (extratos e frações) e 10 µg/mL (substâncias puras).

Amostra	Inibição do crescimento celular ^a / (IC% ± DP)				
	SNB-19	HCT-116	PC-3	HL-60	L-929
MBFE	-9,57±0,71	39,37±12,60	0,55±8,35	69,87±0,91	20,06±1,97
MBFE-H	8,84±8,20	-19,12±8,01	33,57±9,79	90,33±2,25	42,34±1,24
MBFE-A	93,11±0,57	79,99±1,42	50,40±5,25	79,38±0,78	93,45±0,63
MBFE-M	14,48±3,13	12,21±9,76	35,17±2,96	68,93±3,17	42,42±4,56
MBCE	19,23±2,64	78,38±6,85	41,09±4,79	75,29±4,47	51,37±3,29
MBCE-H	61,02±3,49	89,27±1,48	72,57±2,90	91,45±0,18	81,84±5,07
MBCE-A	45,97±2,32	84,28±2,04	56,51±4,34	88,60±0,90	70,47±5,68
MBCE-M	34,90±1,07	43,53±3,84	42,38±4,62	73,94±2,81	48,58±1,57
XI e XII	7,66±3,79	6,98±3,19	10,42±2,07	20,48±3,81	5,89±0,15
XIII e XIV	2,25±2,22	17,59±3,89	2,71±1,60	5,64±1,39	17,02±0,74
XVIII	14,84±3,66	2,86±7,88	30,78±3,37	89,77±1,76	75,06±5,53

^aResultados expressos como média da porcentagem de inibição do crescimento celular (IC%) e desvio padrão (DP) de três experimentos independentes realizados em triplicata.

SNB-19 = células de astrocitoma. HCT-116 = células de carcinoma de cólon humano. PC-3 = células tumorais de próstata. HL-60 = células de leucemia. L-929 = células não tumorais de fibroblasto de camundongo. MBFE = *M. burchellii* - folhas - etanol. MBFE-H = *M. burchellii* - folhas - etanol - fração hexânica. MBFE-A = *M. burchellii* - folhas - etanol - fração em acetato de etila. MBFE-M = *M. burchellii* - folhas - etanol - fração metanólica. MBCE = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol. MBCE-H = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol - fração hexânica. MBCE-A = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol - fração em acetato de etila. MBCE-M = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol - fração metanólica. XI e XII = mistura do éster 28-*O*-β-glicopiranosídeo do ácido 1α,3β,23-tri-hidroxi-olean-12-en-28-oico com o éster 28-*O*-β-glicopiranosídeo do ácido 1α,3β,23-tri-hidroxi-urs-12-en-28-oico. XIII e XIV = mistura do éster 28-*O*-β-glicopiranosídeo do ácido 3-*O*-β-galoil-1α,23-di-hidroxi-olean-12-en-28-oico com o éster 28-*O*-β-glicopiranosídeo do ácido 3-*O*-β-galoil-1α,23-di-hidroxi-urs-12-en-28-oico. XVIII = etil feoforbídeo A.

Conforme demonstrado na Tabela 23, as amostras foram mais promissoras na linhagem de HL-60 (leucemia promielocítica), para a qual seis das onze amostras testadas apresentaram alta porcentagem de inibição, variando de 75,29 a 91,45%; enquanto as demais amostras inibiram a proliferação destas células com intensidade de moderada a baixa (IC 73,94 - 5,64%).

A fração em acetato de etila (MBFE-A) das folhas de *M. burchellii* resultou em mais de 75% de inibição do crescimento (79,38 a 93,11%) em todas as linhagens celulares tumorais testadas, exceto em PC-3 (próstata), o que significa que foi altamente citotóxica. No entanto, essa mesma fração teve efeitos citotóxicos (93,45%) em células não tumorais (L-929).

A fração hexânica das folhas (MBFE-H) foi altamente citotóxica frente à linhagem de leucemia (HL-60), com inibição de crescimento de 90,33%, e mostrou baixa citotoxicidade (42,34% de inibição do crescimento) para a linhagem não tumoral.

O extrato etanólico bruto (MBFE) e a fração metanólica (MBFE-M) das folhas apresentaram atividade moderada (69,87 e 68,93%, respectivamente) para a linhagem celular HL-60 e baixa citotoxicidade (20,06 e 42,42%, respectivamente) para a linhagem celular não tumoral (L-929).

O extrato etanólico bruto das cascas do caule (MBCE) apresentou um perfil de inibição de crescimento celular semelhante às frações hexânica (MBCE-H) e em acetato de etila (MBCE-A) obtidas à partir deste extrato. Eles foram altamente citotóxicos às linhagens de carcinoma do cólon humano (HCT-116) e leucemia (HL-60), com porcentagem de inibição de crescimento celular variando de 75,29 a 91,45%.

Já a fração metanólica das cascas do caule (MBCE-M), em comparação com as frações hexânica e em acetato de etila, foi menos ativa frente à todas as linhagens testadas, o que sugere que a citotoxicidade esteja relacionada à presença de compostos de baixa e média polaridade presentes nas cascas do caule de *M. burchellii*.

O etil feoforbídeo A (**XVIII**) foi altamente citotóxico para a linhagem celular de leucemia (HL-60) a uma taxa de inibição de 89,77%. No entanto, este composto também teve efeitos citotóxicos (75,06%) nas células não tumorais (L-929). As misturas das saponinas (**XI** e **XII**) e (**XIII** e **XIV**) apresentaram baixa citotoxicidade frente às linhagens tumorais e não tumoral testadas.

Entre as amostras que apresentaram percentual de inibição acima de 75%, aquelas que apresentaram comportamento inibitório em pelo menos duas linhagens de células diferentes foram usadas para determinar o IC₅₀ (concentração inibitória média) nas mesmas linhagens testadas em uma única concentração. Além disso, foi avaliado o índice de seletividade (IS) para citotoxicidade (Tabela 24). O índice de seletividade é o quociente dos valores de IC₅₀ de cada amostra na linhagem de células não tumorais e o valor de IC₅₀ de cada amostra na linhagem de células tumorais ($IS = IC_{50} \text{ L-929} / IC_{50} \text{ células tumorais}$). Segundo Suffness e Pezzuto⁸³, considera-se significativo o IS que apresentar um valor superior ou igual a dois, o que significa dizer que a amostra apresenta atividade duas vezes maior na linhagem de células tumorais em relação às células normais.

Tabela 24-Valores de IC₅₀ e índice de seletividade (IS) dos extratos, frações e substância isolada de *M. burchellii* para as linhagens celulares tumorais e não tumoral.

