

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

THAYWANE AZEVEDO MARQUES

**ESTUDO QUÍMICO DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO DE *Pleroma granulosum* E
AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIFÚNGICA**

UBERLÂNDIA

2023

THAYWANE AZEVEDO MARQUES

**ESTUDO QUÍMICO DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO *DE Pleroma granulorum* E
AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIFÚNGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para a obtenção do título de mestre em Química.
Área de concentração: Química de Produtos Naturais
Orientadora: Prof^ª. Dra. Raquel M. F. de Sousa
Coorientadora: Prof^ª. Dra. Carla de Moura Martins

UBERLÂNDIA

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

M357 Marques, Thaywane Azevedo, 1997-
2023 ESTUDO QUÍMICO DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO DE *Pleroma granulosum* E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIFÚNGICA [recurso eletrônico] / Thaywane Azevedo Marques. - 2023.

Orientadora: Raquel Maria Ferreira de Sousa.

Coorientadora: Carla de Moura Martins.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.492>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Química. I. Sousa, Raquel Maria Ferreira de, 1981-, (Orient.). II. Martins, Carla de Moura, 1986-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Química. IV. Título.

CDU: 54



ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 381, PPGQUI				
Data:	Vinte e oito de agosto de dois mil e vinte e três	Hora de início:	14h	Hora de encerramento:	17:15
Matrícula do Discente:	12112QMI022				
Nome do Discente:	THAYWANE AZEVEDO MARQUES				
Título do Trabalho:	"ESTUDO QUÍMICO DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO DE <i>Pteroma granulosum</i> E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIFÚNGICA"				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Produtos Naturais				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Desenvolvimento de métodos de análises de metabólitos secundários de produtos naturais				

Reuniu-se, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernandez Terrones, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: **Mário Machado Martins**, da Universidade Federal de Uberlândia; **Michelle Nauara Gomes do Nascimento** (participação on-line <https://meet.google.com/syc-brcy-zfa>), da Colégio Éxito, e **Raquel Maria Ferreira de Sousa**, orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidenta da mesa, Dr^a. **Raquel Maria Ferreira de Sousa**, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Maria Ferreira de Sousa, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/08/2023, às 17:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Mário Machado Martins, Usuário Externo**, em 28/08/2023, às 17:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Michelle Nauara Gomes do Nascimento, Usuário Externo**, em 28/08/2023, às 17:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4777232** e o código CRC **2201BA58**.



Dedico este trabalho a todos os meus familiares e aos amigos que sempre me apoiaram e encorajaram minha busca pelo conhecimento, em especial ao meu avô, Sebastião Azevedo, cuja partida aconteceu ao longo desta jornada. Esta dedicatória é uma maneira sincera de expressar minha profunda gratidão pelos anos que compartilhamos e uma forma de honrar as preciosas memórias que guardo com carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ser essencial em minha vida, autor do meu destino, meu guia, meu amigo, meu companheiro de todos os momentos. Ele é aquele que sempre me deu força, saúde e coragem para superar as dificuldades dessa longa caminhada.

Aos meus pais João Herley e Clezia e minhas irmãs Thayssa e Thaynara, pelo amor, incentivo e apoio.

A Universidade Federal de Uberlândia juntamente com o seu corpo docente, direção e administração que me deram essa grande oportunidade.

À equipe do Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, expressei minha sincera gratidão pela colaboração valiosa e pelo suporte fundamental nas análises do óleo essencial.

Agradeço a todos os professores que de alguma forma contribuíram na minha formação, em especial a minha orientadora a professora Dr^a. Raquel Sousa por ter aceitado me orientar, pelo suporte, atenção, correções e pelos incentivos.

A minha coorientadora Carla Martins pela ajuda no desenvolvimento da pesquisa e pelos conselhos.

A técnica de laboratório Alessandra por ter me dado assistência nas análises com o equipamento do CG-EM e pelos conselhos.

Ao professor Dr. Carlos Henrique Gomes Martins e à aluna Anna Livia Oliveira Santos do Laboratório de Ensaios Antimicrobianos, da UFU, pelos testes biológicos.

Quero expressar minha sincera gratidão à equipe do NuPPEN pelo acolhimento caloroso e suporte contínuo durante a realização deste trabalho. Em agradecimento, a Débora Machado pelo auxílio durante a realização das análises químicas e por todos os esclarecimentos das minhas dúvidas.

Aos meus amigos que sempre torceram pela minha felicidade e pelas minhas conquistas.

Quero agradecer meus primos Ozeas e Pollyana por ter me oferecido suporte nas minhas viagens a Uberlândia.

Gostaria de expressar minha sincera gratidão aos meus primos Murilo e Ludmila por terem me acolhido em sua casa. A generosidade e hospitalidade de vocês fizeram toda a diferença, tornando minha estadia uma experiência confortável e memorável.

Quero dedicar um sincero agradecimento ao meu namorado, que tem sido uma fonte constante de apoio, carinho e alegria em minha vida.

À FAPEMIG, CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro concedido.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte desse processo, o meu muito obrigado.

"Assim como a natureza encontra suas possibilidades de crescimento e sustentação mesmo nas condições mais desafiadoras, também encontramos em nossa própria força a capacidade de florescer diante das dificuldades da vida."

RESUMO

A rica biodiversidade vegetal brasileira tem sido alvo de estudos que enfatizam a importância dos recursos naturais na pesquisa de novos tratamentos medicinais. Nesse contexto, destaca-se a *Pleroma granulatum* (Desr.) D. Don, conhecida como Quaresmeira, uma planta amplamente distribuída e de fácil acesso. Pertencente à família Melastomataceae, essa espécie tem sido pouco explorada cientificamente, embora outras espécies da mesma família apresentem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas. Diante disso, é necessário investigar as atividades relacionadas a essa planta. Este estudo tem como objetivo identificar os compostos químicos presentes nas folhas da *P. granulatum*, explorando suas propriedades antioxidantes e antifúngicas. Foram obtidos extratos por maceração, e também foi avaliado o potencial antifúngico do óleo essencial e dos extratos das folhas. As amostras vegetais foram coletadas em Morrinhos-GO. As atividades antioxidantes foram analisadas usando métodos como a inibição do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), capacidade de redução de metal (FRAP) e ensaio ABTS. O teor de fenóis totais foi quantificado pelo método de Folin-Ciocalteu. A atividade antifúngica foi avaliada pela Concentração Inibitória Mínima (CIM) contra espécies como *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. parapsilopsis*. A identificação dos compostos nos extratos foi realizada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas por fonte de ionização eletrospray em modos positivo e negativo. Os resultados mostraram a presença de diversos compostos, incluindo flavonoides, ácidos fenólicos e ácidos graxos. O extrato etanólico apresentou alto teor de fenóis totais, o que explicou suas atividades antioxidantes intensas nos ensaios DPPH, FRAP e ABTS. Quanto à atividade antifúngica, o extrato etanólico demonstrou resultados notáveis, exibindo CIMs significativamente baixas para várias espécies de *Candida*. Por outro lado, a análise antifúngica do óleo essencial não produziu resultados significativos. Essa pesquisa ressalta o potencial biológico da espécie estudada, uma planta frequentemente usada em ornamentação. Os resultados demonstram que o aprofundamento dos estudos sobre essa espécie é promissor, com o objetivo de identificar compostos antifúngicos bioativos.

Palavras-chaves: antifúngica; antioxidante; atividade biológica; composição química; espectrometria de massas; quaresmeira.

ABSTRACT

The rich plant biodiversity in Brazil has been the subject of studies emphasizing the importance of natural resources in the research of new medicinal treatments. In this context, *Pleroma granulorum* (Desr.) D. Don, known as "Quaresmeira," stands out as a widely distributed and easily accessible plant. Belonging to the Melastomataceae family, this species has been relatively underexplored scientifically, despite other species within the same family exhibiting antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties. Therefore, it is necessary to investigate the activities associated with this plant. This study aims to identify the chemical compounds present in *P. granulorum* leaves, exploring their antioxidant and antifungal properties. Extracts were obtained through maceration, and the antifungal potential of the essential oil and leaf extracts was evaluated. Plant samples were collected in Morrinhos-GO. Antioxidant activities were analyzed using methods such as the 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) free radical inhibition assay, ferric reducing antioxidant power (FRAP), and ABTS assay. The total phenolic content was quantified using the Folin-Ciocalteu method. Antifungal activity was assessed through Minimum Inhibitory Concentration (MIC) against species like *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, and *C. parapsilopsis*. Compound identification in the extracts was carried out through liquid chromatography coupled with mass spectrometry with electrospray ionization in positive and negative modes. The results revealed the presence of various compounds, including flavonoids, phenolic acids, and fatty acids. The ethanol extract exhibited a high total phenolic content, explaining its strong antioxidant activities in the DPPH, FRAP, and ABTS assays. Concerning antifungal activity, the ethanol extract showed remarkable results, displaying significantly low MICs for several *Candida species*. Conversely, the analysis of the essential oil did not yield significant results. This research underscores the biological potential of the studied species, a plant often used for ornamental purposes. The results demonstrate that further studies on this species are promising with the aim of identifying bioactive antifungal compounds.

Keywords: antifungal; antioxidant; biological activity; chemical composition; mass spectrometry; Quaresmeira.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura de compostos isolados da <i>Papaver somniferum</i> que se tornaram princípio ativo de fármacos.....	19
Figura 2- Fármaco extraído da <i>Taxus brevifolia</i>	20
Figura 3- Imagem da espécie <i>Cordia verbenacea</i>	20
Figura 4- Origem dos fármacos de 1981 a 2019.	21
Figura 5- Esquema Geral das vias da biossíntese do metabolismo vegetal	23
Figura 6- Exemplo de estruturas dos terpenos	25
Figura 7- Biossíntese dos terpenos	27
Figura 8- Estrutura básica de um flavonoide.....	30
Figura 9- Esquema simplificado da biossíntese dos flavonoides	31
Figura 10- A estrutura geral dos ácidos hidrocinâmicos e os grupos funcionais de anel aromático	35
Figura 11- A estrutura geral dos ácidos hidroxibenzoico e os grupos funcionais de anel aromático	36
Figura 12- Esquema da biossíntese dos ácidos fenólicos.....	37
Figura 13- Estrutura dos taninos hidrolisáveis (a) e condensados (b).....	38
Figura 14- Tipos de proantocianidinas	39
Figura 15- Fotografia da espécie <i>Pleroma granulosum</i>	45
Figura 16- Estruturas dos compostos identificados para o gênero <i>Pleroma</i>	50
Figura 17- Hidrodestilação em aparelho Clevenger.....	54
Figura 18- Esquema representativo do preparo dos extratos	56
Figura 19- Cromatograma do óleo essencial da <i>P. granulosum</i> – a) Antes dos 4 min e b) após 4 minutos.	65
Figura 20- Estruturas dos compostos identificados no óleo essencial das folhas	69
Figura 21- Espectro de massa do pico de retenção 3,59 min	70
Figura 22- Espectro de massa do 3-Hexen-1-ol (Z) pelo Adams (2007)	71
Figura 23- Fragmentação m/z 82 e m/z 67.....	71
Figura 24- Proposta de fragmentação do m/z 55	72

Figura 25- Reação do ácido gálico com o íon molibdênio, um dos constituintes do reagente de Folin-Ciocalteu.	77
Figura 26- Curva analítica para a determinação espectrofotométrica de fenóis totais.....	77
Figura 27- Mecanismo de reação entre o DPPH e compostos fenólicos.....	79
Figura 28- Curva analítica com diferentes concentrações de DPPH.....	80
Figura 29- Formação de radical ABTS a partir de ABTS com persulfato de potássio	83
Figura 30 - Reação do FRAP	85
Figura 31- Cromatograma em alta resolução no modo positivo (a) e modo negativo (b) do extrato etanólico da <i>P. granulosum</i>	89
Figura 32- Estruturas dos compostos identificados no extrato etanólico da <i>P. granulosum</i>	93
Figura 33- Isômeros do ácido 3,4 e 5-cafeoilquinico	94
Figura 34- Esquema do padrão de fragmentações dos isômeros cafeoilquinico.....	96
Figura 35- Proposta de fragmentação do m/z 355 (modo positivo)	96
Figura 36- Fragmentação do íon m/z 289 (modo negativo)	98
Figura 37- Fragmentação do íon m/z 577 (modo negativo)	99
Figura 38- Fragmentação do íon m/z 865 (modo negativo).....	100
Figura 39- Proposta de Fragmentação para (epi)/ catequina-3- <i>O</i> -galato no modo negativo.	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Classificação de terpenos e terpenoides de acordo com a unidade de isopropeno.	24
Tabela 2 - Métodos de extração de óleo essencial.....	28
Tabela 3 -Classificação dos Compostos Fenólicos de acordo com a cadeia principal.....	29
Tabela 4 - Classificação dos flavonoides	33
Tabela 5 - Espécies reativas de oxigênio.....	42
Tabela 6 - Compostos identificados de gênero <i>Pleroma</i>	48
Tabela 7 -Rendimento do óleo essencial da <i>Pleroma granulosum</i>	64
Tabela 8 - Composição química do óleo essencial da <i>P. granulosum</i>	67
Tabela 9 - Teor de umidade presente nas folhas utilizadas para o extrato	74
Tabela 10 - Rendimento obtido dos EH e EE das folhas de <i>P. granulosum</i>	75
Tabela 11 - Prospecção fitoquímica para a <i>Pleroma granulosum</i>	76
Tabela 12 -Teor de fenóis totais dos extratos das folhas da <i>P. granulosum</i>	78
Tabela 13 - Resultados de CE ₅₀ da análise da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH dos extratos das folhas da <i>P. granulosum</i>	80
Tabela 14 - Valores de CE ₅₀ para outras espécies da família Melastomataceae.	81
Tabela 15 - Resultados da Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox da análise da atividade antioxidante pelo método ABTS dos extratos das folhas da <i>P. granulosum</i>	83
Tabela 16 - Resultados da Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox da análise da atividade antioxidante pelo método ABTS dos extratos das folhas da <i>P. granulosum</i>	85
Tabela 17 -Concentrações inibitórias mínima (CIM) dos extratos e óleo essencial das folhas de <i>P.granulosum</i>	87
Tabela 18 - Propostas de anotação dos compostos presentes no extrato etanólico da <i>Pleroma granulosum</i>	90

LISTA DE ABREVIACÕES

3-CQA	Ácido 3-cafeoilquinico
4-CQA	Ácido 4-cafeoilquinico
5-CQA	Ácido 5-cafeoilquinico
AA	Atividade antioxidante
AAPH	2,20-azobis-(2-amidino-propano)
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American type culture collection
ATP	Adenosina trifosfato
BHA	Hidroxianisol butilado
BHT	Hidroxitolueno butilado
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDPME	4-difosfocitidil-2-C-metil-D-eritritol
CE ₅₀	Concentração eficiente
CG-EM	Cromatógrafo a gás acoplado à espectrômetro de massas
CIM	Concentrações inibitórias mínimas
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLAE-IES-EM	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à espectrometria de massa com fonte de ionização por eletrospray
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CoA	Coenzima A
DMAPP	Dimetilalil difosfato
DMSO	Dimetilsulfoxido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilidrazila
DXP	1-Desoxi-D-xilulose 5-fosfato
EE	Extrato etanólico
EH	Extrato hexânico

EM	Espectrometria de Massas
EM/EM	Espectrometria de massas sequencial
EPPM	Erro por milhão
EROS	Espécies reativas de oxigênio
FDA	Food and Drug Administration
FPP	Farnesil difosfato
FRAP	Capacidade antioxidante de redução de ferro
GAP	Gliceraldeído 3-fosfato
GGPP	Geranilgeranil difosfato
GPP	Geranil fosfato
HAT	Transferência de átomos de hidrogênio
HBA	Ácido hidroxibenzoico
HCA	Ácido hidroxicinâmico
HMG-CoA	3-hidroxi 3-metilglutaril coA
HMGR	HMG-coa redutase
HMBPP	a 1-hidroxi-2-metil-2-(E)-butenil-4-difosfato
HRF	Fissão de anel heterocíclico (do inglês Heterocyclic ring fission)
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IA	Índice aritmético
IDI	Isopentenil difosfato isomerase
IL-1 β	Interleucina 1-beta
IES	Fonte de ionização por electrospray
IGEB-UFU	Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia
IPP	Isopentenil difosfato
ISO	Organização Internacional de Normalização
LEA	Laboratório de Ensaio Antimicrobianos
<i>m/z</i>	Razão massa carga
MEC	2-C-metil-D-eritritol-2,4- ciclodifosfato
MECP	2C-metil-D-eritritol 2,4-ciclodifosfato

MEP	Metileritritol fosfato
MIC	(Minimal Inhibitory concentration)
MOPS	Ácido 3-N-morfolinopropanosulfônico
MVA	Ácido mevalônico
MVAP	Mevalonato monofosfato
MVAPP	Difosfomevalonato
NADH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
NCI	Nacional câncer institute
NIST	National Institute of Standards and Technology
NP	Difenilboriloxietilamina
NuPPeN	Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais
PACs	Proantocianidinas
PDK	Complexo piruvato desidrogenase
PEG 4000	Polietilenoglicol 4000
PTFE	Politetrafluoroetileno
pH	Potencial hidrogeniônico
PN	Produtos naturais
QM	Quinone methide
RDA	Retro-Diels-Alder
SPLET	Sequencial de próton na transferência de elétrons
TEAC	Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox
TPP	Tiamina difosfato
TPTZ	2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina
T _R	Tempo de retenção
TROLOX	Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
UFC	Unidades formadoras de colônia
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	18
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	22
2.1 METABOLISMO SECUNDÁRIO	22
2.1.1 Terpenos.....	23
2.1.2 Compostos Fenólicos.....	29
2.2 ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	40
2.2.1 Atividade antifúngica	40
2.2.2 Atividade antioxidante.....	41
2.3 <i>Pleroma granulosum</i> : CARACTERÍSTICA DA FAMÍLIA E DO GÊNERO.....	44
3. OBJETIVOS	51
3.1 OBJETIVO GERAL.....	51
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	51
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	51
4.1 REAGENTES E SOLVENTES.....	51
4.2 INSTRUMENTAÇÃO.....	52
4.3 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL.....	53
4.4 ÓLEO ESSENCIAL.....	53
4.4.1 Extração do óleo essencial.....	53
4.4.2 Análise do óleo essencial por CG-EM	54
4.4.3 Identificação dos componentes do óleo essencial	54
4.5 EXTRATOS DAS FOLHAS.....	55
4.5.1 Preparo dos extratos por maceração	55
4.5.2 Prospecção fitoquímica dos extratos.....	56
4.5.3 Determinação de fenóis totais.....	58
4.5.4 Determinação da atividade antioxidante.....	58
4.5.4.1 DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila).....	58
4.5.4.2 ABTS (2,20-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)).....	59
4.5.4.3 Capacidade antioxidante de redução de ferro (ferric reducing antioxidant power – FRAP).....	60

4.5.5 Avaliação da atividade antifúngica dos extratos e do óleo essencial.....	61
4.5.6 Análise por cromatografia líquida acoplada á espectrometria de massas de alta resolução.....	62
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	63
5.1 ÓLEO ESSENCIAL.....	64
5.1.1 Identificação dos compostos voláteis.....	64
5.2 EXTRATOS.....	74
5.2.1 Determinação da umidade	74
5.2.2 Rendimento dos extratos.....	74
5.2.3 Prospecção fitoquímica	75
5.3.4 Análise do teor de fenóis totais.....	76
5.2.5 Análise da atividade antioxidante	Erro! Indicador não definido.
5.2.5.1 Análise da atividade antioxidante: Sequestro do radical DPPH.....	78
5.2.5.2 Atividade antioxidante pelo método ABTS.....	82
5.2.5.3 Atividade antioxidante pelo método FRAP.....	84
5.2.6 Atividade antifúngica.....	86
5.2.7 Anotação dos compostos no extrato etanólico por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução	88
5.2.8 Relação entre os compostos identificados e as atividades biológicas avaliadas.....	101
6. CONCLUSÕES.....	102
REFERÊNCIAS	104
APÊNDICE A -FIGURAS DOS ESPECTROS DE MASSAS DA TABELA 18	128

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Comumente, os produtos naturais são identificados como substâncias químicas geradas por fontes biológicas, frequentemente exibindo atividades biológicas. Esses compostos podem ser obtidos a partir de tecidos, células, secreções de microrganismos, animais e plantas. Essa classe de compostos desempenhou um papel de grande importância no avanço dos medicamentos modernos, sendo essencial para a formulação de novos agentes terapêuticos (Brahmachari, 2015; Chintoju *et al.*, 2015).