Amostra	SNB-19		HCT-116		PC-3		HL-60		L-929
	IC ₅₀ ^a	IS ^b	IC ₅₀ ^a	IS ^b	IC ₅₀ ^a	IS ^b	IC ₅₀ ^a	IS ^b	IC ₅₀ ^a
MBFE-A	37,72	0,87	41,82	0,79	39,65	0,83	38,25	0,86	32,93
	(32,59 - 43,66)		(31,94 - 54,76)		(35,07 - 44,82)		(34,40 - 43,10)		(28,36 - 38,25)
MBCE	>100	0,30	36,23	2,07	43,47	1,73	37,66	2,0	74,99
			(28,80 - 57,57)		(33,63 - 56,20)		(32,90 - 43,10)		(54,34 - 103,3)
MBCE-H	40,83	1,08	10,35	4,27	9,78	4,52	10,34	4,28	44,23
	(37,38 - 48,49)		(8,98 - 11,93)		(8,36 - 11,44)		(9,03 - 11,83)		27,03 - 72,37
MBCE-A	53,47	0,90	16,07	3,00	25,06	1,93	14,92	3,24	48,30
	(46,26 - 61,81)		(13,55 - 19,05)		(20,47 - 30,68)		(12,66 - 17,59)		33,45 - 69,74
XVIII	>10		>10		>10		4,74	1,41	6,71
							(4,31 - 5,20)		(5,79 - 7,76)
Dox ^c	1,20		0,11		0,76		0,01		0,99
	(1,03 - 1,9)		(0,08 - 0,14)		(0,59 - 0,93)		(0,005 - 0,01)		(0,92 - 1,08)

^aIC₅₀ (intervalo)/(µg/mL) = concentração inibitória média. Intervalo de confiança de 95%.

^bIS = índice de seletividade; IS = IC₅₀ L929/IC₅₀ (célula tumoral).

^cDoxorrubicina foi usada como controle positivo.

SNB-19 = células de astrocitoma. HCT-116 = células de carcinoma de cólon humano. PC-3 = células tumorais de próstata. HL-60 = células de leucemia. L-929 = células não tumorais de fibroblasto de camundongo. MBFE-A = *M. burchellii* - folhas - etanol - fração em acetato de etila. MBCE = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol. MBCE-H = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol - fração hexânica. MBCE-A = *M. burchellii* - cascas do caule - etanol - fração em acetato de etila. XVIII = etil feoforbídeo A.

A fração em acetato de etila das folhas (MBFE-A) apresentou maior potencial citotóxico para a linhagem SNB-19 com IC_{50} de 37,72 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 24), no entanto, o índice de seletividade foi menor do que um para todas as linhagens tumorais, indicando que essa fração não é seletiva entre uma linhagem celular tumoral e uma linhagem celular normal.

Alguns estudos relacionados à atividade citotóxica de extratos e compostos isolados de espécies de *Miconia* têm sido publicados. O fracionamento biomonitorado do extrato em acetato de etila das folhas de *M. lepidota* forneceu duas benzoquinonas com atividade antitumoral em linhagens celulares de carcinoma de pulmão de Madison (M109) e câncer de ovário (A2780)²⁵.

Em outro estudo, Cunha et al.²⁶ avaliaram o potencial antitumoral do extrato etanólico das partes aéreas de *M. fallax* em células do adenocarcinoma do colo uterino humano, HeLa (ATCC CCL-2). O fracionamento desse extrato forneceu uma mistura dos ácidos ursólico e oleanólico. Tanto o extrato etanólico quanto a mistura dos triterpenos produziram inibição do crescimento tumoral de maneira dose dependente²⁶.

Adicionalmente, Furtado e colaboradores⁵⁰ demonstraram o efeito protetor dos ácidos ursólico e oleanólico, isolados do extrato diclorometânico das partes aéreas de *M. fallax*, frente à carcinogênese induzida no cólon de camundongos⁵⁰. Com base nestas informações, consideramos que a inibição do crescimento de células tumorais apresentada pela fração acetato de etila das folhas de *M. burchellii* pode estar associada à presença dos ácidos ursólico e oleanólico nesta fração.

O extrato bruto etanólico das cascas do caule (MBCE) apresentou maior potencial citotóxico para as cepas HCT-116 e HL-60 com IC_{50} de 36,23 e 37,66 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Tabela 3). Nestes casos, o extrato também mostrou seletividade entre as células tumorais e as células normais, uma vez que o IS foi igual a 2,07 para HCT-116 e 2,0 para HL-60.

Em termos de seletividade, a fração hexânica das cascas do caule (MBCE-H) foi a que apresentou os melhores resultados, com IS maior que quatro para HCT-116 ($IC_{50} = 10,35$ $\mu\text{g/mL}$, IS = 4,27), PC-3 ($IC_{50} = 9,78$ $\mu\text{g/mL}$, IS = 4,52) e HL-60 ($IC_{50} = 10,34$ $\mu\text{g/mL}$, IS = 4,28). A fração em acetato de etila das cascas do caule (MBCE-A), por sua vez, mostrou seletividade para HCT-116 ($IC_{50} = 16,07$ $\mu\text{g/mL}$, IS = 3,0) e HL-60 ($IC_{50} = 14,92$ $\mu\text{g/mL}$, IS = 3,24).

O etil feoforbídeo A (XVIII) apresentou o menor valor de IC_{50} em células de leucemia (HL-60), com IC_{50} de 4,74 $\mu\text{g/mL}$, embora não tenha apresentado seletividade entre as linhagens celulares neoplásicas e as normais (IS variando de 1,41 a 0,02).

Trabalhos anteriores relatam que o feoforbídeo A possui atividades citotóxicas. Cheng et al.⁸⁴ apontam que o feoforbídeo A apresentou atividade forte e ampla para as células tumorais KB, 1A9, CAKI-1, SK-MEL-2, HCT-8, A549 e MCF-7, com valores de IC₅₀ variando de 0,46 a 1,6 µg/mL. Neste mesmo estudo, os autores relataram ainda que os ésteres metílicos do feoforbídeo A apresentaram maior citotoxicidade para as linhagens celulares testadas, exceto para a linhagem celular SK-MEL-2, quando comparadas ao correspondente ácido⁸⁴. Em outro trabalho, Chan et al.⁸⁵ mostraram que o feoforbídeo A é capaz de induzir apoptose nas células do hepatoma. No entanto, embora o potencial citotóxico do feoforbídeo A e de alguns de seus derivados tenham sido previamente relatados, este é o primeiro caso em que a atividade citotóxica é atribuída ao seu éster etílico.

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Relatamos aqui o primeiro estudo químico e biológico da espécie *M. burchellii*. Vinte substâncias foram caracterizadas a partir de suas folhas e cascas do caule, sendo dez triterpenos, quatro saponinas, três flavonoides, dois feoforbídeos e um esteroide. Entre estas substâncias, seis estão sendo descritas pela primeira vez na literatura: ácido 3-*O*- β -*trans*-*p*-cumaroil-1 α -hidroxi-urs-12-en-28-oico, ácido 3-*O*- β -*cis*-*p*-cumaroil-1 α -hidroxi-urs-12-en-28-oico, éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-olean-12-en-28-oico, éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 1 α ,3 β ,23-tri-hidroxi-urs-12-en-28-oico, éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-olean-12-en-28-oico e éster 28-*O*- β -glicopiranosídeo do ácido 3-*O*- β -galoil-1 α ,23-di-hidroxi-urs-12-en-28-oico; enquanto outras sete estão sendo relatadas pela primeira vez no gênero *Miconia*: betulina, ácido 3-*O*- β -acetil oleanólico, ácido 3-*O*- β -acetil ursólico, kaempferol, kaempferol-3-*O*- β -glicopiranosídeo, etilfeoforbídeo A e etilfeoforbídeo B.