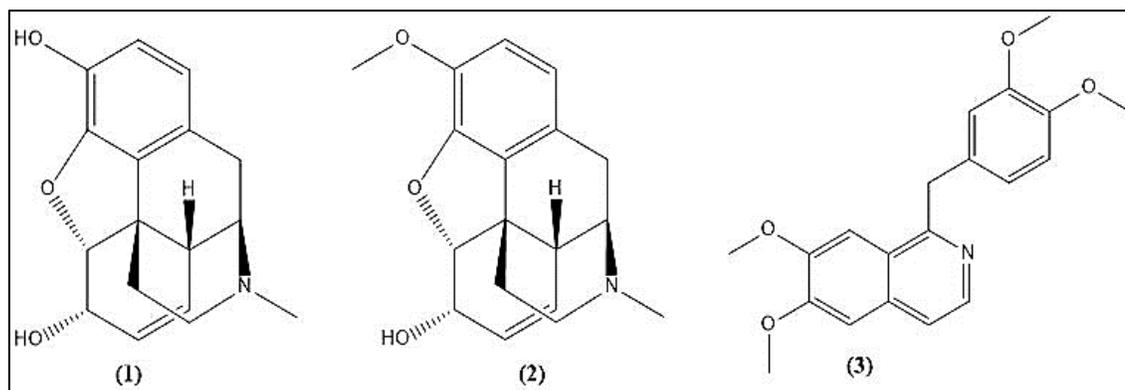
Os organismos vivos, ramo de estudo dos produtos naturais, passam por diversas transformações químicas que são realizadas por dois tipos de metabolismo vegetal: o metabolismo primário e o metabolismo secundário (especializado). Os metabólitos primários são produzidos por todas as plantas e envolvem vias que são vitais para o crescimento e desenvolvimento da espécie. Já os metabólitos secundários estão associados com a adaptabilidade da espécie para a sobrevivência, possuindo funções como: proteção contra pragas e patógenos, regulação de interações benéficas, atrativos para animais polinizadores, e dispersores de sementes, alelopátia, moduladores de resposta ao estresse abiótico, além de contribuir com aroma, cores, e outras funcionalidades. Açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos e nucleotídeos e moléculas maiores pertencem ao metabolismo primário, já o metabolismo secundário pode pertencer a uma das três principais classes de moléculas: terpenos, compostos fenólicos ou alcaloides (Dhaniaputri *et al.*, 2022; Filho, 2010; Pott; Osório; Taiz *et al.*, 2017; Vallarino, 2019).

Antes mesmo do advento da pesquisa científica, ao longo da história, era comum empregar recursos naturais no combate a doenças. Inclusive, as plantas medicinais foram a primeira forma de recurso terapêutico utilizado pela população humana desde as antigas civilizações. A manipulação dos vegetais ocorreu de forma empírica, então o conhecimento de propriedades úteis ou nocivas, eram feitas mediante tentativas, que podiam acarretar em cura, mas também em efeitos colaterais graves. Óleo de cedro (*Cedrus sp.*), mirra (*Commiphora sp.*) e alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*) foram as descrições iniciais do uso de plantas medicinais no tratamento de doenças como gripe, resfriado e infecções (Monteiro; Brandelli, 2017).

A papoula (*Papaver somniferum*) é uma espécie usada a mais de 4.000 anos, e importantes princípios ativos têm sido isolados. O alcaloide Morfina (**1**) foi obtido por Friedrih Sertuner em 1806, identificando como uma substância cristalina, insolúvel em água, denominando-a

posteriormente de *morphium*, homenageando o Deus grego do sono Morfeu. Outros alcaloides extraídos foram: o anti-tussígeno codeína **(2)** por Pierre-Jean Robiquet e o antiespasmódico papaverina **(3)** por George Merck (Calixto, 2019.; Duarte, 2005). Na Figura 1 estão representadas as estruturas desses fármacos.

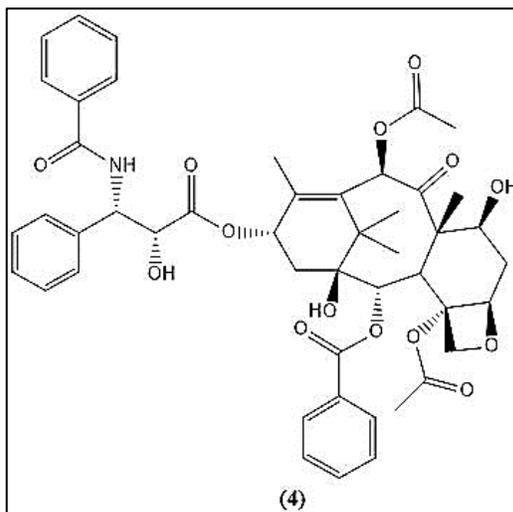
Figura 1-Estrutura de compostos isolados da *Papaver somniferum* que se tornaram princípio ativo de fármacos



Fonte: A autora.

Um produto natural que representa um grande sucesso é o Taxol **(4)** (Figura 2), essa substância teve um importante apoio governamental, sendo o medicamento mais vendido do mundo para tratamentos oncológicos no ano de 2001. Um programa promovido pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e o Nacional Câncer Institute (NCI) coletaram e testaram extratos de diversas plantas, dentre elas o *Taxus brevifolia*, onde foi obtido atividade citotóxica através das cascas do teixo (Marinho *et al.*, 2008; Miguel; Nascimento, 2022). No entanto, o teixo possui um crescimento extremamente lento, o que acarreta em um baixo rendimento do taxol. Por isso novas formas de obtenção alternativas foram propostas utilizando a síntese (Corrêa, 1995).

Figura 2- FÁRMACO extraído da *Taxus brevifolia*



Fonte: A autora.

O Brasil é um país que apresenta uma das maiores biodiversidades do mundo, abrigando uma extensa variedade de espécies vegetais. O primeiro fitofármaco baseado na flora brasileira foi lançado em 2004, desenvolvido pelo laboratório Aché e do Helleva, o Acheflan, um anti-inflamatório de uso tópico, obtido do óleo essencial da *Cordia verbenácea* (Figura 3), conhecida como erva- baleeira (Barreiro, Bolzani, 2009.; Siqueira, 2010).

Figura 3- Imagem da espécie *Cordia verbenácea*



Fonte: Rômulo (2023)

Os exemplos mostrados acima, representam algumas potencialidades e benefícios que o estudo de produtos naturais pode fornecer para a sociedade. Vários avanços ocorreram ao longo do tempo, visando possibilitar uma melhor compreensão acerca dos efeitos e o modo de ação dessas substâncias na saúde, na agricultura, cosméticas, entre outros setores industriais. Além disso, a

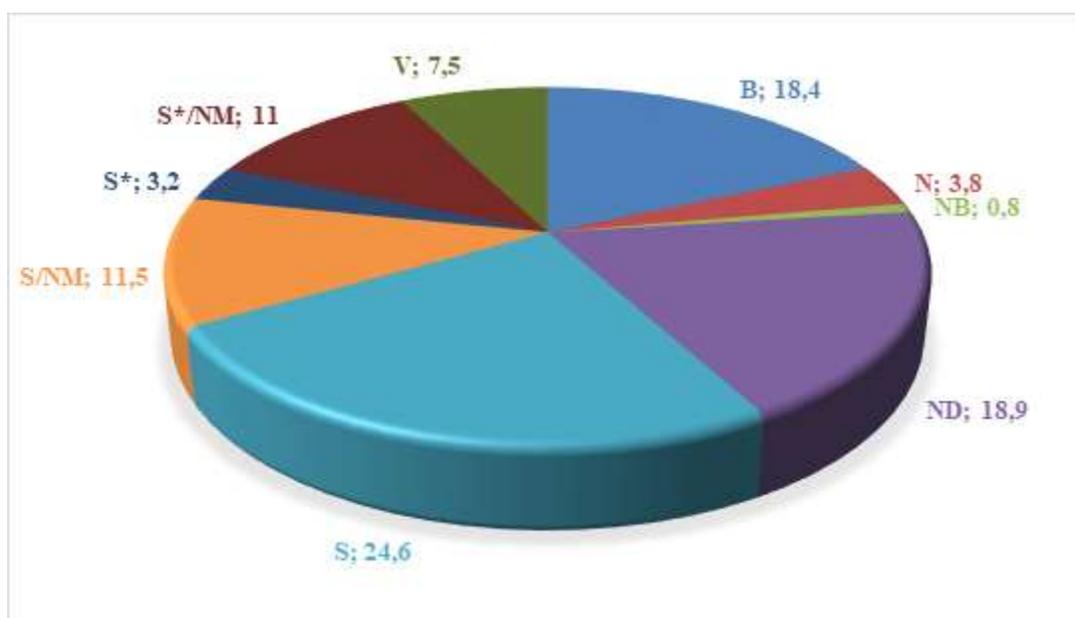
diversidade vegetal brasileira possui atributos com capacidade para conceber produtos inovadores que possivelmente podem trazer diversos aprimoramentos sociais (Brasil, 2006).

Um fator que impulsionou a área de farmacologia, foi o pressuposto no século XX da teoria do receptor da ação do fármaco, onde foi descoberto que os efeitos da droga no corpo humano se devem a interações específicas da molécula do fármaco com as macromoléculas biológicas, ou seja, existem grupos funcionais específicos nos fármacos que originam que são responsáveis pelas atividades biológicas (Lahlou, 2013).

Um estudo adicional que destaca essa importância é o artigo de Newman e Cragg (2020), que categorizou a origem dos medicamentos aprovados pela FDA (*Food and Drug Administration*) entre os anos de 1981 e 2019. Eles descobriram que 66,7% dos 1394 fármacos de pequenas moléculas foram inspirados em produtos naturais, ressaltando a relevância desses produtos na criação de novos medicamentos.

Os autores classificaram a origem dos fármacos da seguinte forma: B – biológica; N – produto natural; NB- produto natural botânico; ND- modificação semissintética, derivado de produto natural; S- droga totalmente sintética; S*- síntese total, mas com o farmacóforo oriundo de produto natural; S*/NM e S/NM- imitação de produto natural. A distribuição percentual dos fármacos aprovados pode ser visualizada através da Figura 4:

Figura 4- Origem dos fármacos de 1981 a 2019.



Fonte: adaptado de Newman e Cragg (2020)

Um outro ponto que vale destacar desse estudo é que a área voltada para medicamentos anti-infecciosos é uma das mais dependentes dos produtos naturais, mas ainda existem diversas doenças que não existem medicamentos com origem de PN (produtos naturais). Mas, como pode ser visto ao longo da história, os produtos naturais têm sido uma fonte significativa de moléculas bioativas e ainda está muito longe de ser totalmente explorado (Gómez-García; Medina-Franco, 2022).

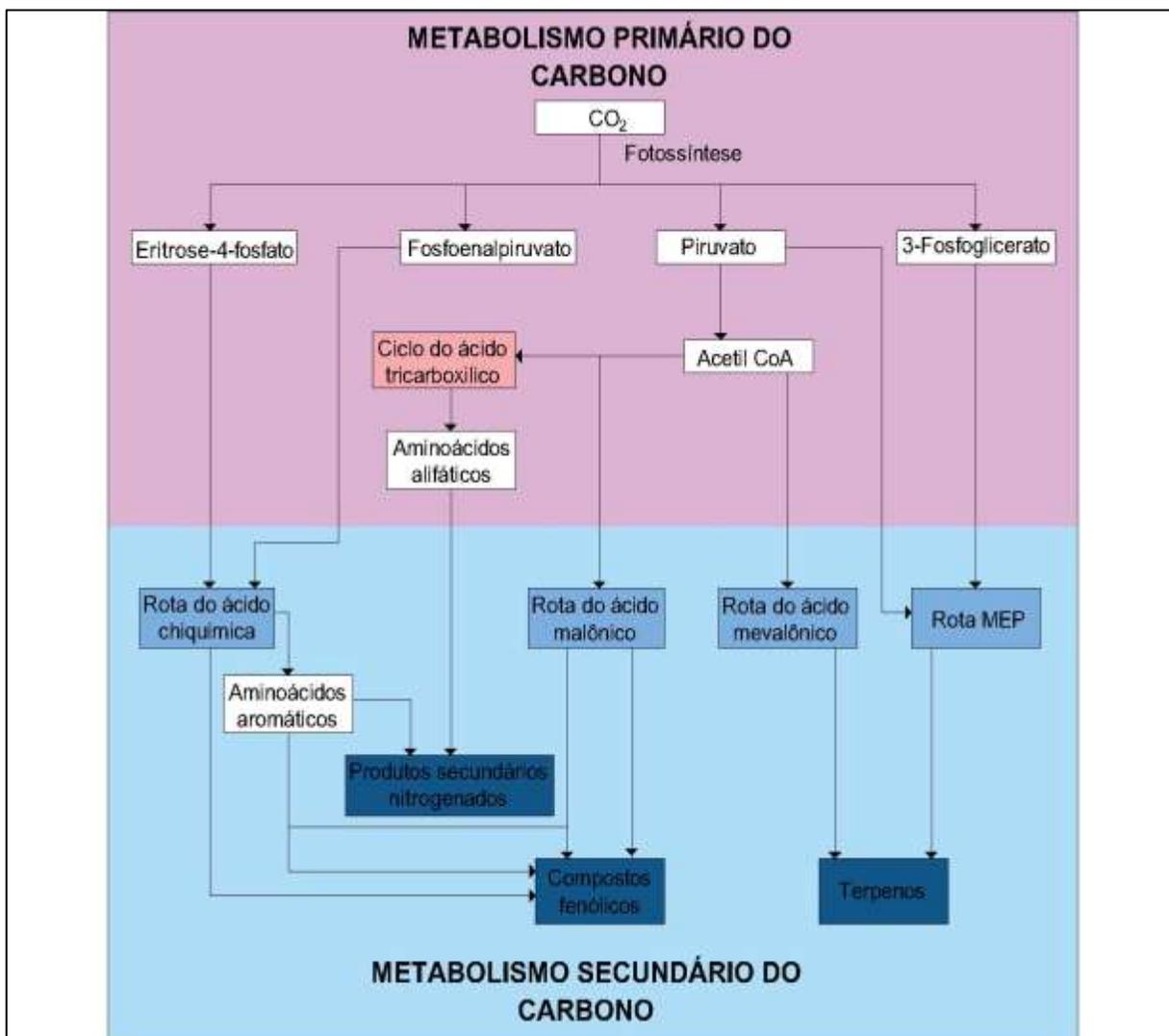
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 METABOLISMO SECUNDÁRIO

O metabolismo pode ser definido como um conjunto de processos bioquímicos em organismos vivos que produzem ou consomem energia (Deberardinis; Thompson, 2012). As reações químicas que ocorrem no metabolismo são catalisadas por enzimas que operam em vias sequenciais para efetivar um processo metabólico, então a capacidade de sintetizar ou de transformar substâncias químicas varia conforme o organismo vivo. As plantas, como exemplo, realizam o processo de fotossíntese e são eficazes na síntese de compostos orgânicos, em contrapartida, outros dependem da obtenção da matéria-prima da sua dieta (Dewick, 2009).

A classificação dos metabólitos secundários é baseada mediante as origens biossintéticas dos precursores e as características estruturais das moléculas. Acetato, mevalonato, chiquimato e metileritritol fosfato são as principais vias do metabolismo secundário vegetal e são derivados de carboidratos simples produzidos durante a fotossíntese da planta (Civjan, 2012). A via do acetato-malonato leva a produção de substâncias contendo anéis aromáticos, a via do ácido mevalônico (MVA) permite a obtenção de terpenos. Já a via do chiquimato está presente apenas nos metabolismos das plantas e dos microrganismos e permite a produção de compostos como: aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano e de constituintes com núcleos benzênicos (Herrmann; Weaver, 1999; Junior, 2002). O metileritritol fosfato (MEP) é uma via alternativa que ocorre nos plastídios e também leva a síntese de terpenos e esteroides. Um esquema geral acerca das vias biossintéticas do metabolismo vegetal secundário pode ser visualizado através da Figura 5.

Figura 5- Esquema Geral das vias da biossíntese do metabolismo vegetal



Fonte: Adaptação de Taiz e Zeiger (2009)

As principais classes de grupos de metabólitos secundários são: terpenos, compostos fenólicos, e os compostos contendo nitrogênio e compostos contendo enxofre (terpenoides, glicosídeos e glicosinolatos, alcaloides e compostos fenólicos) (Kutchan *et al.*, 2015).

2.1.1 Terpenos

Os terpenos representam os compostos naturais que são classificados por número de subunidades de isoprenos (cinco unidades de carbono), derivados em sua maior parte de plantas. Possuem a capacidade de atribuir algumas características como: o cheiro agradável, o sabor e ainda exibir propriedades farmacológicas específicas. Dentre suas funções biológicas e químicas podem ser citados: compostos sinalizadores e reguladores das plantas, como feromônios, proteção das plantas contra animais (Breitmaier, 2006).

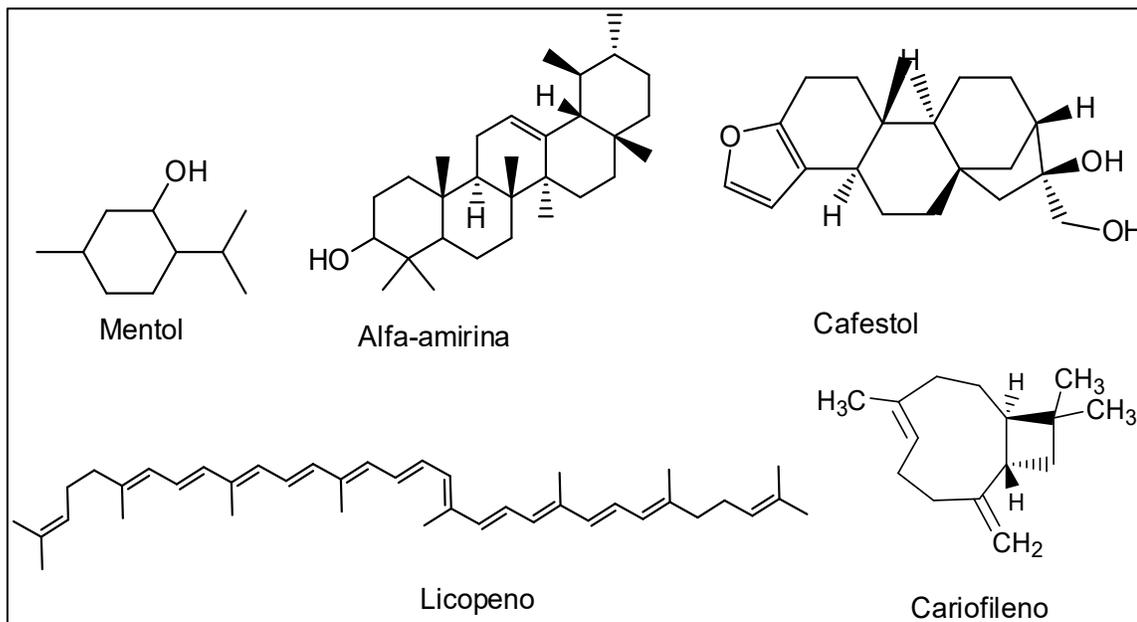
Quando um terpeno contém oxigênio em sua estrutura, ele recebe uma denominação de “terpenoide” e pode possuir diferentes funções químicas (Felipe; Bicas, 2017). A Tabela 1 apresenta a classificação e a Figura 6 ilustra as estruturas dos terpenos.

Tabela 1 -Classificação de terpenos e terpenoides de acordo com a unidade de isopreno.

	Quantidade de carbono	Unidades de isopreno	Exemplos
Monoterpenos	10	2	Mentol
Sesquiterpenos	15	3	Cariofileno
Diterpenos	20	4	Cafestol
Triterpenos	30	6	α -amirina
Tetraterpenos	40	8	Licopeno

Fonte: a autora

Figura 6- Exemplo de estruturas dos terpenos



Fonte: A autora

Existem dois precursores isoprenoides universais, o isopentenil difosfato (IPP) e o dimetilalil difosfato (DMAPP), essas unidades pentacarbonadas se unem para formar moléculas maiores. Primeiramente é formado o geranyl fosfato (GPP) uma molécula constituída por 10 carbonos que permite a formação dos monoterpênos. Depois é formado o precursor do sesquiterpeno por meio da ligação entre GPP e um IPP, formando assim, o farnesil difosfato (FPP) uma molécula composta por 15 carbonos. A adição de mais uma molécula de IPP forma o geranylgeranyl difosfato (GGPP), composta por 20 carbonos, a partir do qual são formados os diterpenos. Por último, através de um processo de dimerização do FPP e GGPP, são formados os triterpenos e os tetraterpenos (Jakiemi, 2008).