Entre as substâncias identificadas neste trabalho, a presença predominante de triterpenos pentacíclicos, especialmente os de esqueleto ursano e oleano, coincide com a composição fitoquímica de outras espécies de *Miconia* estudadas previamente por outros autores.

A investigação do potencial antibacteriano de *M. burchellii* revelou que a inibição do crescimento das bactérias envolvidas neste estudo foi favorecida pelos extratos e frações de média e alta polaridade, uma vez que os extratos brutos e as frações em acetato de etila e metanólica, tanto das folhas quanto das cascas do caule, foram as mais ativas frente às bactérias testadas.

No ensaio de citotoxicidade, a fração em acetato de etila das folhas apresentou atividade citotóxica contra três das quatro linhas celulares tumorais testadas, enquanto o etil feoforbídeo A (**XVIII**), isolado a partir desta fração, foi citotóxico quando testado na linhagem de leucemia. No entanto, nem a fração nem o composto **XVIII** mostraram seletividade satisfatória entre as linhagens tumorais e a não tumoral. Em termos de seletividade, os melhores resultados foram observados para as frações hexânica e em acetato de etila das cascas do caule.

Desta forma, os resultados obtidos através do estudo fitoquímico e das atividades antibacteriana e citotóxica da espécie *M. burchellii* contribuem para o conhecimento das características químicas e das atividades biológicas do gênero *Miconia*, ainda tão pouco exploradas.

Com base nestes resultados, algumas perspectivas podem ser delineadas. Entre elas, a realização do estudo fitoquímico da fração metanólica das cascas do caule, uma vez que neste trabalho não foram isoladas substâncias da referida fração. Por se tratar de uma fração constituída por compostos de alta polaridade, o refractionamento utilizando Diaion HP-20 pode se mostrar eficiente, tal como se mostrou eficiente no isolamento de substâncias a partir da fração metanólica das folhas.

Por fim, considerando que as substâncias inéditas foram identificadas neste trabalho em misturas isoméricas, o isolamento destas substâncias por meio das técnicas cromatográficas adequadas permitiria a avaliação de suas atividades biológicas na forma pura.

REFERÊNCIAS

1. BRASIL. **Ministério do Meio Ambiente**. Disponível em: <<https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade>>. Acesso em: 11 ago. 2021.
2. SCARIOT, A. Panorama da biodiversidade no Brasil. In: GANEM, R. S. (Ed.). . **Conservação da biodiversidade: legislação e políticas públicas**. Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara, 2010. p. 111–130.
3. BFG. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085–1113, 2015.
4. REGINATO, M.; NEUBIG, K.M.; MAJURE, L.C.; MICHELANGELI, F.A. The first complete plastid genomes of Melastomataceae are highly structurally conserved. **PeerJ**, n. 11, p. 1–16, 2016.
5. 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.
6. SERNA, D. M. O.; MARTÍNEZ, J. H. I. Phenolics and polyphenolics from Melastomataceae species. **Molecules**, v. 20, n. 10, p. 17818–17847, 2015.
7. GOLDENBERG, R.; ALMEDA, F.; CADDAH, M. K.; MARTINS, A. B.; MEIRELLES, J.; MICHELANGELI, F. A.; WEISS, M. Nomenclator botanicus for the neotropical genus *Miconia* (Melastomataceae: Miconieae). **Phytotaxa**, v. 106, n. 1, p. 1–171, 2013.
8. MILES, D. H.; MEIDEROS, J.; CHEN, L.; CHITTAWONG, V.; SWITENBANK, C.; LIDERT, Z.; PAYNE, A. M.; HEDIN, P. A A search for agrochemicals from Peruvian plants. In: HEDIN, P. A. (Ed.). **Naturally occurring pest bioregulators**. Washington, DC: ACS Symposium Series; American Chemical Society, 1991. p. 399–406.
9. LI, X. C.; JACOB, M. R.; PASCO, D. S.; ELSOHLY, H. N.; NIMROD, A. C.; WALKER, L. A.; CLARK, A. M. Phenolic compounds from *Miconia myriantha* inhibiting *Candida* Aspartic Proteases. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 10, p. 1282–1285, 2001.
10. RODRIGUES, L. A.; ALMEIDA, A. C.; GONTIJO, D. C.; SALUSTIANO, I. V.; ALMEIDA, A. A.; BRANDÃO, G. C.; RIBON, A. O. B.; LEITE, J. P. V. Antibacterial screening of plants from the Brazilian Atlantic Forest led to the identification of active compounds in *Miconia latecrenata* (DC.) Naudin. **Natural Product Research**, p. 1–5, 2020.
11. VIEGAS, F. P. D.; ESPURI, P. F.; OLIVER, J. C.; SILVA, N. C.; DIAS, A. L. T.; MARQUES, M. J.; SOARES, M. G. Leishmanicidal and antimicrobial activity of primin and primin-containing extracts from *Miconia willdenowii*. **Fitoterapia**, v. 138, p. 104297, 2019.

12. GOMES, L. F.; MARTINS, D. H. N.; DA SILVA, S. M. M.; DE BARROS, Y. Y.; DE SOUZA, P. M.; DE FREITAS, M. M.; FAGG, C. W.; SIMEONI, L. A.; MAGALHÃES, P. O.; SILVEIRA, D.; FONSECA-BAZZO, Y. M. Biological properties and phytochemical characterization from *Miconia chamissois* Naudin aqueous extract. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 20, n. 4, p. 427–442, 2021.
13. CELOTTO, A. C.; NAZARIO, D. Z.; SPESSOTO, M. A.; MARTINS, C. H. G.; CUNHA, W. R. Evaluation of the in vitro antimicrobial activity of crude extracts of three *Miconia* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 339–340, 2003.
14. RODRIGUES, J.; MICHELIN, D. C.; RINALDO, D.; ZOCCOLO, G. J.; CAMPANER, L.; SANTOS, D.; VILEGAS, W.; REGINA, H.; SALGADO, N. Antimicrobial activity of *Miconia* species (Melastomataceae). **Journal of Medicinal Food**, v. 11, n. 1, p. 120–126, 2008.
15. QUEIROZ, G. M.; DE SOUZA, M. G. M.; DE CARVALHO, T. C.; CASEMIRO, L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G. Absence of the antibacterial activity of the crude extracts and compounds isolated from *M. rubiginosa* against extended-spectrum β -lactamase producing enterobacteria. **Journal of Pharmaceutical Negative Results**, v. 2, n. 1, p. 1–7, 2011.
16. CUNHA, L. C. ; ANDRADE E SILVA, M. L.; FURTADO, N. A. J. C.; VINHÓIS, A. H. C.; MARTINS, C. H. G.; DA SILVA FILHO, A. A.; CUNHA, W. R. Antibacterial activity of triterpene acids and semi-synthetic derivatives against oral pathogens. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 62, n. c, p. 668–672, 2007.
17. CUNHA, W. R.; DE MATOS, G. X.; SOUZA, M. G. M.; TOZATTI, M. G.; ANDRADE E SILVA, M. L.; MARTINS, C. H. G.; DA SILVA, R.; DA SILVA FILHO, A. A. Evaluation of the antibacterial activity of the methylene chloride extract of *Miconia ligustroides*, isolated triterpene acids, and ursolic acid derivatives. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 2, p. 166–169, 2010.
18. BUSSMANN, R. W.; MALCA-GARCÍA, G.; GLENN, A.; SHARON, D.; CHAIT, G.; DÍAZ, D.; POURMAND, K.; JONAT, B.; SOMOGY, S.; GUARDADO, G.; AGUIRRE, C.; CHAN, R.; MEYER, K.; KUHLMAN, A.; TOWNESMITH, A.; EFFIO-CARBAJAL, J.; FRÍAS-FERNANDEZ, F.; BENITO, M. Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 132, n. 1, p. 101–108, 2010.
19. TRACANNA, M. I.; AMANI, S. M.; ROMANO, E.; RASCHI, A. B.; MOLINA, L. R. H.; PIRO, O. E.; CASTELLANO, E. E.; BENAVENTE, A. M. Crystal structure, spectroscopic properties and antimicrobial activity of 4H-1-Benzopyran-4-one, 5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-6,8-dimethyl from *Miconia ioneura* Griseb. Melastomataceae. **Molecular Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 94–104, 2010.
20. GONTIJO, D. C.; GONTIJO, P. C.; BRANDÃO, G. C.; DIAZ, M. A. N.; DE OLIVEIRA, A. B.; FIETTO, L. G.; LEITE, J. 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, n. March,

- p. 114–123, 2019.
21. MANCINI, E.; DE MARTINO, L.; BELISARIO, M. A.; DE FEO, V. Flavonoids of *Miconia alypifolia* and their antioxidant activity. **Pharmacologyonline**, v. 2, p. 452–460, 2008.
 22. MOSQUERA, O. M.; CORRERA, Y. M.; NIÑO, J. Antioxidant activity of plant extracts from Colombian flora. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2 A, p. 382–387, 2009.
 23. PIERONI, L. G.; DE REZENDE, F. M.; XIMENES, V. F.; DOKKEDAL, A. L. Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of *Miconia albicans* (Sw.) Triana leaves. **Molecules**, v. 16, p. 9439–9450, 2011.
 24. CORRÊA, J. G.; BIANCHIN, M.; LOPES, A. P.; SILVA, E.; AMES, F. Q.; POMINI, A. M.; CARPES, S. T.; RINALDI, J. C.; MELO, R. C.; KIOSHIMA, E. S.; BERSANI-AMADO, C. A.; PILAU, E. J.; DE CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; VISENTAINER, J. V.; SANTIN, S. M. O. Chemical profile, antioxidant and anti-inflammatory properties of *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae) fruits extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 273, p. 113979, 2021.
 25. GUNATILAKA, A. A. L.; BERGER, J. M.; EVANS, R.; MILLER, J. .; WISSE, J. H.; NEDDERMANN, K. M.; BURSUKER, I.; KINGSTON, D. G. I. Isolation, synthesis, and structure-activity relationships of bioactive benzoquinones from *Miconia lepidota* from the Suriname Rainforest. **Journal of Natural Products**, v. 64, p. 2–5, 2001.
 26. CUNHA, W. R.; SILVA, M. L. A.; DOS SANTOS, F. M.; MONTENEGRO, I. M.; OLIVEIRA, A. R. A.; TAVARES, H. R.; DOS SANTOS, H. S. L.; BIZÁRIO, J. C. S. In vitro inhibition of tumor cell growth by *Miconia fallax*. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 4, p. 292–294, 2008.
 27. CUNHA, G. O. S.; DA SILVA, J. A.; MATOS, A. P.; BURGER, M. C. M.; MENEZES, A. C. S.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; DE MORAES FILHO, M. O.; PESSOA, C. O. Isolated compounds and semi-synthetic derivatives from *Miconia ferruginata* as inhibitors of cathepsins k and b and their cytotoxic evaluation. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 5, p. 1244–1252, 2020.
 28. CUNHA, W. R.; MARTINS, C.; FERREIRA, D. S.; CROTTI, A. E. M.; LOPES, N. P.; ALBUQUERQUE, S. In vitro trypanocidal activity of triterpenes from *Miconia* species. **Planta Medica**, v. 69, p. 470–472, 2003.
 29. CUNHA, W. R.; CREVELIN, E. J.; ARANTES, G. M.; MILLER CROTTI, A. E.; ANDRADE E SILVA, M. L.; CARDOSO FURTADO, N. A. J.; ALBUQUERQUE, S.; DA SILVA FERREIRA, D. A study of the trypanocidal activity of triterpene acids isolated from *Miconia* species. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 6, p. 474–478, 2006.
 30. ROSA, W. **Bioprospecção da espécie *Miconia willdenowii* visando a obtenção de substâncias com potencial antichagástico**. [s.l.] Universidade Federal de Alfenas, 2015.