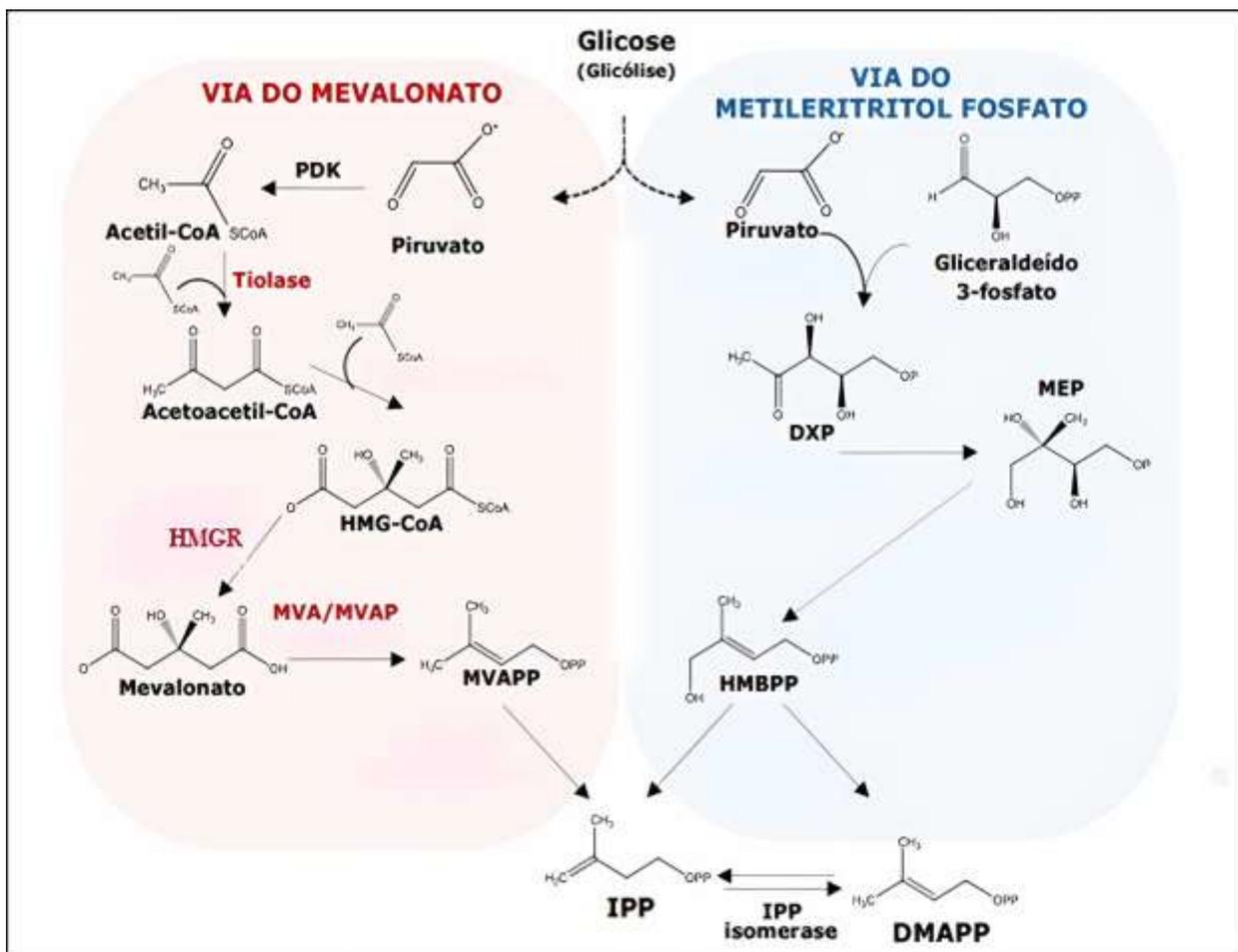
O metabolismo primário é um dos responsáveis pela biossíntese das unidades isoméricas durante a formação dos terpenos e terpenoides, devido ao uso do acetato e piruvato/gliceraldeído provenientes do catabolismo da glicose. São duas vias sintéticas principais: a via do MVA e a via MEP. Nos seres eucariotos, os terpenos são sintetizados pela primeira via, enquanto que nas eubactérias, cianobactérias, algas verdes, parasitas e em plantas superiores, ocorre por meio da segunda via (Souza, 2014.; Brahmshatriya; Brahmshatriya, 2013).

Na primeira via (MVA), são utilizadas três unidades do acetil CoA. Por meio de uma condensação de Claisen, duas dessas moléculas são combinadas formando o acetoacetil-CoA, catalisada pela enzima tiolase. Em seguida, uma adição aldólica estereoespecífica possibilita a formação de um composto 3-hidroxi 3-metilglutaril CoA (HMG-CoA) que é um éster de cadeia ramificada. A molécula HMG-CoA é reduzida pela enzima HMG-CoA redutase (HMGR), que é convertido em ácido mevalônico. Posteriormente, esse ácido é fosforilado e descarboxilado por intermédio de enzimas de ATP (adenosina trifosfato), que resulta no composto IPP. Através da enzima isopentenil difosfato isomerase (IDI), O IPP é isomerizado formando o DMAPP (Cabrera, 2013; Forezi *et al.*, 2022; Nogueira, 2019; Silva, 2020).

A via do MEP é iniciada por meio da formação de uma molécula denominada 1-Desoxi-D-xilulose 5-fosfato (DXP). Esse intermediário é originado através de uma condensação aciloína a partir do piruvato e do gliceraldeído 3-fosfato (GAP), catalisada pela enzima tiamina difosfato (TPP). Posteriormente, o DXP é convertido em 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato (MEP) por meio de uma enzima específica e de uma molécula de NADPH (Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina). Em seguida, é adicionado a esse composto 4-citidina 5-fosfato, formando a 4- (Citidina 5'-difosfato) -2C-metil-D-eritritol, que sofre uma reação em duas etapas, por meio de uma fosforização e uma ciclização, produzindo o 2C-metil-D-eritritol 2,4-ciclodifosfato (MECP). Por último através de reações de redução e eliminação é formado o IPP e DMAPP (Altincicek, 2000; Kim *et al.*, 2005; Singh; Sharma, 2015; Sprenger *et al.*, 1997).

A Figura 7 apresenta um resumo das duas vias para a formação do IPP e DMAPP que são os precursores da formação dos terpenos.

Figura 7- Biossíntese dos terpenos



Fonte: Adaptado de Souza (2020).

Os terpenos e os terpenoides fazem parte da composição dos óleos essenciais, que são líquidos aromáticos compostos por uma mistura complexa, podendo ser encontrados em diversas partes das plantas (Silva *et al.*, 2009). O nome óleo essencial remete a uma ideia muito antiga dos alquimistas, “a quinta essência” e existem evidências do uso desse produto desde épocas anteriores. No período egípcio como exemplo, múmias eram preservadas por meio do óleo de cedro, mirra e canela (Haagen-Smith, 1961).

As glândulas secretoras pertencentes ao material vegetal são responsáveis pelo armazenamento, acúmulo e biossíntese dos óleos essenciais. Estão presentes em todos os órgãos das plantas e são classificadas conforme a sua localização: internamente (cavidades secretoras, canais, laticíferos e idioblastos) ou externamente (nectários, hidatódios e glândulas salinas). Há

uma variedade dessas estruturas de acordo com a função, as substâncias secretadas, os locais e até mesmo a família da planta pode influenciar nesse processo (Asbahani *et al.*, 2015; Crang; Lyons-Sobaski; Wise, 2018; Hazzoumi; Moustakime; Joutei, 2019; Tissier, 2018).

A Organização Internacional de Normalização (ISO) em sua ISO 9235 estabelece que os óleos essenciais podem ser extraídos por alguns métodos de destilação ou de prensagem (iso, 2021). Tongnuanchan e Benjakul (2014) afirmam que a qualidade do óleo essencial é dependente do método de extração, pois um determinado processo de extração pode ocasionar em danos na composição química, levando à perda da atividade biológica e de algumas propriedades, inclusive em alterações físicas.

As técnicas de extração podem ser classificadas em duas categorias: os métodos convencionais ou os métodos alternativos ou extração verde – visam tecnologias rentáveis, sustentáveis, com menos consumo de energia e menos emissão de poluentes (Stratakos; Koidis, 2016).

Tabela 2- Métodos de extração de óleo essencial

Classificação do Método	Método de Extração	Tempo de Extração	Solvente
CONVENCIONAIS	Extração Soxhlet	Longo	Orgânicos
	Maceração	Longo	Água, aquoso e solventes orgânicos
	Hidrodestilação	Longo	Água
	Destilação a vapor de água	Longo	Água
ALTERNATIVOS	Fluido supercrítico	Curto	Dióxido de carbono
	Líquido Pressurizado	Curto	Água, aquoso e solventes orgânicos
	Assistido por Ultrassom	Curto	Água, aquoso e solventes orgânicos
	Assistido por Microondas	Curto	Água, aquoso e solventes orgânicos
	Assistido por Enzimas	Moderado	Água, aquoso e solventes orgânicos
	Campo elétrico pulsado	Curto	Água, aquoso e solventes orgânicos

Fonte: Adaptado de Koina, Sarigiannis e Hapeshi (2023)

Além dessas técnicas ainda existem outras que extraem compostos bioativos de produtos naturais como: destilação a vapor acelerada, hidrodestilação assistida por ôhmicos, líquidos iônicos e queda de pressão de controle transiente termomecânico. Novas técnicas e inovações vêm sendo

estudadas, devido o aumento da demanda e a necessidade de uma produção mais eficaz e sustentável (Majid *et al.*, 2023).

O processo de destilação por arraste a vapor é um dos mais empregados (na industrial e em laboratório de pesquisa) devido à sua simplicidade e economia. Além disso, é um processo seguro que não ocasiona em risco ao meio ambiente (Sartor, 2009).

2.1.2 Compostos Fenólicos

Uma classe com grande diversidade dentro dos metabólitos secundários é a dos compostos fenólicos. Tais substâncias contêm um grupamento fenol e podem ser sintetizados por duas rotas: chiquimato e acetato/malonil. A rota do chiquimato visa converter carboidratos em aminoácidos aromáticos, sendo que as classes principais são oriundas da fenilalamina (Taiz; Zeiger, 2009).

Podem ser classificados por meio do grupo funcional ligado ao fenol ou com base na quantidade de unidades de fenol da molécula. As categorias das classes desses compostos podem ser constatadas pela Tabela 3. Esses compostos desempenham importantes papéis nos vegetais como: proteção a estresses ambientais causados pelo excesso de luz, temperaturas baixas, ataques de patógenos e deficiências nutricionais (Lattanzio, 2013).

Tabela 3-Classificação dos Compostos Fenólicos de acordo com a cadeia principal

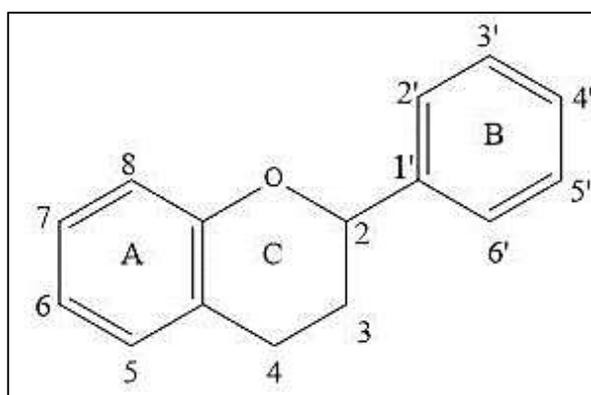
Esqueleto Básico	Classe
Fenólicos simples e Benzoquinonas	C ₆ – Anel benzênico
Ácidos Hidroxibenzoicos	C ₆ -C ₁
Ácidos hidroxicinâmicos, cumarinas e cromonas	C ₆ -C ₂
Acetofenonas e ácidos fenilacéticos	C ₆ -C ₃
Naftoquinonas	C ₆ -C ₄
Benzofenonas e Xantonas	C ₆ -C ₁ -C ₆
Estilbenos e antraquinonas	C ₆ -C ₂ -C ₆
Flavonoides: flavonóis, antocianinas, chalconas, flavonas e isoflavonas	C ₆ -C ₃ -C ₆
Biflavonoides	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂
Taninos hidrolisáveis	(C ₆ -C ₁) _n
Taninos condensados ou proantocianidina	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n

Fonte: Lemos (2008)

2.1.2.1 Flavonoides

É um grupo pertencente aos polifenóis naturais encontrado nas plantas vegetais, conhecidos por serem os responsáveis pelas diversas cores presentes nas flores, nas frutas, legumes, grãos, cascas, raízes entre outros. São caracterizados por apresentar na sua estrutura básica carbonos dispostos na forma $C_6-C_3-C_6$, que corresponde a dois ciclos aromáticos, denominados de anéis A e B ligados a um heterociclo, o anel C (Pandey; Sohng, 2013). A Figura 8 apresenta a estrutura básica dos flavonoides.

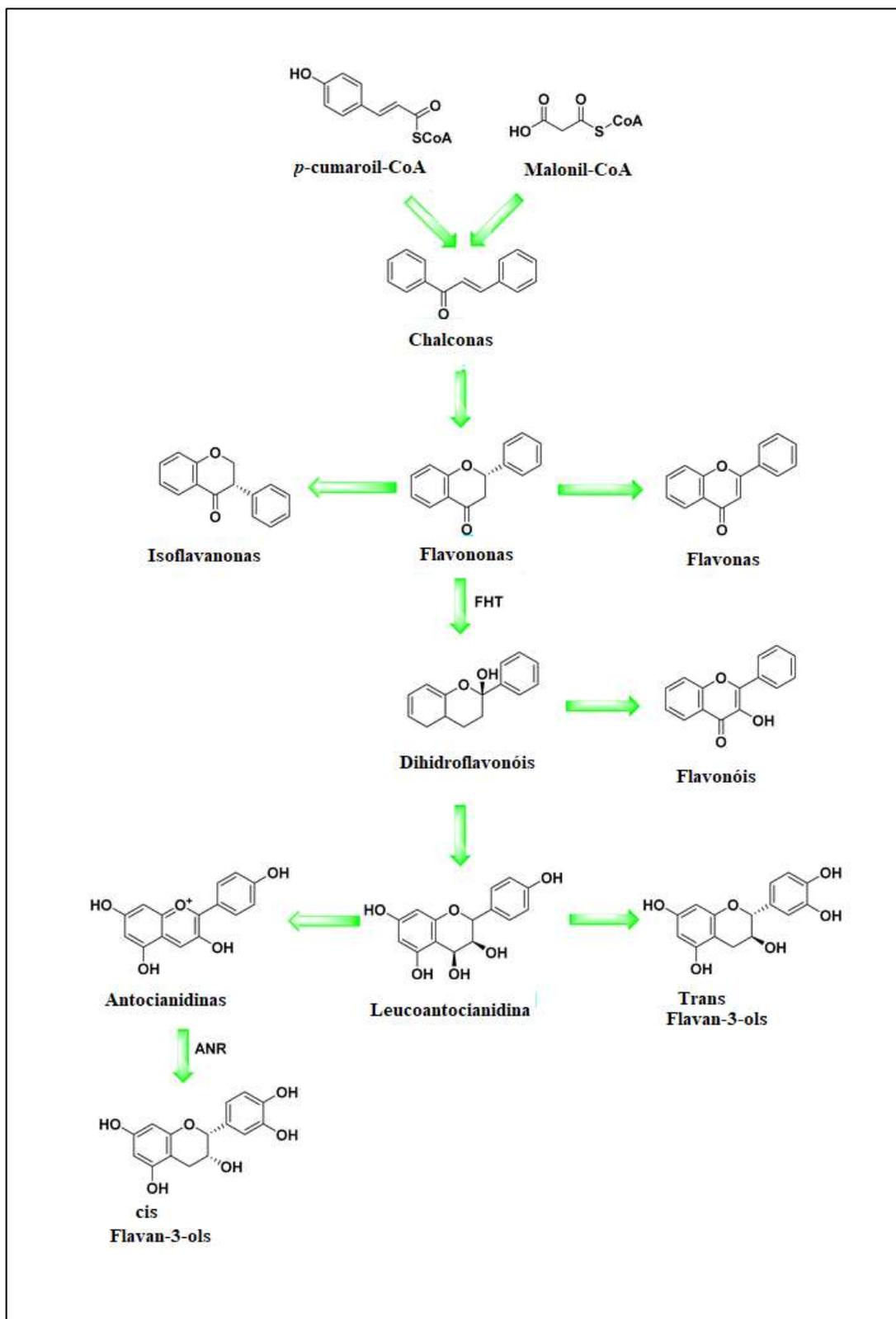
Figura 8- Estrutura básica de um flavonoide



Fonte: A autora

A origem biossintética dos flavonoides ocorre de forma mista, estando relacionada com a via do ácido chiquímico (anel B) e poliketídico (anel A). Uma série de reações enzimáticas ocorre convertendo o aminoácido fenilalanina nos flavonoides. De forma geral, o aminoácido fenilalanina é convertido em ácido cinâmico, que posteriormente é convertido no ácido *p*-cumárico por meio da ação de enzimas específicas. Para a formação do núcleo flavonoide, esse ácido mencionado anteriormente, é convertido em *p*-cumaroil-CoA que é condensado com três moléculas de malonil-CoA, com o objetivo de formar uma chalcona. Subsequentemente, essa molécula sofre um processo de isomerização formando uma flavanona. Por meio desses intermediários centrais, várias etapas enzimáticas, incluindo hidroxilações, desidratações, e rearranjos moleculares, levam à formação dos diferentes tipos de flavonoides. Cabe ressaltar, entretanto, que diferentes fatores, incluindo ambientais, lesões físicas e até mesmo hormônios produzidos podem influenciar na expressão dos genes envolvidos na biossíntese dos flavonoides, ocasionando em variações em diferentes espécies de plantas (Santos *et al.*, 2017; Talapatra, S. B, 2015.). A Figura 9 apresenta um resumo dessas informações.

Figura 9- Esquema simplificado da biossíntese dos flavonoides



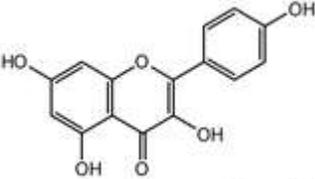
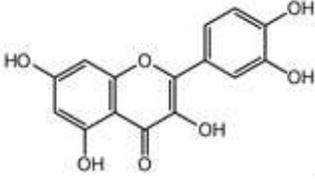
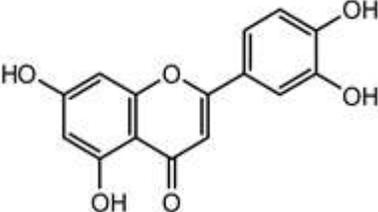
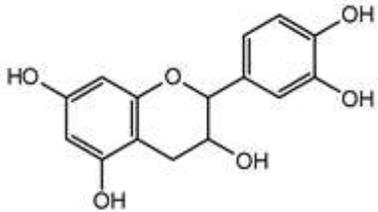
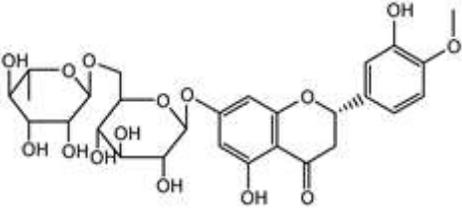
Fonte: Adaptado de Al-Rooqi (2023)

Os flavonoides apresentam subgrupos distintos, em que os principais são: isoflavonas – anel B está ligado na posição 3 do anel C; neoflavonoides- o anel B está ligado na posição 4; e ainda quando o anel B está ligado na posição 2 do anel C, há a possibilidade de formação de diversos compostos tais como: flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanonois, catequinas, antocianinas e chalconas (Panche; Diwan; Chandra, 2016). A Tabela 4 exibe uma classificação geral dos flavonoides.

Na natureza, os flavonoides podem ser encontrados em diversas formas, incluindo a forma livre conhecida como agliconas, bem como derivados glicosilados ou acilados. Além disso, eles também podem se apresentar como estruturas oligoméricas e poliméricas, como por exemplo, os taninos condensados que derivam do flavan-3-ol, conhecidos como proantocianidinas. Os flavonoides exibem uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, estrogênicas, antimicrobianas e antitumorais. Essas atividades têm sido relatadas em estudos científicos e demonstram o potencial terapêutico desses compostos. Para avaliar essas propriedades, diferentes abordagens experimentais podem ser empregadas, permitindo a investigação dos efeitos dos flavonoides em sistemas biológicos relevantes. Essas abordagens podem incluir estudos *in vitro* utilizando culturas de células, ensaios bioquímicos e moleculares, bem como modelos animais e estudos clínicos (Santos-Buelga; Feliciano, 2017).

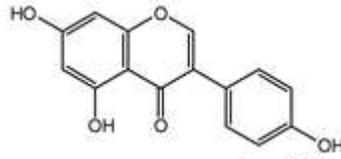
Os flavonoides possuem propriedades que contribuem para características biológicas. Esses compostos podem influenciar uma variedade de enzimas, induzir enzimas, agir como antioxidantes eliminando radicais livres e se ligando a cátions metálicos. Além disso, eles impactam a fosforilação de proteínas celulares (Harborne, 2017). Embora as atividades bioativas possam variar de acordo com a estrutura, a ação antioxidante é uma característica comum a todos os flavonoides. Estudos explicam vários mecanismos pelos quais os flavonoides afetam a capacidade antioxidante celular, principalmente interagindo com espécies reativas de oxigênio (EROS) por meio de grupos fenólicos redutores. Essas interações influenciam a formação e remoção dessas espécies, resultando na prevenção do estresse oxidativo ou no aprimoramento da capacidade metabólica celular para combatê-lo (Speisky, 2022).

Tabela 4 - Classificação dos flavonoides

Substância	Classificação	Estrutura	Exemplo de Uso	Referências
Kaempferol	Flavonol		Antioxidante	Mondal e Rahaman (2020)
Quercetina	Flavonol		Antioxidantes, anti-inflamatórias, antibacterianas, antivirais	Kim e Park (2018)
Luteolina	Flavonas		Antioxidante, Antimicrobiana, Anti-inflamatório Cardioprotetor antidiabético	Taheri <i>et al</i> (2021)
Catequina	Flavanóis		Antioxidante Anticancerígena	Brodowska (2017)
Hesperidina	Flavononas		Anticancerígena	Ullah (2020)

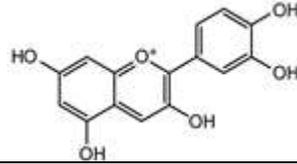
Genisteína

Isoflavonas

Atividade
estrogênicaThangavel *et al* (2019)

Cianidinas

Antocianinas



Dietética

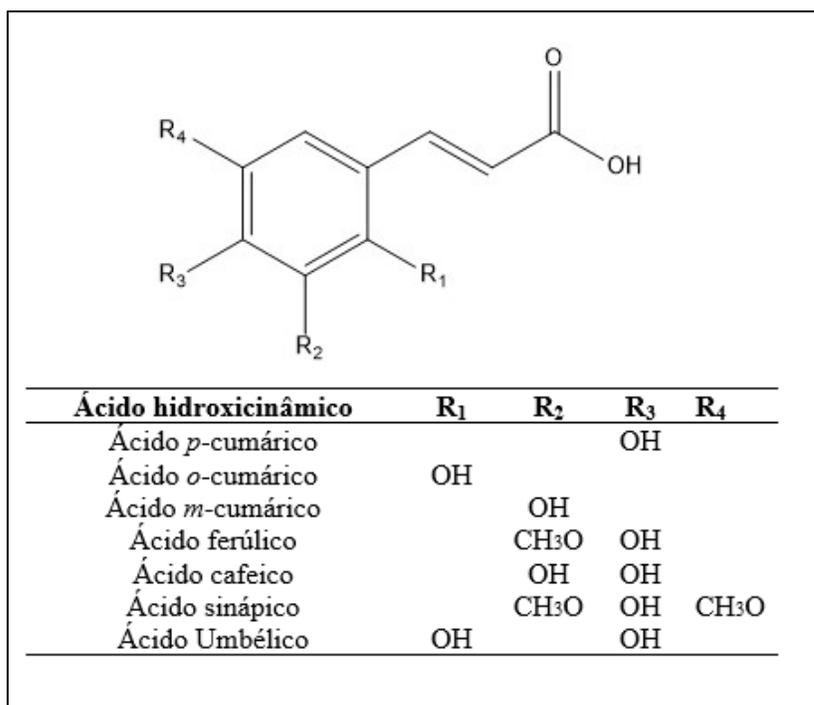
Galvano *et al* (2004)

2.1.2.2 Ácidos fenólicos

Um outro grupo pertencente aos compostos fenólicos são os ácidos fenólicos, que são caracterizados por possuírem em sua estrutura um anel benzênico ligado a um ácido carboxílico. Podem estar presentes nas plantas na forma livre (mais raro) ou ligada, sendo que na forma ligada estão conjugados com outras moléculas como açúcares ou ácidos orgânicos, formando glicosídeos ou ésteres (Lattanzio, 2013).

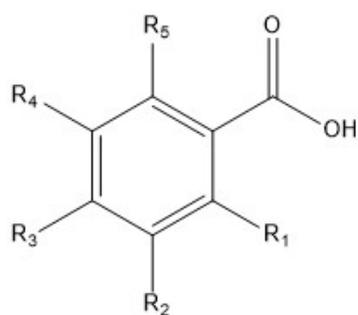
São divididos em dois subgrupos: ácido hidrocinnâmicos (HCA) (Figura 10) e ácido hidroxibenzênicos (HBA) (Figura 11). Os HBA estão presentes em abundância em cereais, oleaginosas, café, feijão, cascas e sementes de abóbora, entre outros. São baseados na estrutura C₆-C₁ e estão inclusos nesse grupo ácido *p*-hidroxibenzoico, protocatecuico, vanílico, gálico e siríngico. Já o HCA é encontrado no café, cerejas, cereais, pêssegos, espinafre, sucos cítricos e frutas, ameixas, tomates, batatas e amêndoas. São compostos aromáticos com uma cadeia lateral de 3 carbonos (C₆-C₃), incluindo ácido cumárico, cafeico, ferúlico e sinápico (Zhang *et al.*, 2022).

Figura 10- A estrutura geral dos ácidos hidrocinnâmicos e os grupos funcionais de anel aromático



Fonte: Adaptado de Valanciene *et al.*, (2020).

Figura 11- A estrutura geral dos ácidos hidroxibenzoico e os grupos funcionais de anel aromático



Ácido hidroxibenzoico	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico			OH		
Ácido <i>m</i> -hidroxibenzoico		OH			
Ácido salicílico	OH				
Ácido vanílico		CH ₃ O	OH		
Ácido isovanílico		OH	CH ₃ O		
Ácido gálico		OH	OH	OH	
Ácido hipogálico	OH	OH			
Ácido protocatecuico		OH	OH		
Ácido gentísico	OH			OH	
Ácido siríngico		CH ₃ O	OH	CH ₃ O	
ácido orselínico	OH		OH		CH ₃

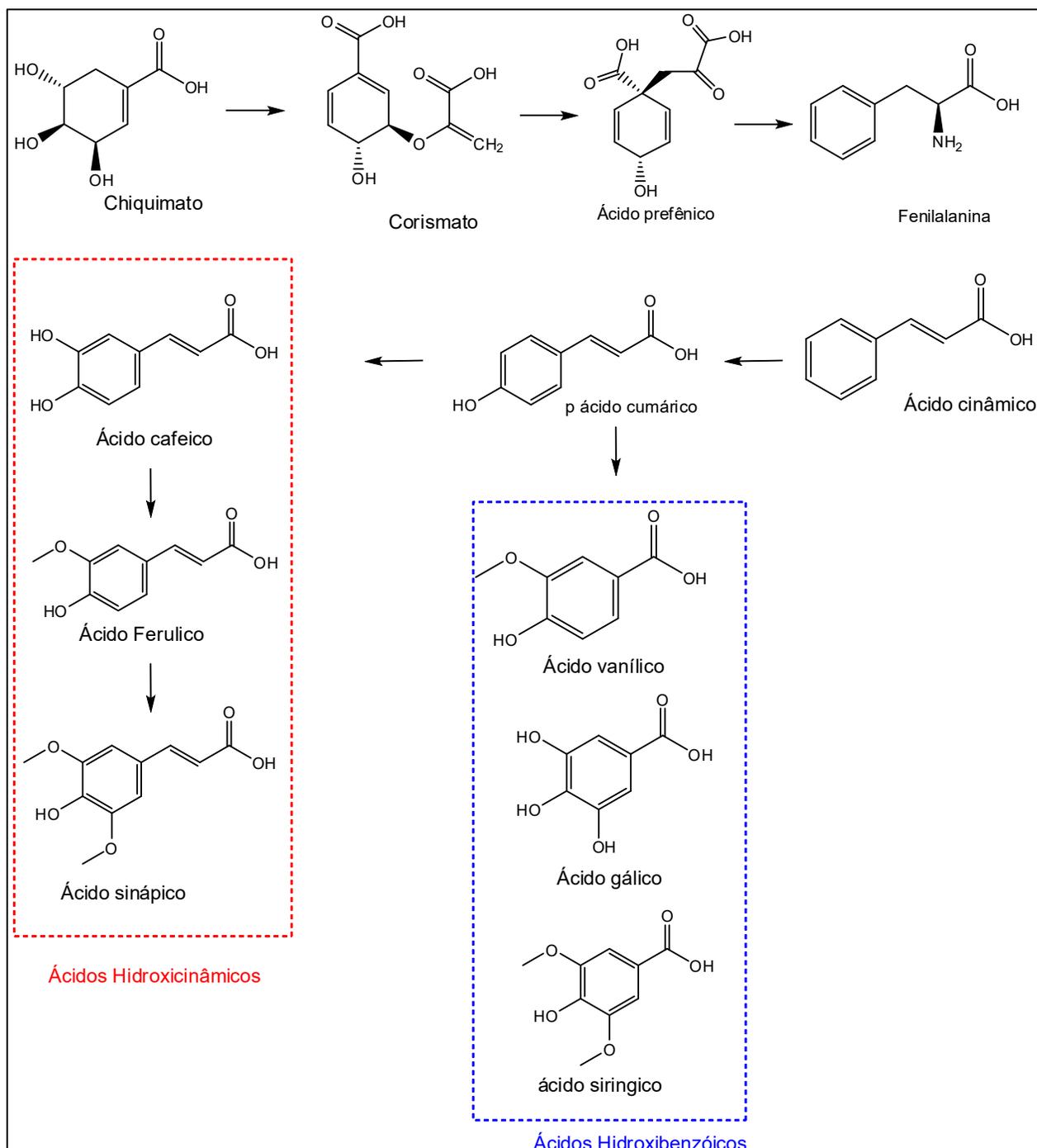
Fonte: Adaptado de Valanciene *et al.* (2020).

Os ácidos fenólicos apresentam efeitos benéficos para a saúde, atuando como antioxidantes, anti-inflamatórios, antimicrobianos, anticancerígenos, além de ser aplicado na indústria de cosméticos e de alimentos. Um interessante uso de ácidos fenólicos reside em sua capacidade de serem metabolizados por microrganismos naturais. Isso significa que eles fornecem uma alternativa importante aos produtos químicos sintéticos que podem ser prejudiciais ao meio ambiente. Ao serem biodegradáveis, os ácidos fenólicos podem ser decompostos por micróbios presentes no solo, na água e em outros ambientes naturais, evitando a acumulação de resíduos tóxicos (Kumar; Goel, 2019; Sova; Saso, 2020).

A origem biossintética dos ácidos fenólicos são oriundas do aminoácido aromático L-fenilalanina, que por sua vez é sintetizado a partir do corismato, o produto final na via do chiquimato. Esse aminoácido é convertido nos ácidos *p*-cumárico, salicílico e *p*-hidroxibenzoico,

que são os precursores para outros derivados de ácidos fenólicos (Robbins, 2003.; Valanciene *et al.*, 2020). Um esquema representando esse processo é mostrado na Figura 12.

Figura 12- Esquema da biossíntese dos ácidos fenólicos



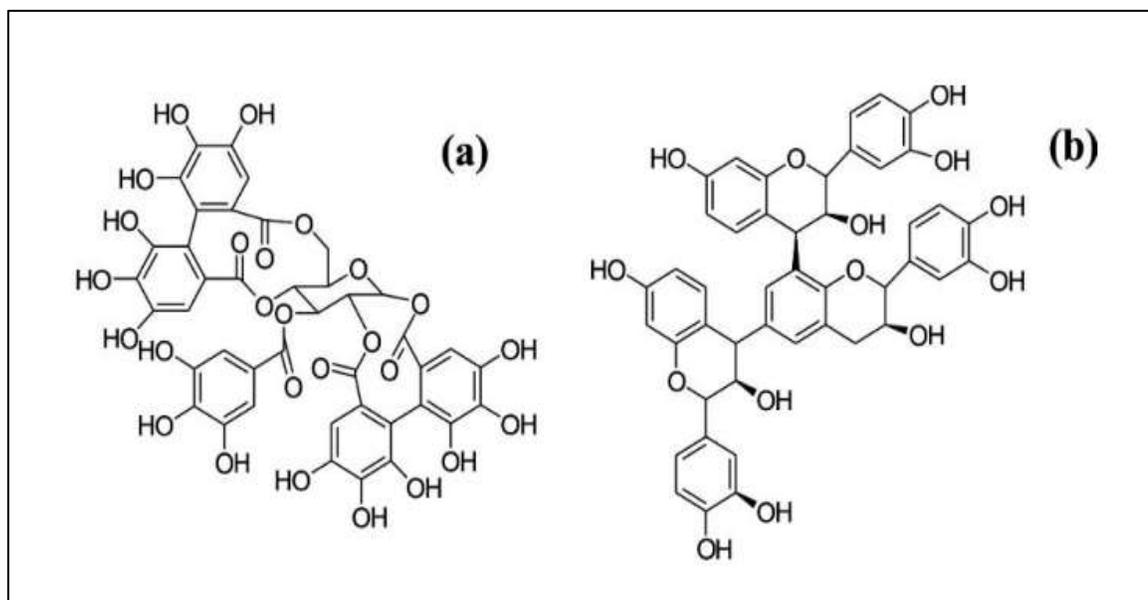
Fonte: Adaptado de Zeb (2021)

2.1.2.3 Taninos

O termo "tanino" está associado ao processo de curtimento utilizado na produção de couro. Essa substância, que posteriormente foi identificada como tanino, era originalmente obtida a partir da casca de carvalho e outras fontes vegetais. Os taninos são uma classe de compostos de alto peso molecular, diversificados e principalmente conhecidos por formarem complexos com proteínas. Podem ser classificados em dois principais grupos: taninos condensados, também conhecidos como proantocianidinas (PACs), e taninos hidrolisáveis (Frutos *et al.*, 2004; Pizzi, 2021) (Figura 13).

Essas substâncias são ésteres galoílicos ou proantocianidinas oligoméricas e poliméricas, produzidas pelo metabolismo secundário das plantas e sintetizadas por vias biogênicas (chiquimato e do acetato). As proantocianidinas são o resultado do metabolismo de policetídeos (malonil-CoA) e fenilpropanoides, enquanto os ácidos gálicos são formados diretamente a partir do chiquimato. Diversas estruturas podem ser formadas dependendo: da ligação interflavonoide, do padrão de hidroxilação, estereoquímica dos carbonos 2, 3, 4 do anel pirano e da presença de substituintes (Combs, 2016; Das *et al.*, 2020; Hemingway; Karchesy, 1989; Julkunen-Tiitto; Haggman, 2009).

Figura 13- Estrutura dos taninos hidrolisáveis (a) e condensados (b)

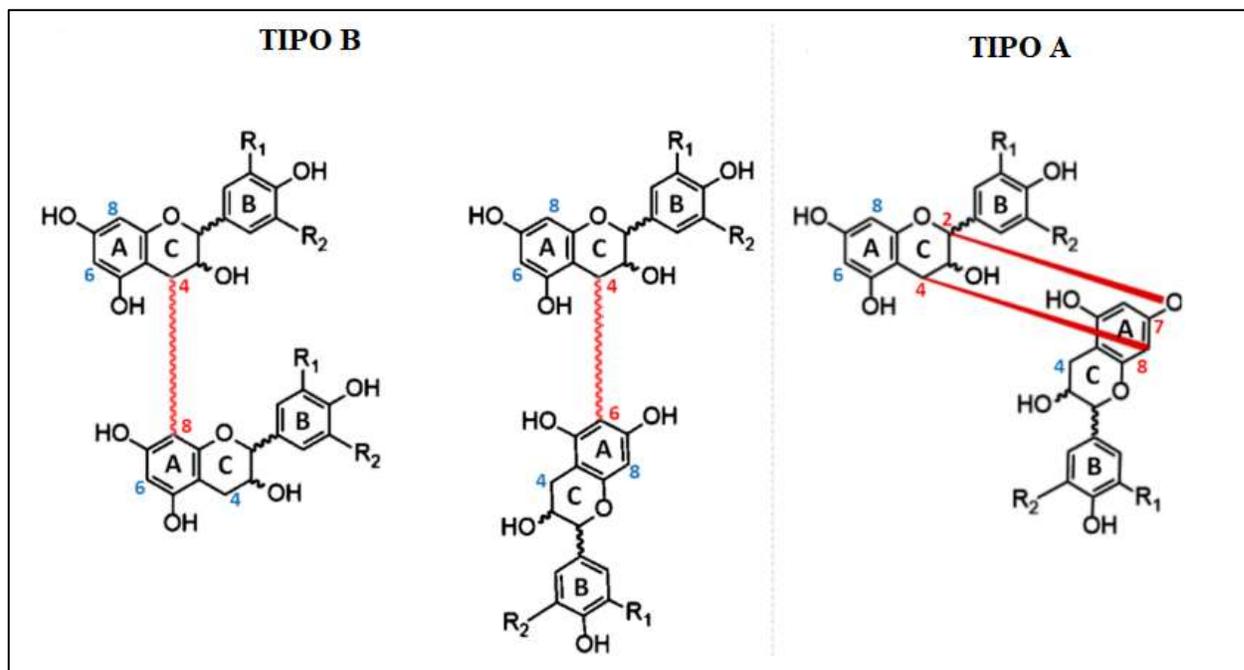


Fonte: Raja *et al.* (2014).

Os taninos hidrolisáveis podem ser classificados com base na forma como são hidrolisados: galatoninos- são compostos polifenólicos que contêm grupos galoílicos ou derivados semelhantes, que estão ligados a outras moléculas como polióis, catequinas ou triterpenoides; elagitaninos - referem-se a pelo menos dois grupos galólicos C-C conjugados entre si e catequinas conjugadas sem glicosídeo; Taninos complexos: essa classe de taninos hidrolisáveis é composta por uma combinação de unidades de ácido gálico, ácido elágico e outros compostos fenólicos, ligados a açúcares (Tong *et al.*, 2022).

As PACs podem ser classificadas conforme a forma de ligação das suas unidades estruturais, sendo que o tipo A que possui um éter adicionado por meio de uma ligação C2-O-C7 ou ainda C2-O-C5; tipo B onde as subunidades monoméricas são ligadas por meio de ligações entre o C4 com o C6 ou C8 da outra unidade, a Figura 14 ilustra esse processo (Choy; Waterhouse, 2014.; Pereira; Nascimento, 2014).

Figura 14-Tipos de proantocianidinas



Fonte: Mannino (2021)

Os taninos são compostos versáteis que oferecem uma ampla gama de aplicações. Eles possuem atividade antimicrobiana, propriedades adstringentes e efeitos anti-inflamatórios, tornando-os úteis em tratamentos para diversas condições. Além disso, eles possuem algumas

propriedades práticas podendo ser utilizado na indústria de alimentos como clareamento de bebidas, suplementos alimentares, antioxidantes, etc. Na indústria da construção, os taninos são empregados como adesivos eficazes para madeira, proporcionando uma união resistente e durável. Eles também são utilizados como agentes anticorrosão para metais, protegendo-os contra danos causados pela oxidação. Os taninos encontram aplicação no tratamento de águas como floculantes naturais, ajudando na remoção de impurezas e poluentes presentes na água residual. Outras indústrias, como a de couro e têxtil, também se beneficiam dos taninos. Na indústria do couro, os taninos são usados no processo de curtimento, transformando peles em couro durável e resistente. Na indústria têxtil, os taninos são empregados como mordentes naturais para fixar corantes e melhorar a durabilidade das cores nos tecidos. Essas são apenas algumas das muitas aplicações dos taninos. Sua versatilidade e propriedades únicas permitem seu uso em uma ampla variedade de setores, proporcionando benefícios funcionais, estéticos e terapêuticos (Das *et al.*, 2020; Khanbabaee; Van Ree, 2001; Pizzi, 2019).