31. PEIXOTO, J. A.; SILVA, M. L. A. E.; CROTTI, A. E. M.; VENEZIANI, R. C. S.; GIMENEZ, V. M. M.; JANUÁRIO, A. H.; GROppo, M.; MAGALHAES, L. G.; DOS SANTOS, F. F.; ALBUQUERQUE, S.; DA SILVA FILHO, A. A.; CUNHA, W. R. Antileishmanial activity of the hydroalcoholic extract of *Miconia langsdorffii*, isolated compounds, and semi-synthetic derivatives. **Molecules**, v. 16, n. 2, p. 1825–1833, 2011.
32. CUNHA, N. L.; UCHÔA, C. J. DE M.; CINTRA, L. S.; DE SOUZA, H. C.; PEIXOTO, J. A.; SILVA, C. P.; MAGALHÃES, L. G.; GIMENEZ, V. M. M.; GROppo, M.; RODRIGUES, V.; DA SILVA FILHO, A. A.; ANDRADE E SILVA, M. L.; CUNHA, W. R.; PAULETTI, P. M.; JANUÁRIO, A. H. In vitro schistosomicidal activity of some brazilian cerrado species and their isolated compounds. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.
33. VIEGAS, F. P. D.; DE CASTRO, A. T.; CASTRO, A. P.; SIQUEIRA, Í.; ROSA, W.; ESPURI, P. F.; COELHO, L. F. L.; MARQUES, M. J.; SOARES, M. G. In vitro schistosomicidal activity of the crude extract, fractions and Primin, the major active benzoquinone constituent from the leaves of *Miconia willdenowii* (Melastomaceae). **South African Journal of Botany**, v. 111, p. 365–370, 2017.
34. LIMA, R. B. S.; ROCHA, L. F.; MELO, M. R. S.; COSTA, J. S.; PICANÇO, N. S.; LIMA, E. S.; VASCONCELLOS, M. C.; BOLETI, A. P. A.; SANTOS, J. M. P.; AMORIM, R. C. N.; CHAVES, F. C. M.; COUTINHO, J. P.; TADEI, W. P.; KRETTLI, A. U.; POHLIT, A. M. In vitro and in vivo anti-malarial activity of plants from the Brazilian Amazon. **Malaria Journal**, v. 14, n. 508, p. 1–14, 2015.
35. GULDBRANDSEN, N. H.; DE MIERI, M.; GUPTA, M.; SEISER, T.; WIEBE, C.; DICKHAUT, J.; REINGRUBER, R.; SORGENFREI, O.; HAMBURGER, M. Screening of Panamanian plant extracts for pesticidal properties and HPLC-based identification of active compounds. **Scientia Pharmaceutica**, v. 83, p. 353–367, 2015.
36. CUNHA, G. O. S.; MATOS, A. P.; BERNARDO, A. R.; MENEZES, A. C. S.; BURGER, M. C. DE M.; VIEIRA, P. C.; FORIM, M. R.; FERNANDES, J. B.; DA SILVA, M. F. DAS G. F. Constituintes químicos e atividade inseticida de *Miconia ferruginata*. **Química Nova**, v. 40, n. 10, p. 1158–1163, 2017.
37. LIMA, R. C. L.; KONGSTAD, K. T.; KATO, L.; DAS SILVA, M. J.; FRANZYK, H.; STAERK, D. High-resolution PTP1B inhibition profiling combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR for identification of PTP1B inhibitors from *Miconia albicans*. **Molecules**, v. 23, n. 7, 2018.
38. CUNHA, W. R.; ANDRADE E SILVA, M. L.; TURATTI, I. C. .; FERREIRA, D. S.; BETARELLO, H. L. Avaliação da atividade analgésica de *Miconia ligustroides* (Melastomataceae) utilizando o teste de contorção abdominal em camundongos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 84, n. 2, p. 47–49, 2003.
39. SPESSOTO, M. A.; FERREIRA, D. S.; CROTTI, A. E. M.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R. Evaluation of the analgesic activity of extracts of *Miconia rubiginosa* (Melastomataceae). **Phytomedicine**, v. 10, n. 6–7, p. 606–609, 2003.

40. VASCONCELOS, M. A. L.; FERREIRA, D. S.; ANDRADE E SILVA, M. L.; VENEZIANI, C. S.; CUNHA, W. R. Analgesic effects of crude extracts of *Miconia albicans* (Melastomataceae). **Bollettino Chimico Farmaceutico**, v. 142, n. 8, p. 333–335, 2003.
41. VASCONCELOS, M. A. L.; ROYO, V. A.; FERREIRA, D. S.; MILLER CROTTI, A. E.; ANDRADE E SILVA, M. L.; CARVALHO, J. C. T.; BASTOS, J. K.; CUNHA, W. R. In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of ursolic acid and oleanolic acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae). **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 61, n. 7–8, p. 477–482, 2006.
42. LIMA, T. C.; MATOS, S. S.; CARVALHO, T. F.; SILVEIRA-FILHO, A. J.; COUTO, L. P. S. M.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; QUINTANS, J. S. S.; SILVA, A. M. O.; HEIMFARTH, L.; PASSOS, F. R. S.; GANDHI, S. R.; LIMA, B. S.; SILVA, F. A. Evidence for the involvement of IL-1 β and TNF- α in anti-inflammatory effect and antioxidative stress profile of the standardized dried extract from *Miconia albicans* Sw. (Triana) Leaves (Melastomataceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 259, p. 112908, 2020.
43. QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; GANDHI, S. R.; PASSOS, F. R. S.; HEIMFARTH, L.; PEREIRA, E. W. M.; MONTEIRO, B. S.; DOS SANTOS, K. S.; DUARTE, M. C.; ABREU, L. S.; NASCIMENTO, Y. M.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; LIMA, A. A. N.; ZENGIN, G.; QUINTANS, J. S. S. Dereplication and quantification of the ethanol extract of *Miconia albicans* (Melastomaceae) by HPLC-DAD-ESI-MS/MS, and assessment of its anti-hyperalgesic and anti-inflammatory profiles in a mice arthritis-like model: Evidence for involvement of TNF- α , I. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 258, p. 112938, 2020.
44. GATIS-CARRAZZONI, A. S. S. G.; MOTA, F. V. B.; LEITE, T. C. C.; DE OLIVEIRA, T. B.; DA SILVA, S. C.; BASTOS, I. V. A.; DE SOUZA MAIA, M. B.; PEREIRA, P. S.; NETO, P. P. M.; DE OLIVEIRA CHAGAS, E. C.; SILVA, T. M. S.; DO NASCIMENTO, M. S.; DA SILVA, T. G. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the leaf methanol extract of *Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC. and characterization of compounds by UPLC-DAD-QTOF-MS/MS. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 392, n. 1, p. 55–68, 2018.
45. CUNHA, G. O. S.; DA CRUZ, D. C.; MENEZES, A. C. An overview of *Miconia* genus: chemical constituents and biological activities. **Pharmacognosy Reviews**, v. 13, n. 26, p. 77–88, 2019.
46. ZHANG, Z.; ELSOHLY, H. N.; LI, X. C.; KHAN, S. I.; BROEDEL, S. E.; RAULLI, R. E.; CIHLAR, R. L.; WALKER, L. A. Flavanone glycosides from *Miconia trailii*. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 1, p. 39–41, 2003.
47. RODRIGUES, J.; RINALDO, D.; DOS SANTOS, L. C.; VILEGAS, W. An unusual C6–C6'' linked flavonoid from *Miconia cabucu* (Melastomataceae). **Phytochemistry**, v. 68, n. 13, p. 1781–1784, jul. 2007.
48. RODRIGUES, J.; RINALDO, D.; DA SILVA, M. A.; DOS SANTOS, L. C.; VILEGAS, W. Secondary metabolites of *Miconia rubiginosa*. **Journal of Medicinal**