2.2 ATIVIDADE BIOLÓGICA

2.2.1 Atividade antifúngica

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define atividade biológica como a capacidade do produto de obter um efeito biológico determinado (Anvisa, 2010). Atualmente existe uma variedade de atividades biológicas como antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, antiviral, antitumoral, anti-cardioprotetora, antialérgica, antiparasitária, inseticida, herbicida, antidiabética, entre outras. As diversas propriedades presentes nos extratos vegetais, como a composição e as estruturas dos compostos existentes, podem interferir na atividade biológica das plantas (Araújo, 2011). Por isso, é importante que haja uma seleção de ensaio biológico para a detecção do efeito específico do extrato vegetal (Maciel *et al.*, 2002).

Alguns estudos vêm sendo realizados acerca de produtos naturais com capacidade de possuir menos toxicidade e eficazes no combate a resistência de microrganismos patogênicos (Bona *et al.*, 2014). A atividade antimicrobiana pode ter sua ação potencializada, reduzida ou até mesmo perdida, pela interação com os extratos, por isso a necessidade de avaliação (Eller *et al.*, 2015).

Os fungos são um grupo grande, diverso e amplamente disseminado de organismos que desempenham um papel fundamental na natureza. Eles abrangem uma variedade de organismos, incluindo bolores, cogumelos e leveduras. Alguns fungos têm a capacidade de causar uma variedade de doenças em animais, incluindo os seres humanos. Essas infecções fúngicas podem afetar diferentes partes do corpo, como a pele, unhas, pulmões, trato gastrointestinal e sistema nervoso. Dependendo da espécie do fungo e do estado de saúde do hospedeiro, as infecções fúngicas podem variar de leves a graves, requerendo tratamento adequado (Madigan *et al.*, 2016; Tortora; Funke; case, 2012).

As infecções fúngicas estão se tornando uma preocupação cada vez mais urgente, demandando uma resposta rápida antes que a situação se agrave. A falta de opções terapêuticas eficazes e seguras contribui para o aumento da morbidade e mortalidade associadas às infecções fúngicas invasivas. Nesse contexto, a atividade antifúngica desempenha um papel crucial na pesquisa e desenvolvimento de novos tratamentos e medicamentos antifúngicos (Bouz; Dolezal, 2021).

Frequentemente para a análise de atividade antifúngica utilizam-se espécies do gênero *Cândida*, uma vez que é um patógeno oportunista comumente associado a infecções fúngicas em humanos. Além disso, a *Cândida* é um dos gêneros de fungos mais amplamente estudados em termos de patogenicidade, resistência a medicamentos e resposta a tratamentos antifúngicos, também é composto por várias espécies com características e sensibilidades diferentes a agentes antifúngicos. Testar extratos contra diferentes espécies permite uma avaliação mais abrangente da atividade antifúngica e ajuda a identificar possíveis diferenças nas respostas aos tratamentos (Bomfim, 2018; Lemos *et al.*, 2020).

Para a determinação da susceptibilidade de organismos antimicrobianos e diagnósticos que corroborem resistência, são utilizadas concentrações inibitórias mínimas (CIM, do inglês Minimal Inhibitory concentration- MIC), que é a dose mínima de um antimicrobiano necessário para se inibir o crescimento de microrganismos (Andrews, 2001). São vários os testes que analisam a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos entre eles têm-se o método de difusão em ágar, macrodiluição e microdiluição (Ostrosky *et al.*, 2008).

2.2.2 Atividade antioxidante

O estresse oxidativo é uma condição resultante de um desequilíbrio entre a produção e o acúmulo de EROs nas células e tecidos, e a capacidade do sistema biológico de neutralizar esses produtos reativos. As EROs desempenham vários papéis fisiológicos, como a sinalização celular, e são normalmente geradas como subprodutos do metabolismo do oxigênio. No entanto, estressores ambientais, como a radiação ultravioleta, radiações ionizantes, poluentes e metais pesados, bem como substâncias estranhas ao organismo, como certos medicamentos, podem aumentar significativamente a produção de EROs, resultando em um desequilíbrio que leva ao dano nas células e tecidos, conhecido como estresse oxidativo (Pizzino *et al.*, 2017). O controle dos processos de estresse oxidativo pode ser fundamental tanto na prevenção quanto no tratamento de diversas doenças, incluindo diabetes, aterosclerose, doença arterial coronariana, câncer, inflamação, doenças hepáticas, doenças cardiovasculares, cataratas, nefrotoxicidade e os processos neurodegenerativos associados ao envelhecimento (Flieger *et al.*, 2021).

As EROs são moléculas que contêm oxigênio e incluem radicais (como o ânion superóxido) e não radicais (como o H_2O_2), que apresentam diferentes capacidades químicas, como difusão nas células vivas e reatividade química com biomoléculas. Exemplos de EROs incluem oxigênio singleto (1O_2), superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila ($\cdot OH$) (KOTHA *et al.*, 2022). As principais fontes de produção endógena de espécies EROS são as mitocôndrias, membrana plasmática, retículo endoplasmático e peroxissomas. Essas estruturas celulares desempenham um papel fundamental na geração de EROs por meio de uma variedade de mecanismos. Entre esses mecanismos, estão reações enzimáticas e/ou auto oxidação de diversos compostos, como catecolaminas e hidroquinonas (Ayala; Munoz; Arguelles, 2014). A Tabela 5 abaixo apresenta espécies reativas de oxigênio.

Tabela 5- Espécies reativas de oxigênio

Espécies reativas	Símbolo	Reatividade
Superóxido	O_2^{\cdot}	Gerado nas mitocôndrias, no sistema cardiovascular e outros.
Radical Hidroxila	$\cdot OH$	Altamente reativo, gerado durante sobrecarga de ferro e condições semelhantes no nosso corpo.
Peróxido de hidrogênio	H_2O_2	Gerado em nosso corpo por meio de uma grande quantidade de reações.
Radical peroxil	ROO^{\cdot}	Reativo e formado a partir de lipídios, proteínas, DNA, açúcares, etc., durante danos oxidativos.
Hidróxido orgânico	$ROOH$	Reativo com íons metálicos transitórios para produzir espécies reativa;
Oxigênio Singleto	1O_2	Altamente reativo, formado durante a fotossensibilização e reações químicas.
Ozônio	O_3	Presente como um poluente atmosférico, pode reagir com diversas moléculas.

Fonte: Rasheed e Azeez (2019).

Os radicais livres têm a capacidade de causar danos nas cadeias de ácidos graxos poliinsaturados encontrados nas membranas celulares. Eles começam esse processo ao remover um hidrogênio de grupos específicos nas moléculas, desencadeando a peroxidação lipídica. Isso resulta na formação de radicais de carbono que podem reagir com o oxigênio, formando radicais peroxila. Esses radicais peroxila, por sua vez, podem atacar outras cadeias de ácidos graxos poliinsaturados, continuando o processo de oxidação. É esse processo que leva à oxidação de várias moléculas de ácidos graxos (Sousa *et al.*, 2007).

Os antioxidantes desempenham um papel crucial no controle da superprodução de espécies EROs e na prevenção de danos oxidativos, sendo uma ferramenta poderosa nesse processo (Aranda-Rivera *et al.*, 2022). Os antioxidantes são moléculas que têm a capacidade de se oxidar antes ou em substituição a outras moléculas. Eles atuam como compostos ou sistemas que interagem com os radicais livres, evitando que ocorram reações em cadeia que possam prejudicar moléculas vitais. Existem antioxidantes sintéticos, como o BHA, BHT e galato de propila, além dos antioxidantes naturais. No entanto, pesquisas indicam que o consumo excessivo desses antioxidantes sintéticos pode apresentar riscos para a saúde (Hoang; Moon; Lee *et al.*, 2021). Entre os antioxidantes naturais, destacam-se o ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), carotenoides e polifenóis, presentes em frutas, legumes, bebidas, cereais e outros alimentos comumente consumidos (Lourenço; Moldão-Martins; Alves, 2019).

As plantas são fontes ricas de uma variedade de moléculas com propriedades eliminadoras de radicais livres. Um exemplo bem conhecido é o chá verde, cujas folhas possuem concentrações elevadas de polifenóis que atuam como antioxidantes, ajudando a reduzir e controlar os radicais livres. Estudos realizados em diversas plantas e ervas medicinais mostraram que algumas delas possuem uma atividade antioxidante ainda mais poderosa e contêm quantidades significativamente maiores de ácidos fenólicos em comparação com vegetais e frutas comuns (Shebis *et al.*, 2013).

2.3 *Pleroma granulatum*: CARACTERÍSTICA DA FAMÍLIA E DO GÊNERO

A Melastomataceae, da qual a espécie *Pleroma granulatum* (Desr.) D. Don [sin.: *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn.] pertence, é uma importante família pantropical que possui cerca de 4200-4500 espécies com 166 gêneros, podendo ser encontrada no Brasil como ervas, arbustos, árvores de grande ou médio porte ao longo de estradas, taludes e vegetação secundária (Renner, 1993; Renner, 1983). No Brasil, é considerada uma das maiores famílias de Angiospermas, ocupando a sexta posição, possuindo no país 68 gêneros e mais de 1500 espécies, localizada desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul. As plantas dessa família são reconhecidas por dispor de folhas descussadas com nervação acródroma, e estames em forma de foice (Romero, Martins, 2002).

De acordo com a taxonomia, existe uma classificação dos seres vivos e o reino vegetal pode ser dividido em algumas categorias, sendo que depois da categoria Família, tem-se as tribos para posteriormente classificar a planta em gêneros. A família Melastomataceae, segundo Renner (1993) é formada por oito tribos, sendo estas: Astronieae, Sonerileae, Merianieae, Rhexieae, Microlicieae, Melastomeae, Miconieae e Blakeeae. O gênero *Pleroma* pertencente a tribo Melastomeae, e apresenta mais de 160 espécies, e até recentemente foi considerado como um sinônimo da *Tibouchina*, no entanto alguns estudos vem relatando que espécies da *Tibouchina* encontradas no leste do Brasil, devem ser reconhecidas como dois gêneros distintos a *Pleroma* e a *Chaetogastra* (Guimarães; Silva, 2015). Porém, a reintegração de espécies de *Tibouchina* para a *Pleroma* ainda está em andamento, mas sabe-se que que isso ocorreu por conta das diferenças de morfologia, e das características geográficas (Fraga; Guimarães, 2014; Guimarães *et al.*, 2019; Michelangeli *et al.*, 2013).

A palavra *Pleroma* vem do grego *pleroun* que possui um significado de preencher-se completamente, e *granulosum* vem do latim *granulum* que possui alusão de desenvolvimento notável devido a superfície das folhas. Possui como nome popular flor de quaresmeira ou quaresmeira, e é uma árvore de pequeno porte, bastante utilizada na ornamentação devido suas flores roxas, suporta climas tropicais e subtropicais e suas folhas são cobertas de pelos escamosos de textura coriácea e de cor verde (Cáceres, 2020; Soares *et al.*, 2019). Uma imagem da *Pleroma granulosum* é mostrada na Figura 15.

Figura 15- Fotografia da espécie *Pleroma granulosum*



Fonte: A autora

Em um levantamento realizado por Cruz e Kaphan (2012) acerca do uso medicinal da família Melastomataceae no Brasil, foi constatado que essa família apresenta maior uso ornamental, embora algumas espécies têm sido relatadas em tratamentos tópicos, como as espécies do gênero *Tibouchina*, que ganha destaque por ser utilizada no alívio de dores. A *Clidemia hirta*, conhecida como pixirica, é usada popularmente para o tratamento paliativo, inflamações bucais, cicatrização e distúrbios gastrointestinais (Oliveira *et al.*, 2020). A infusão de folhas da *Aciotis cf. aequatorialis* Cogn foram citadas por Odonne e colaboradores (2013) para aliviar dores de cabeça

e no estômago. Outro uso popular relatado por essa família, é pela *Miconia albicans*, conhecida como canela-de-velho, que é uma das espécies mais populares, sendo usada para o tratamento de dor de garganta, febre, artrite, e artrose, por meio de chá e também na forma de banho e unguento para massagem (Lopes, 2022; Silva *et al.*, 2022). Quanto ao uso popular e medicinal de plantas de espécie *Pleroma granulosum*, até a presente data não foi encontrado estudos que comprove o uso de partes da planta como forma de tratamento para alguma doença.

Análises biológicas realizadas com plantas da família Melastomataceae mostram que é uma fonte promissora na busca de novos princípios ativo para uso medicinal. Estudos realizados com a *Miconia albicans* demonstram que seus extratos apresentam atividade biológicas como antioxidantes e anti-inflamatória, em que seu extrato seco apresentou na análise de DPPH IC_{50} 33,86 $\mu\text{g/mL}$, além disso, através da injeção de carrageanina em patas de camundongos ocorreu uma redução nos níveis de TNF- α (Fator de necrose tumoral alfa) e IL-1 β (Interleucina 1-beta) (marcadores inflamatórios) e consequentemente a diminuição significativamente do edema na pata (Lima *et al.*, 2020). Outras atividades biológicas reportadas para espécies de Melastomataceae: o extrato das folhas *Dissotis perkinsiae* apresentou uma ótima atividade antibacteriana contra *Escherichia coli* (MIC 0,08 mg/mL) e *Staphylococcus aureus* (MIC 0,08 mg/mL) (Ndjateu, 2014); as infusões de folhas da *P. granulosa* (reportada no trabalho como *Tibouchina granulosa*) apresentou um efeito anti-inflamatório quando injetadas por via oral em camundongos (Sobrinho *et al.*, 2017); o extrato metanólico da *Marcetia taxifolia* apresentou uma significativa ação contra os microrganismos *Pseudomonas aeruginosa* (Halo de inibição: 8,20 mm) e *Salmonella cholerasius* (Halo de inibição: 12,92 mm) (Leite, 2009); *Bellucia dichotoma Cogn.* apresentou através do seu extrato aquoso cerca de 70% de inibição de edema induzido pela *Atox bothrops* (cobra) (Moura *et al.*, 2017), entre outros.

Acerca da composição química, alguns constituintes já foram descritos para plantas dessa família como: presença do flavonoide quercetina e do triterpeno esqualeno na *Marcetia macrophylla* (Oliveira, 2012), presença dos triterpenos ácido ursólico e ácido oleanólico na *Miconia ferruginata* (Cunha *et al.*, 2017); presença do ácido fenólico e ácido elágico na *Dissotis perkinsiae* (Ndjateu, 2013); presença de glicosídeos à base de prunasina e taninos hidrolisáveis (galotaninos e lagitaninos) na *Phyllagathis rotundifolia*(Jack) Bl (Tan; Lin; Chuah, 2011); taninos hidrolisáveis oligoméricos no extrato aquoso de acetona das folhas secas de *Monochaetum*

multiflorum (Isaza, Ito, Yoshida, 2004); presença de antocianinas malvidina, cianidina, peonidina e delphinidina nas flores de *Osbeckia* (Lawarence; Murugan, 2017).

Diante desse contexto, é necessário o estudo de outras atividades relacionadas a esta planta, já que é uma espécie amplamente distribuída no país e de fácil acesso. Alguns estudos químicos e biológicos têm sido relatados referentes ao gênero *Pleroma*, esses dados estão resumidos na Tabela 6. A Figura 16 mostra as estruturas dos compostos indicados na Tabela 6.

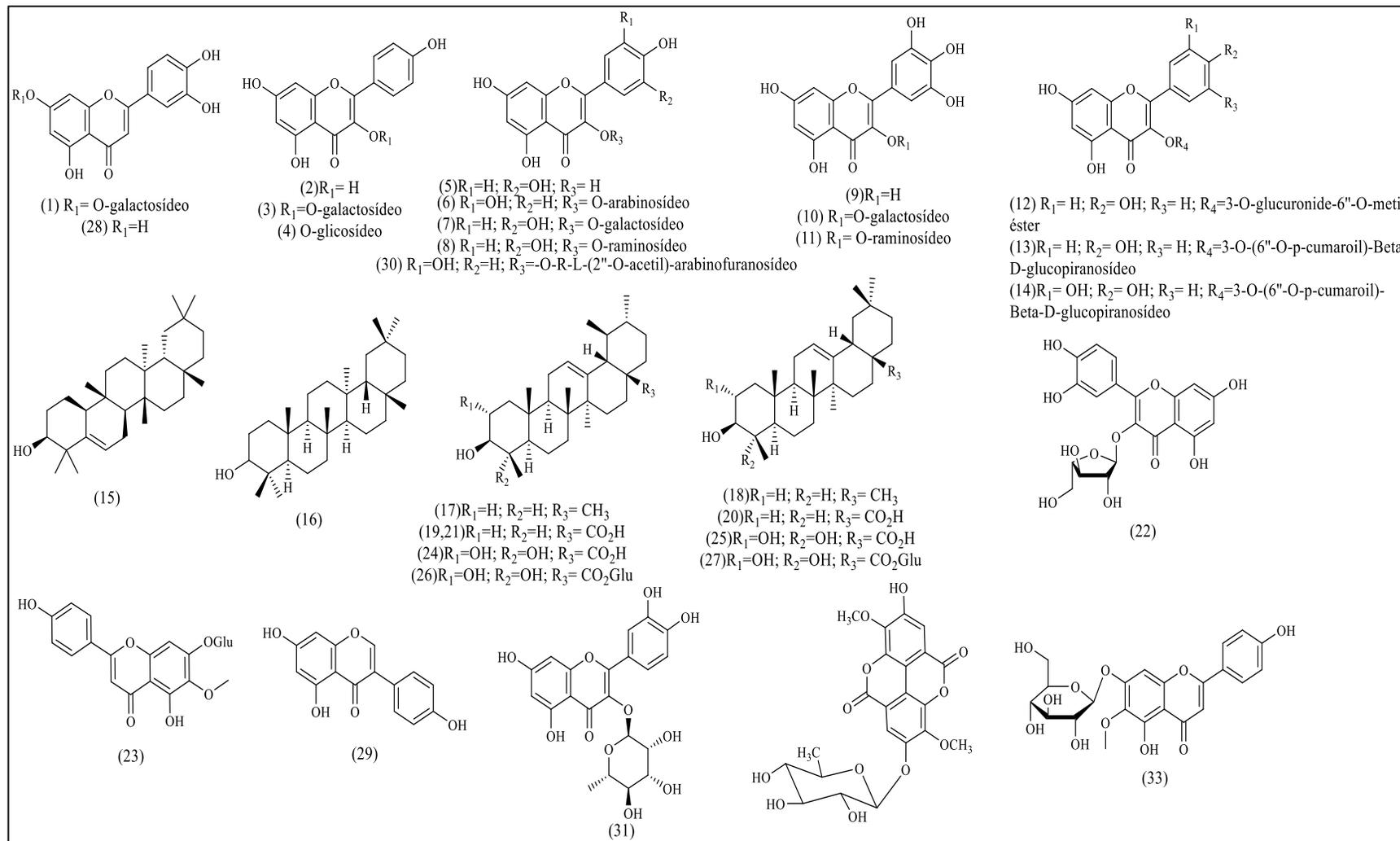
Tabela 6 - Compostos identificados de gênero *Pleroma*.