- Food**, v. 14, n. 7–8, p. 834–839, 2011.
49. TARAWNEH, A. H.; LEÓN, F.; IBRAHIM, M. A.; PETTAWAY, S.; MCCURDY, C. R.; CUTLER, S. J. Flavanones from *Miconia prasina*. **Phytochemistry Letters**, v. 7, n. 1, p. 130–132, 2014.
 50. FURTADO, R. A.; RODRIGUES, E. P.; ARAÚJO, F. R. R.; OLIVEIRA, W. L.; FURTADO, M. A.; CASTRO, M. B.; CUNHA, W. R.; TAVARES, D. C. Ursolic acid and oleanolic acid suppress preneoplastic lesions induced by 1,2-dimethylhydrazine in rat colon. **Toxicologic Pathology**, v. 36, n. 4, p. 576–580, 2008.
 51. MACARI, P. A.; EMERENCIANO, V. P.; FERREIRA, Z. M. G. . Identificação dos triterpenos de *Miconia albicans* triana através de análise por microcomputador. **Química Nova**, v. 13, n. 4, p. 260–262, 1990.
 52. RESENDE, F. A.; BARCALA, C. A. M. .; FARIA, M. C. S.; KATO, F. H.; CUNHA, W. R.; TAVARES, D. C. Antimutagenicity of ursolic acid and oleanolic acid against doxorubicin-induced clastogenesis in Balb/c mice. **Life Sciences**, v. 79, p. 1268–1273, 2006.
 53. CREVELIN, E. J.; TURATTI, I. C. C.; CROTTI, A. E. M.; VENEZIANI, C. S.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P.; CUNHA, W. R. Identification of biologically active triterpenes and sterols present in hexane extracts from *Miconia* species using high-resolution gas chromatography. **Biomedical Chromatography**, v. 20, n. 8, p. 827–830, 2006.
 54. LI, X. C.; JOSHI, A. S.; ELSOHLY, H. N.; KHAN, S. I.; JACOB, M. R.; ZHANG, Z.; KHAN, I. A.; FERREIRA, D.; WALKER, L. A.; BROEDEL, S. E.; RAULLI, R. E.; CIHLAR, R. L. Fatty acid synthase inhibitors from plants: Isolation, structure elucidation, and SAR studies. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 12, p. 1909–1914, 2002.
 55. CHAN, W. R.; SHEPPARD, V.; MEDFORD, K. A.; TINTO, W. F.; REYNOLDS, W. F.; MCLEAN, S. Triterpenes from *Miconia stenostachya*. **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 7, p. 963–966, 1992.
 56. DINIZ, R.; VIDIGAL, M. C. S.; RASLAN, D. S.; FERNANDES, N. G. A new triterpene of *Miconia macrothyrsa* leaves: 28-carboxy-3-oxoolean-12-en-21 α -yl acetate. **Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online**, v. 62, n. 11, p. 4891–4893, 2006.
 57. SERPELONI, J. M.; BARCELOS, G. R. M.; MORI, M. P.; YANAGUI, K.; VILEGAS, W.; VARANDA, E. A.; CÓLUS, I. M. . Cytotoxic and mutagenic evaluation of extracts from plant species of the *Miconia* genus and their influence on doxorubicin-induced mutagenicity : An in vitro analysis. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 63, p. 499–504, 2011.
 58. CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100S**. 26. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016.

59. MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55–63, 1983.
60. MACÍAS, F. A.; SIMONET, A. M.; ESTEBAN, M. D. Potential allelopathic lupane triterpenes from bioactive fractions of *Melilotus messanensis*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 6, p. 1369–1379, 1994.
61. MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids: A compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, n. 6, p. 1517–1575, 1994.
62. REYNOLDS, W. F.; MCLEAN, S.; POPLAWSKI, J.; ENRIQUEZ, R. G.; ESCOBAR, L. I.; LEON, I. Total assignment of ¹³C and ¹H-spectra of three isomeric triterpenol derivatives by 2D-NMR—an investigation of the potential utility of ¹H chemical shifts in structural investigations of complex natural products. **Tetrahedron**, v. 42, n. 13, p. 3419–3428, 1986.
63. RAZA, R.; ILYAS, Z.; ALI, S.; NISAR, M.; KHOKHAR, M. Y.; IQBAL, J. Identification of highly potent and selective α-glucosidase inhibitors with antiglycation potential, isolated from *Rhododendron arboreum*. **Records of Natural Products**, v. 9, n. 2, p. 262–266, 2015.
64. FALCÃO, D. Q.; FERNANDES, S. B. O.; MENEZES, F. S. Triterpenos de *Hyptis fasciculata* Benth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 81–83, 2003.
65. KWON, J. H.; CHANG, M. J.; SEO, H. W.; LEE, J. H.; MIN, B. S.; NA, M.; KIM, J. C.; WOO, M. H.; CHOI, J. S.; LEE, H. K.; BAE, K. Triterpenoids and a sterol from the stem-bark of *Styrax japonica* and their protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activities. **Phytotherapy Research**, v. 22, p. 1303–1306, 2008.
66. TAKETA, A. T. C.; BREITMAIER, E.; SCHENKEL, E. P. Triterpenes and triterpenoidal glycosides from the fruits of *Ilex paraguariensis* (Maté). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 2, p. 205–211, 2004.
67. WEN, X.; SUN, H.; LIU, J.; WU, G.; ZHANG, L.; WU, X.; NI, P. Pentacyclic triterpenes. Part 1: The first examples of naturally occurring pentacyclic triterpenes as a new class of inhibitors of glycogen phosphorylases. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 4944–4948, 2005.
68. WOO, K. W.; CHA, J. M.; CHOI, S. U.; LEE, K. R. A new triterpene glycoside from the stems of *Lagerstroemia indica*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 39, n. 5, p. 631–635, 2016.
69. HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J. **The Flavonoids: Advances in Research**. London: Chapman and Hall, 1982.
70. AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of Flavonoids**. Amsterdam: Elsevier, 1989.
71. FULLAS, F.; WANI, M. C.; WALL, M. E.; TUCKER, J. C.; BEECHER, C. W. W.;

- KINGHORN, A. D. Triterpenes from the combined leaf and stem of *Lithospermum caroliniense*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 6, p. 1303–1305, 1996.
72. NAKATANI, M.; MIYAZAKI, Y.; IWASHITA, T.; NAOKI, H.; HASE, T. Triterpenes from *Ilex rotunda* fruits. **Phytochemistry**, v. 28, n. 5, p. 1479–1482, 1989.
73. MARKHAM, K. R.; TERNAL, B.; STANLEY, R.; GEIGER, H.; MABRY, T. J. Carbon-13 NMR studies of flavonoids III: Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives. **Tetrahedron**, v. 34, p. 1389–1397, 1978.
74. MOURA, A. C. DA S.; VILEGAS, W.; DOS SANTOS, L. C. Identificação de alguns constituintes químicos de *Indigofera hirsuta* Linn. (Fabaceae) por CLAE-IES-EM (TOF) e avaliação da atividade antirradicalar. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1136–1140, 2011.
75. NUGROHO, A.; KIM, M. H.; CHOI, J.; CHOI, J. S.; JUNG, W. T.; LEE, K. T.; PARK, H. J. Phytochemical studies of the phenolic substances in *Aster glehni* extract and its sedative and anticonvulsant activity. **Archives of Pharmacal Research**, v. 35, n. 3, p. 423–430, 2012.
76. SCHWIKKARD, S. L.; MULHOLLAND, D. A.; HUTCHINGS, A. Phaeophytins from *Tapura fischeri*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 8, p. 2391–2394, 1998.
77. ANTAS E SILVA, D.; DA SILVA, T. M. .; LINS, A. C. S.; DA COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; DE SOUZA, M. F. V.; FILHO, R. B. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1250–1254, 2006.
78. CHAVES, O. S.; GOMES, R. A.; TOMAZ, A. C. .; FERNANDES, M. .; MENDES JUNIOR, L. G.; AGRA, M. F.; BRAGA, V. A.; DE SOUZA, M. F. V. Secondary metabolites from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the vasorelaxant activity of cryptolepinone. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 2769–2777, 2013.
79. CHAURASIA, N.; WICHTL, M. Sterols and steryl glycosides from *Urtica dioica*. **Journal of Natural Products**, v. 50, n. 5, p. 881–885, 1987.
80. 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. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027–1031, 2002.
81. GUEDES, J. A. C.; ALVES FILHO, E. G.; SILVA, M. F. S.; RODRIGUES, T. H. S.; RAMIRES, C. M. C.; LIMA, M. A. C.; SILVA, G. S.; PESSOA, C.; CANUTO, K. M.; BRITO, E. S.; ALVES, R. E.; NASCIMENTO, R. F.; ZOCOLO, G. J. GC-MS-based metabolomic profiles combined with chemometric tools and cytotoxic activities of non-polar leaf extracts of *Spondias mombin* L. and *Spondias tuberosa* Arr. Cam. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 2, p. 331–340, 2020.
82. DA SILVA, A. C. N.; DO NASCIMENTO, R. M. C.; RODRIGUES, D. C. N.; FERREIRA, P. M. P.; PESSOA, C.; LIMA, D. J. B.; MORAES FILHO, M. O.; DE

- ALMEIDA, R. M.; FERREIRA, S. R.; FUJIWARA, R. T.; DO NASCIMENTO, A. M. In vitro activity evaluation of seven Brazilian Asteraceae against cancer cells and *Leishmania amazonensis*. **South African Journal of Botany**, v. 121, p. 267–273, 2019.
83. SUFFNESS, M.; PEZZUTO, J. M. Assays related to cancer drug discovery. In: **Methods in plant biochemistry: assays for bioactivity**. London: Academic Press, 1991.
84. CHENG, H. H.; WANG, H. K.; ITO, J.; BASTOW, K. F.; TACHIBANA, Y.; NAKANISHI, Y.; XU, Z.; LUO, T. Y.; LEE, K. H. Cytotoxic pheophorbide-related compounds from *Clerodendrum calamitosum* and *C. cyrtophyllum*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 7, p. 915–919, 2001.
85. CHAN, J. Y. W.; TANG, P. M. K.; HON, P. M.; AU, S. W. N.; TSUI, S. K. W.; WAYE, M. M. Y.; KONG, S. K.; MAK, T. C. W.; FUNG, K. P. Pheophorbide a, a major antitumor component purified from *Scutellaria barbata*, induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells. **Planta Medica**, v. 72, n. 1, p. 28–33, 2006.

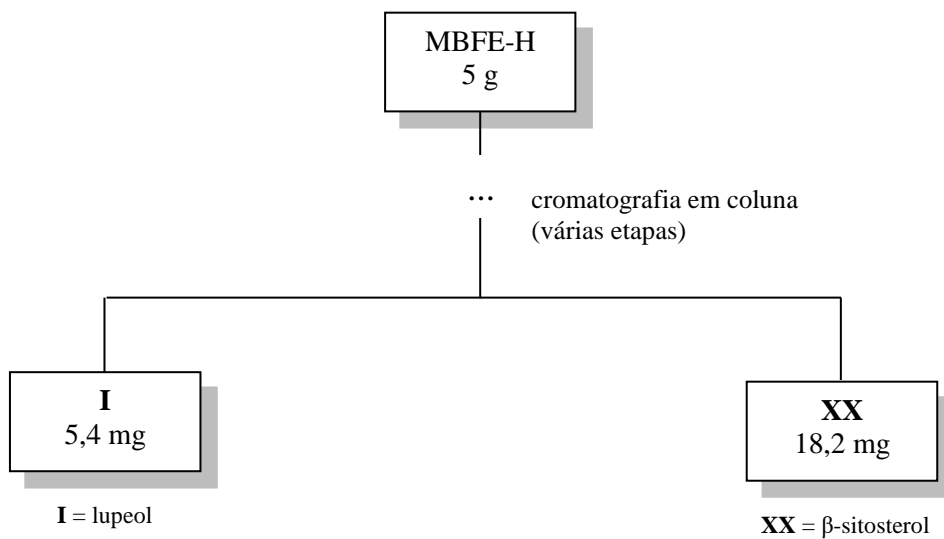
APÊNDICES

Apêndice A-Fotografia de *M. burchelli*, com destaque para as folhas e para as cascas do caule.



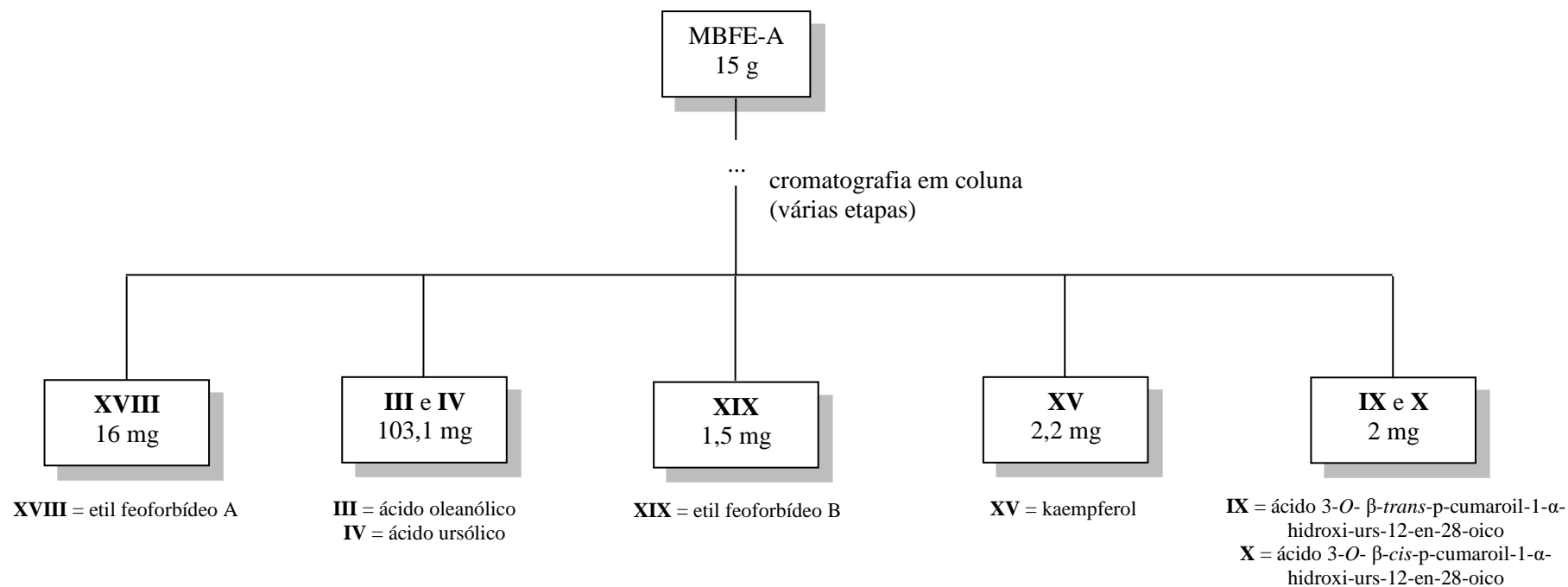
Fonte: autora.