Espécie	Parte da Planta	Compostos Isolados	Atividade biológica	Referências
<i>P.raddianum</i>	Tecidos foliares, folhas e galhas	Luteolina-7- <i>O</i> -galactosídeo (1) Canferol (2) Derivados de canferol glicosilados (3) e (4) Quercetina (5) Derivados de quercetina (6) (7) (8) Miricetina (9) Derivados de miricetina (10) e (11)	-	(MOTTA <i>et al.</i> , 2005) (REZENDE <i>et al.</i> , 2019)
	Flores	Canferol 3- <i>O</i> -glucuronide-6"- <i>O</i> -metil éster" (12) Canferol e Quercetina 3- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> - <i>p</i> -cumaroil)- β - <i>D</i> -glucopiranosídeo (13) e (14)	-	
<i>P.urvilleanum</i>	Folhas e Caules	Glutinol (15) Taraxerol (16) Mistura de α - e β -amirinas (17,18) Mistura de ácido ursólico e oleanólico (19,20) β -sitosterol (21) Avicularina (22) hispidulina 7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (23) Mistura de ácidos asiático e arjunólico (24,25) Mistura de Quadranosídeo IV e arjunglicosídeo II (26, 27)	Resposta anti-inflamatória não significativa e pouca atividade citotoxicidade	(CASTORENA, 2014)
<i>P.candolleianum</i>	Partes aéreas	Ácido ursólico (19)	Antimicrobiana	(SANTOS <i>et al.</i> , 2012)
		Ácido oleanólico (18)	-	
		Luteolina (28)	-	
		Genisteína (29)	-	

<i>P.semidecandrum</i>	Folhas	Quercetina (5) Quercetina 3-O-R-L-(2''-O-acetil) - arabinofuranosídeo (30) Avicularina (22) Quercitrina (31) 3,3-O-Dimetil ácido elágico 4-O- α -L- ramnopiranosídeo (32)	Antioxidante e antitirosinase Antioxidante Antioxidante Antioxidante	(SIRAT, REZALI,UJANG, 2010)
<i>P.granulosum</i>	Folhas	Hispidulina 7-O-D-Glicosídeo (33)	Anti-inflamatório	(GUILHON <i>et al.</i> , 2022).

Nota: Esses compostos foram relatados com *Tibouchina* no artigo original, mas sabe-se atualmente que houve uma alteração na classificação de espécies *Tibouchina* para *Pleroma*.

Figura 16- Estruturas dos compostos identificados para o gênero *Pleroma*



3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo geral investigar a composição química das folhas da espécie *Pleroma granulosum*, através dos extratos vegetais e do seu óleo essencial.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar o extrato hexânico e etanólico por maceração de folhas coletadas e identificadas da *Pleroma granulosum*;
- Preparar do óleo essencial das folhas;
- Realizar a prospecção fitoquímica dos extratos;
- Avaliar a atividade antifúngica dos extratos e do óleo essencial das folhas frente espécie de *Candida* pelo método da microdiluição em caldo;
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos pelo método DPPH, ABTS e FRAP;
- Identificar a composição química do extrato etanólico por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas com ionização por electrospray (CLAE-IES-EM);
- Identificar os constituintes voláteis do óleo essencial da folha por Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM);

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O desenvolvimento das análises químicas das amostras e a sua preparação foram realizadas no laboratório de Química Orgânica do Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, localizado na zona rural do Município de Morrinhos- Goiás e no Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais (NuPPeN) do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) localizado em Minas Gerais.

4.1 REAGENTES E SOLVENTES

- Solventes para a extração: Hexano e Etanol destilados;
- Reveladores: Marca Sigma- ácido acético glacial, ácido sulfúrico; Marca Vetec- polietilenoglicol-4000 (PEG-4000), cloreto de alumínio, vanilina; Marca Isofar- nitrato de bismuto; Marca Aldrich- difenilboriloxietilamina (NP) Marca Synth-Ácido sulfúrico, Anidrido Acético; Marca Chemicals – Iodeto de potássio.
- Prospecção fitoquímica: Marca Isofar- Acetato de etila; Marca Synth- Metanol; Marca Vetec- Ácido fórmico; Marca Isofar -Etanol absoluto, Marca Isofar -hidróxido de potássio.
- Análise de teor de fenóis totais: Marca Vetec- Ácido gálico e Carbonato de Sódio; Metanol; Marca Dinâmica- Folin Ciocalteau;
- Análise DPPH: Marca Sigma Aldrich- 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) e metanol;
- Análise ABTS: Marca Sigma Aldrich - ABTS e Trolox; Persulfato de potássio;
- Análise FRAP: Marca Alphatec- Ácido clorídrico; Sigma Aldrich- 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ); Marca Vetec- Cloreto férrico hexahidratado; Marca Synth- Ácido acético glacial; Marca Sigma Aldrich – Trolox;
- Extração do óleo essencial: Marca êxodo científica- Diclorometano; Marca Alphatec- Carbonato de sódio;
- Análise antifúngica: DMSO, MOPS.
- Solventes para cromatografia gasosa: politetrafluoroetileno, água acidificada, ácido fórmico.

4.2 INSTRUMENTAÇÃO

- Balança analítica SHIMADZU modelo AUW220D;
- Balança analítica WEBLABORSP;
- Banho de aquecimento FISATOM modelo 550;
- Banho Ultratermostático SL 152 marca SOLAB;
- CG-EM Perkin Elmer, modelo GCCLarus680/EMCLarusSQ8S
- Estufa bacteriológica SL-101 marca SOLAB;
- Estufa marca Lucadema;
- Espectrofotômetro Thermo Scientific modelo Genesys 10S UV-Vis;
- Lavadora ultra-sônica modelo USC 750 – Unique;

- Liofilizador TERRONI modelo LS3000;
- Manta aquecedora modelo Heating Mantles;
- Rotaevaporador IKA modelo RV 10;
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Agilent, modelo Infinity 1260, acoplado a um Espectrômetro de Massas de alta resolução tipo Quadropole (Time of Flight) Q_TOF da marca Agilent, modelo 6520 B, com fonte de ionização por electrospray

4.3 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

A coleta do material vegetal foi realizada no município de Morrinhos, localizado na região sul de Goiás (17°44'34.0"S 49°07'51.5"W). A planta foi identificada pela bióloga Thaynara Martins de Oliveira e sua exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Federal de Uberlândia (HUFU), com o seguinte número de registro 82055. Para acesso ao material vegetal, foi realizado o cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), gerando o número A394760.

4.4 ÓLEO ESSENCIAL

4.4.1 Extração do óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada cinco vezes em dias diferentes utilizando um aparelho Clevenger (representado na Figura 17), por hidrodestilação, sob refluxo de 4 horas. Foram coletadas um total de aproximadamente 2,6 kg de folhas frescas entre os meses de outubro a dezembro. Após a coleta, as folhas foram trituradas com 2 L de água destilada em um balão de fundo redondo com capacidade de 3 L. Ao término da extração o óleo foi recolhido em um funil de separação e lavado com diclorometano. Em seguida, foram secos com sulfato de sódio anidro e armazenado em frascos de vidro, vedados e conservados em ambiente refrigerado na ausência de luz. O solvente foi removido por evaporação a temperatura ambiente.

Para avaliar o rendimento da extração, foi empregado a seguinte equação:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{massa de óleo obtida (g)} \times 100}{\text{Material vegetal de partida}} \quad (\text{Equação 01})$$

Figura 17- Hidrodestilação em aparelho Clevenger



Fonte: a autora

4.4.2 Análise do óleo essencial por CG-EM

A análise dos constituintes voláteis do óleo essencial foi realizada adaptada pelo método do Adams (2007) através de um cromatógrafo a gás acoplado à espectrômetro de massas (CG-EM) da marca Perkin Elmer, modelo Clarus 680-Perkin Elmer, acoplado a um espectrômetro de massas SQ8S, injetor Split (1/20) e coluna capilar Elite 5MS (30m x 0,25mm x 0,25 μm). O gás carreador foi o hélio a fluxo constante de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, com temperaturas do injetor a 220°C . Após a injeção de $2\mu\text{L}$ (dilui-se $5 \mu\text{L}$ de óleo para $1,5 \text{ mL}$ de diclorometano) a temperatura inicial do forno foi mantida a 60°C , seguida de um aumento de 3°C por minuto, até atingir 246°C por 20 minutos, seguida de um aumento até 270°C (limpar a coluna) permanecendo assim por 2 minutos. As temperaturas da fonte de íons EI^+ e da linha de transferência do MS foram de 220°C . A faixa de varredura de m/z foi de 50 a 450, no modo MS Scan.

4.4.3 Identificação dos componentes do óleo essencial

A identificação dos componentes do óleo essencial foi realizada, a partir da fragmentação das suas massas, por comparação dos espectros de massa dos compostos aos espectros das bibliotecas de referência Adams e NIST (Adams, 2007; Nist/Epa/Nih Mass Spectral Database, 0 2014). Além disso, calculou-se um parâmetro denominado de Índice aritmético (IA) de retenção relativo à série de alcanos C₈-C₄₀ e posteriormente esse IA calculado foi comparado com a NIST-livro de Química na Web. O índice aritmético relaciona o tempo de retenção dos compostos das amostras com os dos alcanos. O tempo de retenção de um componente da amostra é obtido através da interpolação do tempo de retenção do componente com o de dois padrões eluído antes e depois do pico do componente da amostra (Inczédy; Lengyel; Ure,1998). Então, o IA pode ser calculado através da equação estabelecida por Van Den Dool e Kratz (1962):

$$IA = 100C(P_Z) + 100 \left[\left(\frac{T_R(x) - T_R(P_Z)}{T_R(P_{Z+1}) - T_R(P_Z)} \right) \right] \quad (\text{Equação 02})$$

Onde: T_R é o tempo de retenção, C é o número de carbonos; T_R(P_Z) é o tempo de retenção do alcano anterior; T_R(P_{Z+1}) é o tempo de retenção do alcano posterior ao tempo de retenção do composto analisado.

Calculou-se o IA para todos os compostos presentes no cromatograma do óleo essencial da amostra analisada.

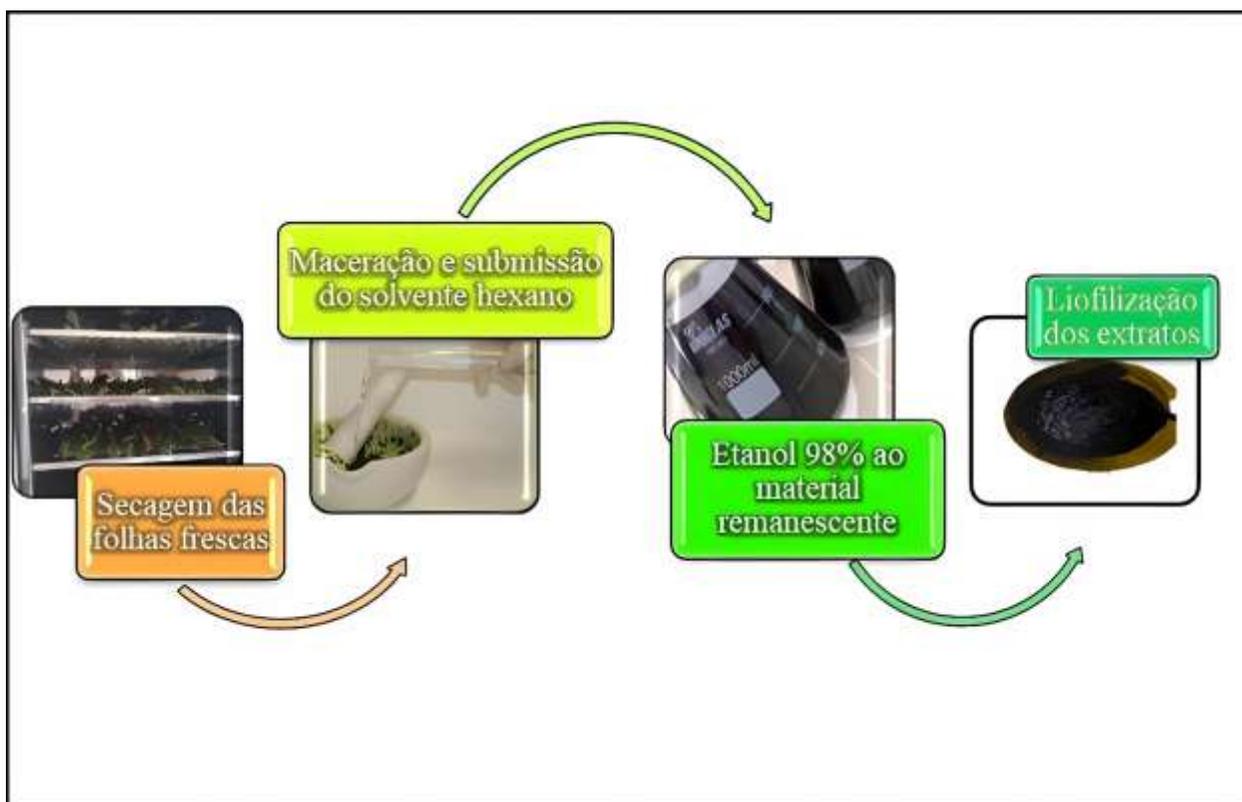
4.5 EXTRATOS DAS FOLHAS

4.5.1 Preparo dos extratos por maceração

Após a coleta, as folhas foram levadas para o Bloco de Química do Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos e colocadas em uma estufa a 35° C para a secagem. Elas permaneceram na estufa, até que a umidade ficasse abaixo de 10%. As folhas foram retiradas da estufa e em seguida foram trituradas utilizando um liquidificador, até ficarem em formato de pó. O extrato foi preparado, submetendo as amostras à extração à temperatura ambiente com o hexano (3,67 L). Foram utilizadas 459,2836 g de folhas secas trituradas e foram realizadas quatro extrações durante um período de 72 horas para cada repetição. Ao final do processo de extração, foi realizada uma

filtração simples, onde o solvente foi filtrado e concentrado utilizando-se um rotoevaporador sob pressão reduzida. Posteriormente, foi obtido o extrato etanólico, por meio da adição de etanol (3,7 L) ao material restante da extração com o hexano, e esse processo foi repetido por sete vezes. Depois de secos, o extrato hexânico e o extrato etanólico foram liofilizados de forma a remover a água remanescente. A figura 18 ilustra esse processo.

Figura 18- Esquema representativo do preparo dos extratos



4.5.2 Prospecção fitoquímica dos extratos

Realizou-se a prospecção fitoquímica dos extratos a fim de determinar as classes de compostos presentes. Inicialmente, os extratos foram solubilizados no solvente com a concentração de 5 mg mL^{-1} . O extrato etanólico foi dissolvido em metanol e o extrato hexânico foi dissolvido em hexano. Posteriormente, foram aplicados em placas comerciais de (CCD- cromatografia em camada delgada). Para o EE utilizou-se como fase móvel: Acetato de etila: metanol: ácido fórmico (9:1:1,1) e para o EH a fase móvel foi: Hexano: Acetato de etila (7:3). Através de uma reação

química que resultam no desenvolvimento de coloração as placas foram reveladas, conforme a metodologia adotada por Wagner (1996). Os reagentes que foram usados como reveladores estão descritos abaixo.

a) Detecção de Flavonoides

-NP/PEG: Uma solução A foi preparada mediante a adição de difenilboriloxietilamina (NP) a 1% (mV^{-1}) em metanol, e uma solução B contendo polietilenoglicol-4000 (PEG 4000) a 5% (mV^{-1}) em etanol. Para o preparo da solução reveladora, adicionou-se 10 mL da solução A e 8 mL da solução B e posteriormente aplicada na placa. A placa foi observada por meio do comprimento de onda (365 nm) usado da câmera de luz UV.

-Cloreto de alumínio: Uma solução de AlCl_3 a 1% (mV^{-1}) em metanol foi preparada como solução reveladora. O revelador foi borrifado na placa CCD e observou-se no comprimento de onda (365 nm) usado da câmera de luz UV.

b) Detecção de Alcaloides

-Dragendorf: Dissolveu-se 0,85 g de nitrato de bismuto em 10 mL de ácido acético glacial e adicionou-se 40 mL de água destilada sob aquecimento, para o preparo da solução A. Já a solução B foi preparada a partir da dissolução de 8 g de iodeto de potássio em 30 mL de água destilada. Misturou-se na mesma proporção a solução A e B formando uma solução estoque. Para a solução reveladora, colocou-se 1 mL da solução estoque, 2 mL de ácido acético glacial e 10 mL de água. Posteriormente foi revelado a placa CCD e observou-se se houve uma mudança de coloração laranja amarelada.

c) Detecção de terpenos, compostos fenólicos, açúcares

- Lieberman-Burchard: Para o preparo da solução reveladora foi adicionado 5 mL de anidrido acético e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado a 50 mL de etanol absoluto, sob banho de gelo. Borrifou-se a placa com a solução aquecida a 100°C de 5 a 10 minutos. Foi observado se houve formação de manchas coloridas na placa.

- Vanilina Sulfúrica: A solução A foi preparada por meio da vanilina 1% (mV^{-1}) em etanol e uma solução B contendo ácido sulfúrico a 5% (mV^{-1}) em etanol. Borrifou-se na placa CCD a solução A

seguida da solução B, e submeteu-se a um aquecimento a 100 ° C por 5 a 10 minutos, onde foi observou-se a coloração das manchas reveladas.

d) Detecção de antroquinonas

-Reagente Bornträger (KOH): Esse reagente foi preparado por meio da adição de hidróxido de potássio 5% em etanol. A presença de Antroquinas apresentam uma coloração vermelha quando reveladas.

4.5.3 Determinação de fenóis totais

O teor de fenóis totais nos extratos das folhas foi determinado seguindo a metodologia estabelecida por Moraes e colaboradores (2008). Para isso, uma curva analítica foi construída utilizando ácido gálico em diferentes concentrações (5 a 100 µg/mL), que foi reagido com o reagente Folin-Ciocalteu (10% v/v). Essa curva permitiu relacionar a absorbância obtida com a concentração de ácido gálico utilizado.

Em seguida, foi realizada a reação colorimétrica com os extratos hexânico e etanólico. Para isso, 0,5 mL de uma solução dos extratos previamente preparados, na concentração de 250 µg/mL e dissolvidos em metanol, foram adicionados a tubos de ensaio. Em seguida, foram adicionados os reagentes: 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio (7,5% m/v). Essa mistura foi incubada em banho-maria por 5 minutos a 50°C.

Após a incubação, a absorbância foi medida utilizando um espectrofotômetro Thermo Scientific modelo Genesys 10 S, com comprimento de onda de 760 nm. Para a leitura do branco, 0,5 mL de metanol foi utilizado, seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente. O teste foi realizado em triplicata, ou seja, repetido três vezes para cada amostra.

4.5.4 Determinação da atividade antioxidante

4.5.4.1 DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila)

A atividade antioxidante foi determinada através do método do sequestro de radical livre DPPH, descrita por Moraes e outros (2008). Inicialmente foi preparado uma solução de DPPH dissolvida em metanol, a qual apresentava uma concentração de 38 µg. mL⁻¹, cuja absorbância era de 0,99 com o comprimento de onda a 517 nm. Foram preparadas soluções dos extratos em

metanol, nas seguintes concentrações: 150, 124,5, 99, 75, 48, e 22,5 $\mu\text{g. mL}^{-1}$. Posteriormente, em tubos de ensaio foram adicionados 0,2 mL de solução das amostras e 2,8 mL da solução de DPPH. Essa mistura foi deixada em repouso, a temperatura ambiente e protegida da luz solar, durante o período de tempo de 1 hora. Após, realizou-se a leitura da absorbância por meio de um espectrofotômetro da marca Thermo Scientific modelo Genesys 10 S, com o comprimento de onda a 517 nm. Para a leitura do branco, utilizou-se 0,2 mL das amostras das soluções dos extratos e 2,8 mL de metanol e para o controle adicionou-se em um tubo de ensaio 0,2 mL de metanol mais 2,8 mL de DPPH.

Para determinar a porcentagem da atividade antioxidante (AA) adotou-se a seguinte equação:

$$AA = DPPH_{sequestrado} (\%) = \left(\frac{Abs_{controle} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})}{Abs_{controle}} \right) 100 \quad \text{Equação 03}$$

Onde:

O Abs controle: é a absorbância da solução metanólica de DPPH;

Abs amostra: é a absorbância da solução do extrato + DPPH ;

Abs branco: é amostra em metanol.

Por meio da equação da reta de uma curva analítica do gráfico de DPPH sequestrado (%) versus a concentração das amostras, foi possível determinar a concentração eficiente (CE_{50}), que corresponde a quantidade de amostra necessária para decrescer a quantidade inicial de DPPH em 50%.

4.5.4.2 ABTS (2,20-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico))

No ensaio ABTS, a solução foi preparada conforme orientações estipuladas por Malta e Liu (2014) com algumas modificações. Primeiramente preparou-se as seguintes soluções:

- Solução de ABTS 14 nM: Uma solução estoque de ABTS foi preparada por meio da dissolução de 0,0384 g de ABTS em 5 mL de água destilada.
- Solução de ABTS 7 nM: Uma solução de ABTS foi preparada por meio de 2,64 mL da solução de ABTS 14 nM. Essa solução foi diluída em 5 mL de água destilada.
- Solução de persulfato de potássio 140 mM: Dissolveu-se 0,1892 g de persulfato de potássio em 5 mL de água destilada.

- Solução de persulfato de potássio 2,6 mM. Dissolveu-se 0,09 mL da solução de persulfato de potássio 140 mM em 5 mL de água destilada.
- Solução de trabalho: Misturou-se a solução de ABTS 7 mM e persulfato de potássio 2,6 mM na proporção 1:1. Essa solução ficou em repouso por 12 horas à temperatura ambiente, no escuro. Em seguida, 1 mL desta solução foi dissolvida em 30 mL de metanol, sendo diluída até apresentar uma absorbância de $1,1 \pm 0,02$ em 734 nm.
- Solução padrão de Trolox 1600 μM : Foi dissolvido 0,0800 g de Trolox em metanol e completou-se o volume para 200 mL em um balão volumétrico com metanol.
- A partir da solução mãe de Trolox, preparou-se uma curva padrão entre 25 e 800 $\mu\text{mol/L}$ em metanol.

Os extratos etanólicos foram preparados na concentração de $100\mu\text{g. mL}^{-1}$ em metanol e os extratos hexânicos na concentração de $250\mu\text{g. mL}^{-1}$. Em tubos de ensaio, 0,15 mL das soluções da curva padrão e dos extratos foram deixadas reagir por 12 horas no escuro, com 2,85 mL da solução de trabalho. As leituras do produto colorido foram feitas em 734 nm. Os resultados foram expressos em μmol de Trolox por grama de massa.

4.5.4.3 Capacidade antioxidante de redução de ferro (ferric reducing antioxidant power – FRAP)

O método capacidade antioxidante de redução de ferro (FRAP) foi realizado baseando-se no ensaio realizado por Malta e Liu (2014) com adaptações. Inicialmente algumas soluções estoques foram preparadas.

- Solução de ácido clorídrico (HCl) 40 mM: Com o auxílio de um balão volumétrico de 100 mL, adicionou-se 0,334 mL de HCl concentrado e completou-se o volume com água destilada. A solução foi homogeneizada e transferida para um frasco de vidro âmbar;
- Solução de 2,4,6-tris(2-piridil)-s triazina (TPTZ) 10 mM: Preparou-se uma solução por meio da dissolução de 0,078 g de TPTZ e completou-se o volume em um balão volumétrico de 25 mL com a solução de HCl 40 mM;
- Solução de cloreto férrico (FeCl_3) 20 mM: Pesou-se 0,0539 g de FeCl_3 e dissolveu em água destilada completando o volume para 100 mL em um balão volumétrico;

- Solução tampão acetato 0,3 M pH 3,6: Pesou-se 0,3103 g de acetato de sódio e dissolveu-se em 1,6 mL de ácido acético glacial. Com o auxílio de um balão volumétrico a solução foi completada em 100 mL com água destilada.
- Solução do reagente FRAP: A solução FRAP foi preparada com 10 mL da solução de TPTZ adicionada a 100 mL da solução de tampão acetato 0,3 M e 10 mL da solução FeCl₃ 20 nM. A solução foi submetida a aquecimento por banho maria durante 30 minutos.
- Solução padrão de Trolox 1600 µM: Dissolveu-se 0,0800 g de Trolox em metanol e completou-se o volume para 200 mL em um balão volumétrico com metanol. A partir da solução mãe de Trolox, preparou-se uma curva padrão entre 25 e 480 µmol/L em metanol.

Uma alíquota de 0,15 mL da solução da curva padrão e dos extratos foram adicionadas a 2,85 mL da solução FRAP e incubadas por 10 minutos no escuro. As absorbâncias foram medidas após esse tempo e o espectrofotômetro foi colocado a 593 nm para a leitura. A curva padrão foi realizada com Trolox e os resultados expressos em µmol de Trolox/g de amostra. O experimento foi feito em triplicata.

4.5.5 Avaliação da atividade antifúngica dos extratos e do óleo essencial

A atividade antifúngica foi avaliada pelo método da microdiluição em caldo, seguindo o protocolo descrito pelo CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) em 2017. Essa análise foi conduzida em colaboração com o Prof. Dr. Carlos Henrique Gomes Martins e Anna Livia Oliveira Santos do Laboratório de Ensaio Antimicrobianos (LEA).

As leveduras utilizadas neste estudo foram adquiridas da "American Type Culture Collection" (ATCC, Rockville MD, EUA). Quatro cepas de microrganismos foram selecionadas: *Candida albicans* (ATCC 28366), *C. tropicalis* (ATCC 13803), *C. glabrata* (ATCC 15126) e *Candida parapsilosis* (ATCC 22019).

Para preparar as soluções de trabalho, foram inicialmente criadas soluções estoque dissolvendo as amostras dos extratos em DMSO na concentração de 192.000 µg mL⁻¹. Essas soluções estoques foram diluídas em meio de cultura RPMI 1640 tamponado com ácido 3-N-morfolinopropanosulfônico (MOPS) a uma concentração de 12.000 µg mL⁻¹, resultando nas soluções de trabalho.

O inóculo foi preparado usando um método espectrofotométrico e ajustado para a escala de McFarland 0,5, o que corresponde a um valor de $6,0 \times 10^6$ UFC (Unidades formadoras de colônia) mL^{-1} . Em seguida, foram realizadas diluições recomendadas pelo CLSI (2008) em caldo RPMI até que o inóculo atingisse uma concentração de $1,2 \times 10^3$ UFC mL^{-1} .

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada em placas de microdiluição contendo 96 poços. Foram feitas diluições seriadas dos extratos e frações, resultando em concentrações finais variando de 1,46 a 3000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Cada poço recebeu 100 μL da suspensão do inóculo, e o volume final em cada poço foi de 200 μL . O controle negativo contendo apenas DMSO foi testado em concentrações variando de 10 a 1% vv^{-1} e não apresentou efeito sobre o crescimento das leveduras. O meio de cultura com inóculo foi utilizado como controle de crescimento. Para a validação dos ensaios, a anfotericina B, um controle positivo, foi testada contra cepas de referência *C. parapsilosis* (ATCC 22019) e *C. krusei* (ATCC 6258) em concentrações variando de 0,031 a 16 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

4.5.6 Análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução

No Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia (IBTEC-UFU) foi realizada a análise da composição química dos extratos por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplada à Espectrometria de Massas (EM) com fonte de ionização por electrospray (IES). Para esta análise, foi utilizado um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Agilent, modelo Infinity 1260, acoplado a um Espectrômetro de Massas de alta resolução tipo Quadrople (Time of Flight) Q_TOF da marca Agilent, modelo 6520 B, com fonte de ionização por electrospray. O sistema de cromatografia utilizou uma coluna Agilent poroshell C18 com 3,0 mm de diâmetro interno, 100,0 mm de comprimento e partículas de 2,7 μm . A fase móvel (A) foi composta por água acidificada com ácido fórmico (0,1% v.v^{-1}), enquanto a fase móvel (B) consistiu em metanol. Foi aplicado um gradiente de eluição com as seguintes proporções de B ao longo do tempo: 10% de B (0 min), 98% de B (0 - 15 min) e 100% de B (15 - 17 min). O volume de injeção foi de 1 mL.

As amostras dos extratos etanólicos foram preparadas dissolvendo-se em metanol grau HPLC, utilizando uma concentração de 5 mg mL^{-1} . Antes da injeção no sistema de massas, as

amostras foram filtradas através de filtros de seringa com membrana de politetrafluoroetileno (PTFE) de 45 μm .

As análises de espectrometria de massas sequencial (EM/EM) foram realizadas em diferentes energias de colisões nos modos positivo e negativo para cada íon molecular. A partir do estudo dos fragmentos e das massas de alta resolução, foi possível propor a estrutura dos compostos presentes nas amostras.

Recorreu-se a bancos de dados como o Pubchem e artigos acadêmicos para auxiliar na identificação das possíveis estruturas, levando em conta informações como sistemas de solventes, tempos de retenção, espectros de massas e a menor diferença entre a massa experimental e a massa exata, expressa como erro em ppm (Equação 03).

O erro por milhão (Eppm) foi calculado utilizando a Equação 03, que é dada por:

$$Eppm = \frac{\textit{massa experimental} - \textit{massa exata}}{\textit{massa exata}} \times 10^6 \quad (\textit{Equação 04})$$

Essa análise permitiu a identificação e proposição das estruturas químicas dos compostos presentes nos extratos, contribuindo para o entendimento da composição química das amostras analisadas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 ÓLEO ESSENCIAL

5.1.1 Identificação dos compostos voláteis

A fim de determinar o rendimento das extrações do óleo essencial obtido por hidrodestilação foi considerado o valor da massa da folha fresca. A Tabela 7 apresenta os resultados dos rendimentos obtidos com a extração do óleo essencial da espécie *Pleroma granulorum*.

É importante ressaltar que os teores de óleos essenciais observados nas folhas não puderam ser comparados com dados existentes na literatura, uma vez que não foram encontrados estudos comparativos específicos para essa espécie. Essa falta de referências prévias destaca a necessidade de investigações adicionais para melhor compreender a composição e os teores de óleos essenciais dessa planta, assim como sua possível utilização em diferentes aplicações industriais e terapêuticas. Essas informações contribuirão para o conhecimento científico sobre a *Pleroma granulorum* e poderão fornecer subsídios para estudos futuros sobre suas propriedades e potenciais benefícios.

Tabela 7-Rendimento do óleo essencial da *Pleroma granulorum*

Frasco	Massa da folha fresca (g)	Massa de óleo essencial (g)	Rendimento (%)
1	418,87	0,002	0,005
2	395,95	0,011	0,003
3	685,59	0,057	0,008
4	604,09	0,020	0,003
5	520,29	0,025	0,005
Média	524,95 ±122,45	0,027±0,017	0,005±0,002

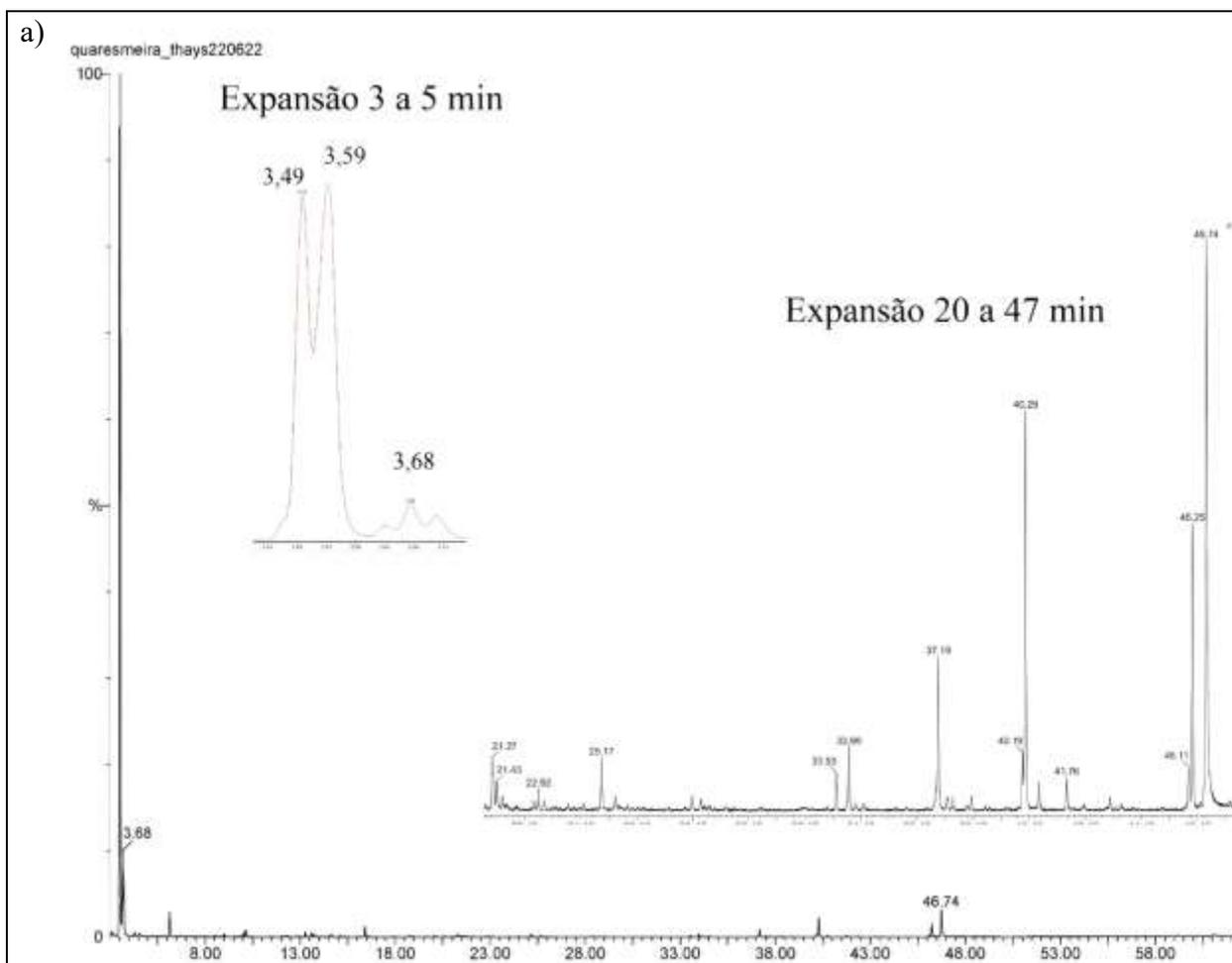
Fonte: a autora

Através da análise por CG-EM obteve-se dois cromatogramas (Figura 19), em que os picos indicam os compostos presentes no óleo essencial da *P. granulorum* no seu respectivo tempo de retenção. No primeiro cromatograma em a), o corte foi feito antes de atingir o tempo de 4 minutos, ou seja, os picos correspondentes aos componentes da amostra começaram a ser registrados no detector antes desse ponto temporal. Como os picos estavam bastante intensos em comparação com a escala, foi injetado novamente o óleo essencial e obtido o segundo cromatograma, onde o corte foi realizado após esse tempo, ou seja, os picos dos componentes da amostra passaram a ser

registrados pelo detector após o marco de 4 minutos. Essa abordagem foi adotada de forma a analisar melhor os picos.

Os resultados dessa investigação foram compilados na Tabela 8, onde estão listados os constituintes identificados no óleo essencial. Esses componentes foram classificados de acordo com a ordem crescente do tempo de retenção. Ao realizar uma primeira análise desses dados, observou-se que a maioria dos componentes da amostra consiste em álcoois voláteis e aldeídos, com uma pequena quantidade de ésteres, monoterpenos e diterpenos presentes. As estruturas químicas dos compostos identificados podem ser visualizadas na Figura 20.

Figura 19- Cromatograma do óleo essencial da *P. granulosum* – a) Antes dos 4 min e b) após 4 minutos.



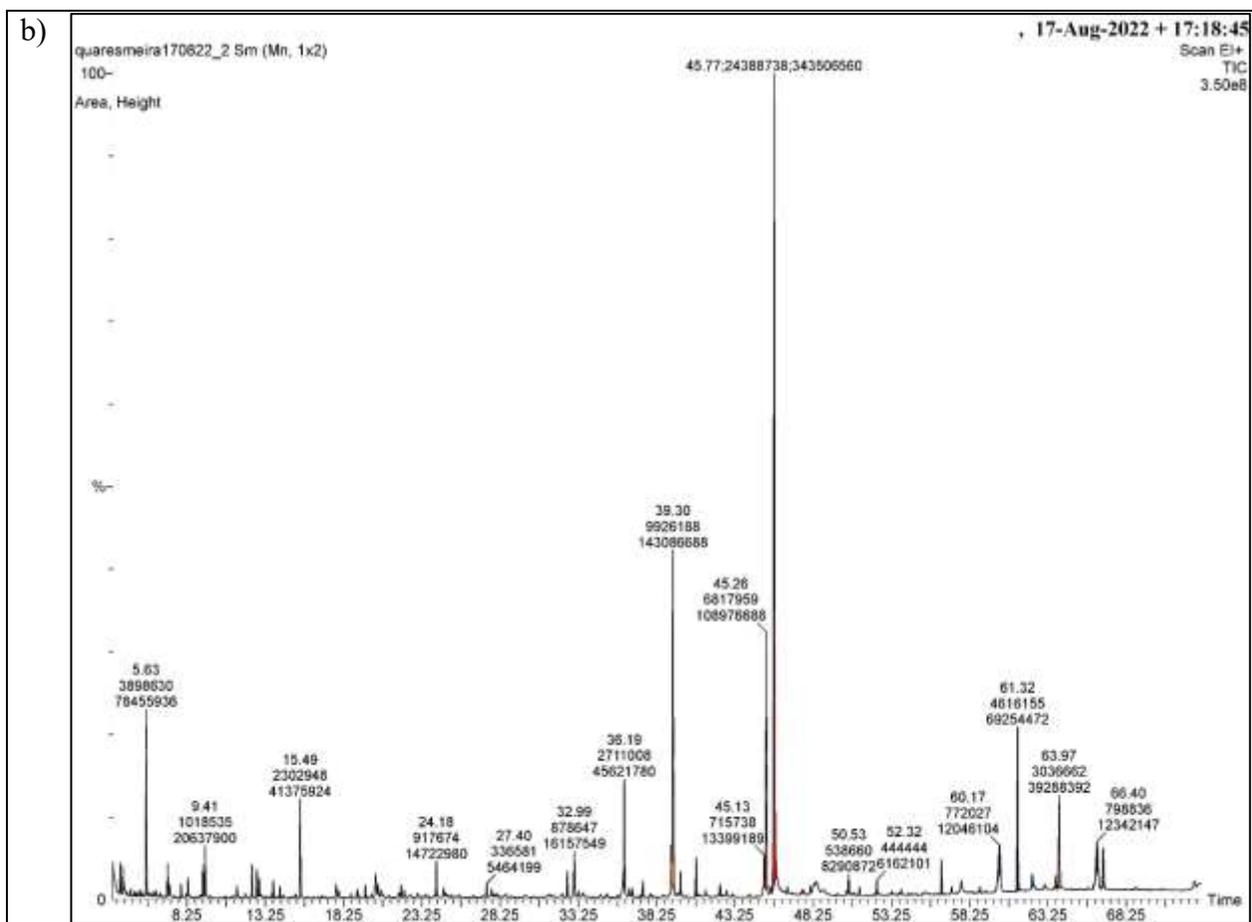


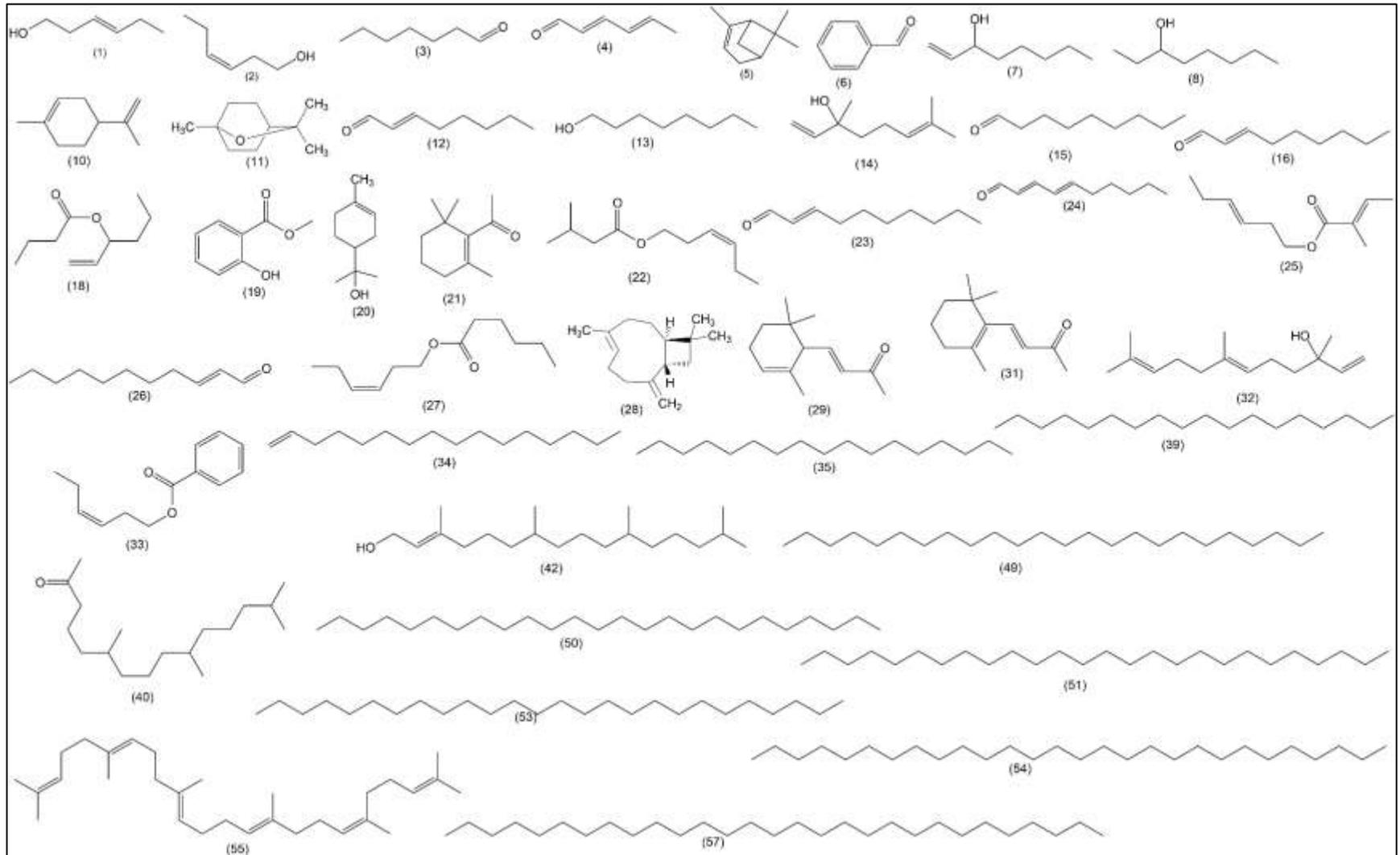
Tabela 8- Composição química do óleo essencial das folhas da *P. granulosum*