Apêndice B-Fluxograma resumido das substâncias obtidas da fração hexânica das folhas de *M. burchellii*.



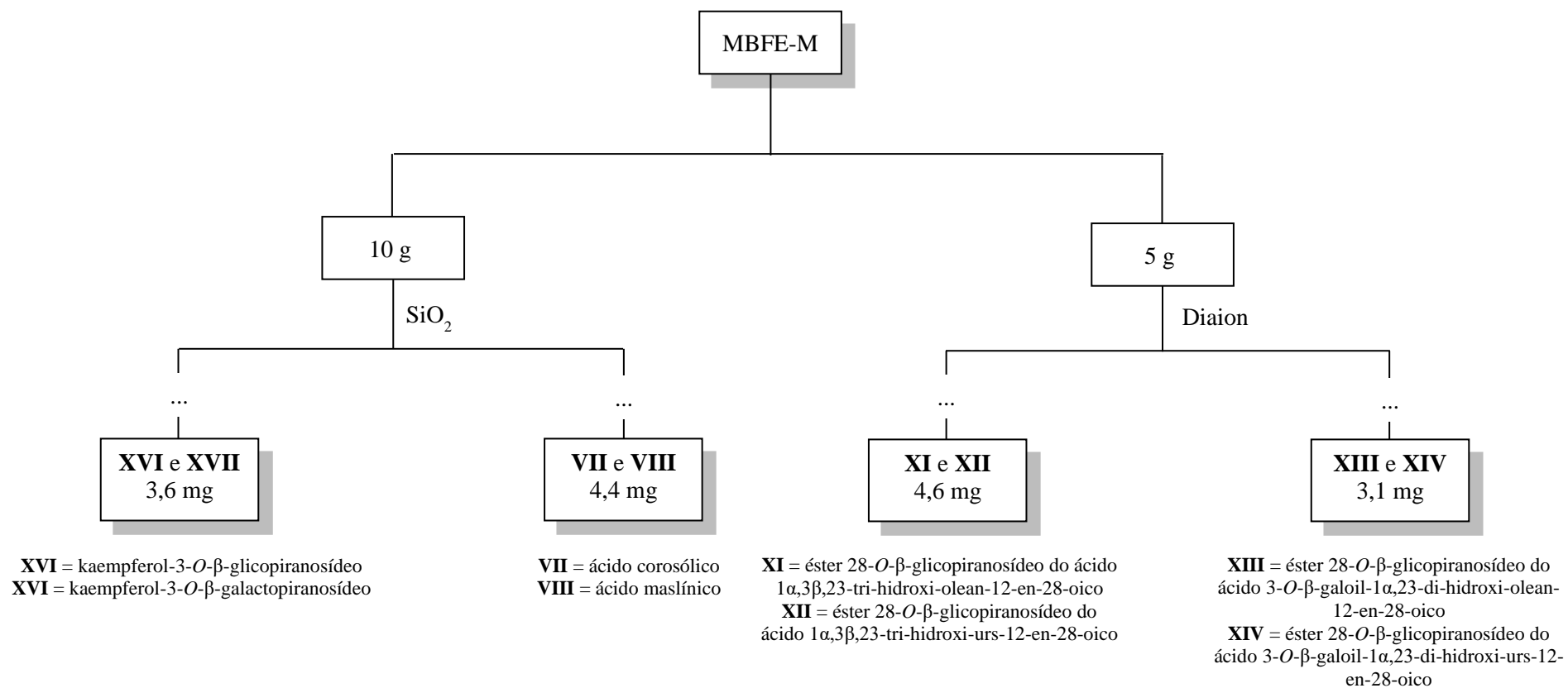
Fonte: autora.

Apêndice C-Fluxograma resumido das substâncias obtidas da fração em acetato de etila das folhas de *M. burchellii*.



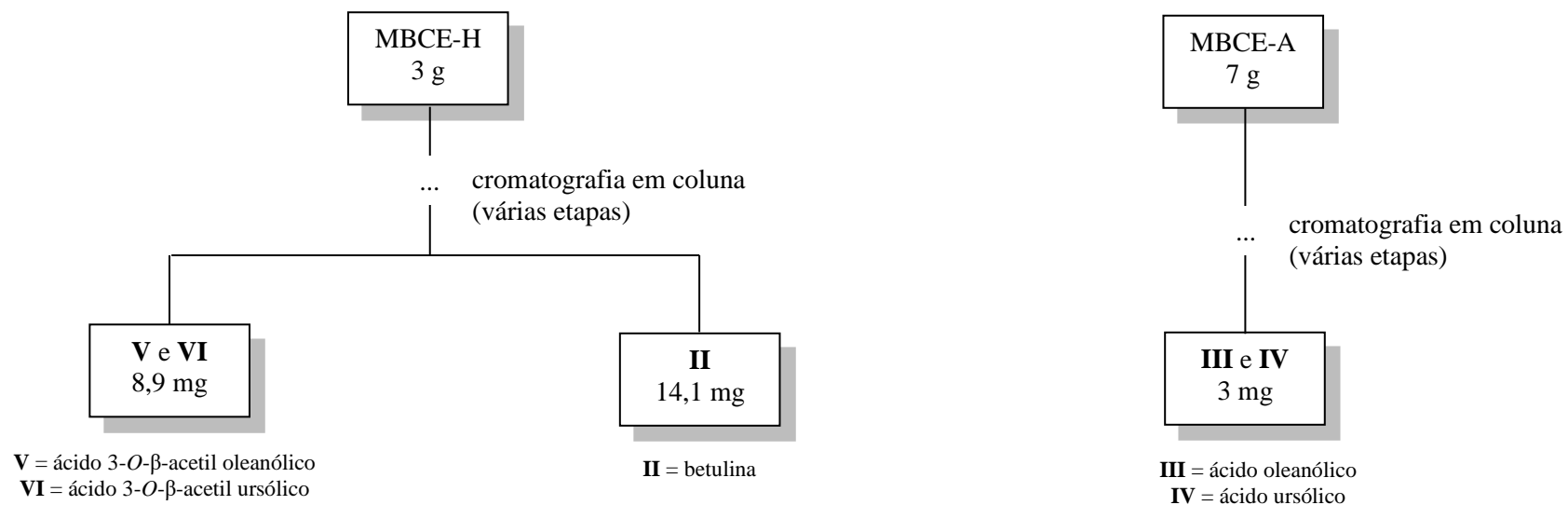
Fonte: autora.

Apêndice D-Fluxograma resumido das substâncias obtidas da fração metanólica das folhas de *M. burchellii*.



Fonte: autora.

Apêndice E- Fluxogramas simplificados das substâncias obtidas das frações hexânica e em acetato de etila das cascas do caule de *M. burchellii*.



Fonte: autora.