Pico	T R (min)	Nome do Composto	Fórmula Molecular	IA		Área	Método de Identificação
				Calculado	Literatura		
1.	3,49	3-Hexen-1-ol, (<i>E</i>)	C ₆ H ₁₂ O	836	844	26,2	a,b
2.	3,59	3-Hexen-1-ol, (<i>Z</i>)	C ₆ H ₁₂ O	840	850	41,7	a,b
3.	3,68	n.i	-	853	-	-	-
4.	3,97	Heptanal	C ₇ H ₁₄ O	900	901	0,25	a,b
5.	4,17	2,4-Hexadienal, (<i>E,E</i>)	C ₆ H ₈ O	909	907	0,51	a,b
6.	4,65	Alfa-Pineno	C ₁₀ H ₁₆	931	932	-	a,b
7.	5,29	Benzaldeído	C ₇ H ₆ O	959	952	-	a,b
8.	5,63	1-Octen-3ol	C ₈ H ₁₆ O	975	974	2,80	a,b
9.	6,11	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	997	996*	-	a,c
10.	6,25	n.i	-	1002	-	-	-
11.	7,01	Limoneno	C ₁₀ H ₁₆	1026	1028*	0,28	a,c
12.	7,13	Eucaliptol	C ₁₀ H ₁₈ O	1030	1030*	-	a,c
13.	7,88	2-Octenal, (<i>E</i>)	C ₈ H ₁₄ O	1054	1049	0,03	a,b
14.	8,30	1-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	1067	1063*	0,19	a,c
15.	9,28	Linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	1099	1102*	0,19	a,c
16.	9,41	Nonanal	C ₈ H ₁₈ O	1102	1100	0,41	a,b
17.	11,45	2-nonenal, (<i>E</i>)	C ₉ H ₁₆ O	1156	1157	-	a,b
18.	11,97	n.i	-	1170	-	-	-
19.	12,41	Hexenil butanoato, 3 <i>Z</i>	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	1182	1184	0,51	a,b
20.	12,72	Salicilato de metila	C ₈ H ₈ O ₃	1190	1190	0,51	a,b
21.	12,86	Alfa-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	1194	1186	0,12	a,b
22.	13,76	Beta-ciclocitral	C ₁₀ H ₁₆ O	1217	1217	0,06	a,b
23.	14,20	3-hexenil-isovalerato, (<i>Z</i>)	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	1227	1238*	0,12	a,c
24.	15,49	2-Decenal, (<i>E</i>)	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	1259	1260	0,61	a,b
25.	17,79	2,4-Decadienal, (<i>E,E</i>)	C ₁₀ H ₁₆ O	1316	1315	-	a,b
26.	17,94	Hex-3-enil (<i>E</i>)-2-metilbut-2-enoato (<i>E</i>)	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	1320	1319*	-	a,c
27.	19,64	2-Undecenal, (<i>E</i>)	C ₁₁ H ₂₀ O	1362	1357	0,03	a,b

28.	20,29	Ácido hexanoico, éster 3-hexenílico, (Z)	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	1378	1380	-	a,c
29.	21,74	Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	1414	1414*	-	a,c
30.	21,94	Alfa-ionona	C ₁₃ H ₂₀ O	1419	1421*	0,09	a,c
31.	22,14	n.i	-	1424	-	-	-
32.	24,19	Beta-ionona,(E)	C ₁₃ H ₂₀ O	1476	1487	0,51	a,b,c
33.	27,40	1,6,10-Dodecatrieno-3-ol, 3-7,11-trimetil	C ₁₅ H ₂₆ O	1559	1564*	0,09	a,c
34.	27,72	Hexenil benzoato, 3(Z)	C ₁₃ H ₁₆ O ₂	1567	1565	-	a,b
35.	28,63	Hexadeceno	-	1591	1589	-	a,b
36.	32,55	Heptadecano	C ₁₇ H ₃₆	1699	1700	0,38	a,b
37.	33,00	n.i	-	1712	-	0,8	-
38.	33,25	n.i	-	1719	-	-	-
39.	35,04	n.i	-	1770	-	1,95	-
40.	36,19	Octadecano	-	1790	1790	0,09	a,b
41.	37,37	Hexaidrofarnesil acetona	C ₁₈ H ₃₆ O	1839	1842*	4,9	a,c
42.	39,31	n.i	-	1898	-	0,32	-
43.	40,77	Fitol	C ₂₀ H ₄₀ O	1944	1942	0,41	a,b
44.	42,32	n.i	-	1993	-	0,13	-
45.	45,13	n.i	-	2086	-	0,26	-
46.	45,26	n.i	-	2090	-	3,7	-
47.	45,77	n.i	-	2106	-	4,7	-
48.	50,53	n.i	-	2269	-	0,19	-
49.	52,32	n.i	-	2341	-	0,12	-
50.	53,88	Tetracosano	C ₂₄ H ₅₀	2399	2400	-	a,b
51.	56,45	Pentacosano	C ₂₅ H ₅₂	2499	2500	0,42	a,b
52.	58,93	Hexacosano	C ₂₆ H ₅₄	2599	2600	-	a,b
53.	60,18	n.i	-	2652	-	1,2	-
54.	61,32	Heptacosano	C ₂₇ H ₅₆	2700	2700	2,02	a,b
55.	63,76	Octacosano	-	2798	2800	0,19	a,b
56.	63,97	Esqualeno	C ₃₀ H ₅₀	2806	-	1,47	-
57.	66,39	n.i	-	2887	-	1,08	-
58.	66,79	Nonacosano	C ₂₉ H ₆₀	2900	2900	0,25	a,b

Nota : Tr= tempo de retenção; n.i= não identificado. Método de identificação: (a) índice de similaridade entre os espectros de massa da biblioteca e o obtido; (b) comparação entre o IA calculado e o do Adams (2007); (c) comparação entre o IA calculado e do site da NIST (2023). *IA utilizado do site NIST (2023).

Figura 20- Estruturas dos compostos identificados no óleo essencial das folhas



O componente majoritário presente no óleo essencial da *P. granulatum* foi o 3-Hexen-1-ol (Z) (2) (41,7%), que é um composto orgânico volátil responsável pelo cheiro de “grama verde”, sendo encontrado em diversas plantas e utilizado como aromatizante em indústrias de alimentos. Esse composto é produzido por meio do ácido linolênico, como resposta a ferimentos causados na planta, como por exemplo quando esta é cortada (Mcrae *et al.*, 2012). Insetos podem detectar esse composto e podem ser atraídos, conforme relatado por James (2005). Esse composto também é denominado de álcool de folha (Saijo; Takeo, 1974) e já foi reportado em óleo essencial de outras espécies como a *Lippia alba* (Silva *et al.*, 2006) e na *Vochysia divergens*, em que o 3-Hexen-1-ol (Z) compunha 76,34% da composição (Nani, 2016).

Propriedades medicinais têm sido relatadas acerca do 3-Hexen-1-ol (Z). Tokumo (2006) realizou um estudo que analisa o efeito desse composto sobre o comportamento relacionado à ansiedade do camundongo por meio do teste labirinto em cruz elevado e o comparou com diazepam e com o 3-trifluorometilfenilpiperazina. Os resultados demonstraram que o 3-Hexen-1-ol (Z) causou mudanças significativas nos índices convencionais de ansiedade, onde houve um aumento da porcentagem de braços abertos (um parâmetro que mede a ansiedade), além disso foi descoberto que esse composto possui atividade ansiolítica na ansiedade etológica.

Na Figura 21 está apresentado o espectro de massa desse composto com o tempo de retenção de 3,59 minutos. Pela análise foi possível observar a presença do pico do íon molecular m/z 100.

Figura 21- Espectro de massa do pico de retenção 3,59 min

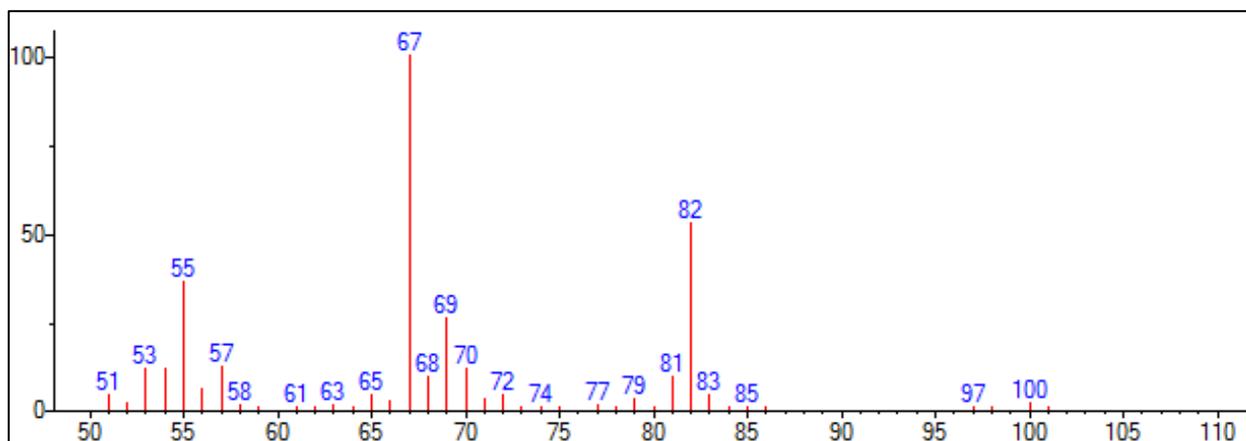
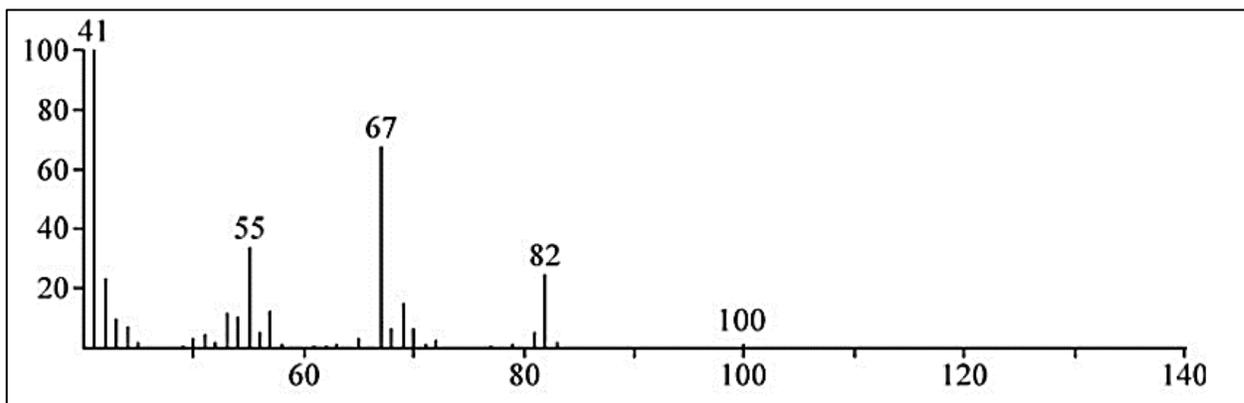


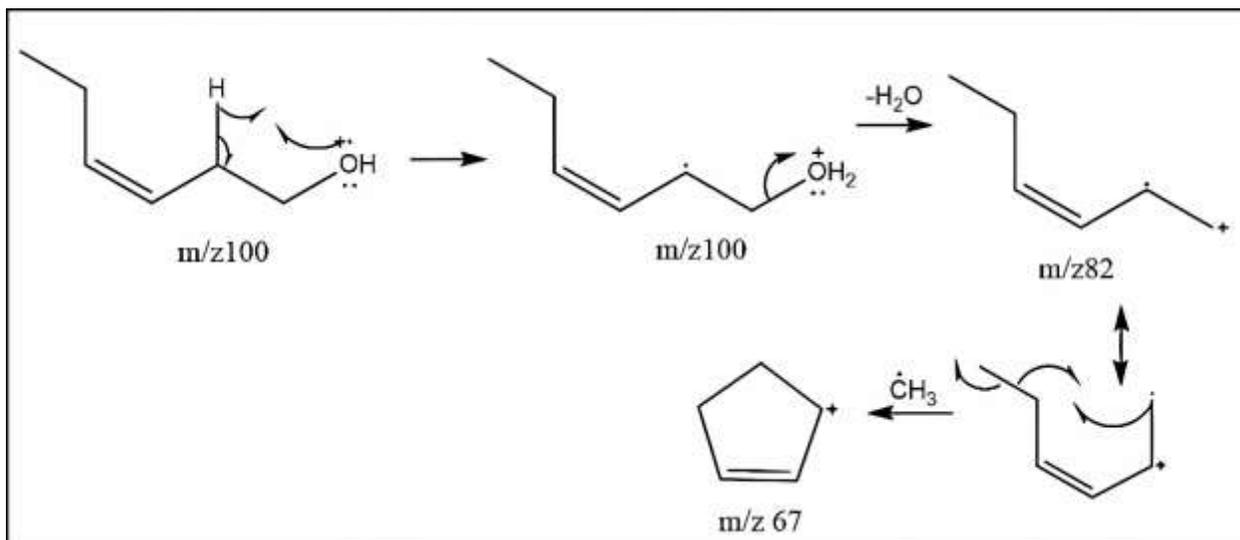
Figura 22- Espectro de massa do 3-Hexen-1-ol (*Z*) pelo Adams (2007)



O espectro de massas do 3-Hexen-1-ol (*Z*) apresenta picos referentes as seguintes fragmentações:

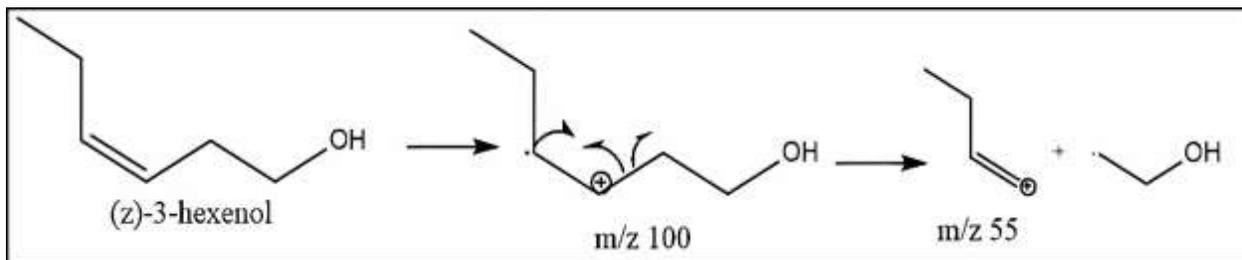
- m/z 82: referente à perda de água pelo íon molecular m/z 100 (Figura 23);
- m/z 67: referente à perda de um radical metila pelo íon m/z 82 (Figura 23);
- m/z 55: referente à liberação de etanol com a formação de um carbocátion vínilico, através do íon molecular m/z 100 (Figura 24).

Figura 23- Fragmentação m/z 82 e m/z 67



Fonte : Adaptado de Martins (2019)

Figura 24- Proposta de fragmentação do m/z 55



Fonte: A autora

Um outro composto que é um dos principais constituintes nessa análise foi o 1-octen-3-ol (2,8%) que é derivado do ácido linolênico durante a degradação oxidativa. É conhecido como o álcool de cogumelo, pois é um dos principais responsáveis pelo sabor do cogumelo. Esse composto também possui outras aplicações, como: antibacteriana e antifúngica, além de atuar com agente atrativo de insetos (Xiong *et al.*, 2017). Apesar de ser encontrado em fungos, também pode ser encontrado em plantas, estando presente como um dos principais constituintes no óleo essencial da *Melittis melissophyllum L* que é da mesma família da menta (Baldini *et al.*, 2009).

Os compostos minoritários também foram identificados como: Heptanal (0,25%), Linalol (0,19%), Nonanal (0,19%), Salicilato de metila (0,51%), 2-Decenal (*E*) (0,61%), Beta-ionona(*E*) (0,51%), hexaidrofarnesil acetona (4,9%), Fitol (0,41%) e alcanos. Os outros compostos restantes se constituem em não identificados ou foram identificados, mas apresentaram um percentual mínimo no total da área, não sendo possível a identificação da quantidade, como por exemplo: alfa-pineno, benzaldeído, 3-Octanol, 2-nonenal (*E*), 2,4-Decadienal (*E,E*), Hex-3-enil (*E*)-2-metilbut-2-enoato (*E*), 2-Undecenal (*E*), Cariofileno, Alfa-ionone, beta-ciclocitral.

O linalol é um monoterpene alcoólico terciário, extraído de plantas como pau-rosa (*Aniba rosaedora*), bergamota (*Citrus bergamia*), jasmim (*Jasminum auriculatum*), lavanda (*Lavandula dentata*), manjeriço (*Ocimum gratissimum*), coentro (*Coriandrum sati bvu*), tangerina (*Citrus reti culata*), entre outras. Dentre os efeitos biológicos do linalol, tem-se cardiovasculares, antinoceptivos, dermatológicos, antibacteriano, antimicrobial e antileshimanial (Camargo; Vasconcelos, 2014). Outro álcool monoterpene identificado é o alfa- terpineol que devido ao seu odor agradável é muito utilizado na indústria de perfumaria, como constituinte de sabonetes e cosméticos, e na indústria farmacêutica como antifúngico e antisséptico (Baptistella, 2009).

O salicilato de metila, é um composto usado na indústria farmacêutica como analgésico e anti-inflamatório (Miles, 2007). Está presente no óleo essencial da *Gaultheria procumbens L.* e da *Betula lenta L.* (Murphy *et al.*, 2021).

O único diterpeno identificado foi o Fitol, que possui uma cadeia longa e ramificada, sendo um constituinte da clorofila. É amplamente distribuído na natureza, e é usado principalmente na indústria de cosméticos e em outros produtos de higiene, devido ser um ingrediente perfumado (Islam *et al.*, 2015). O fitol exibe uma ampla gama de aplicabilidades, como antimicrobiano (MIC50 contra *E. coli*, *C. albicans* e *A. niger* foi de 62,5 µg/mL) (Ghaneian *et al.*, 2015), antinociceptivo em camundongos e antioxidante (através do ensaio por TBARS que quantifica a peroxidação lipídica) (Santos *et al.*, 2013), citotóxico, anti-inflamatório (Islam, 2018).

A família Melastomataceae, comparada com outras famílias, possui um número reduzido de estudos relacionados a composição química de suas espécies, pois tradicionalmente apresenta uso mais voltado para ornamentação. Dentre os estudos acerca de caracterização de óleos essenciais pode-se observar a ocorrência dos seguintes constituintes:(+)-(E)-Pinocarvil acetato, *beta*-Pinoeno, Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida e o Mirceno nas folhas da *Microlicia graveolens* (Quintão, 2013). Nas flores da *Trembleya phlogiformis DC* os principais componentes do óleo volátil foram: heneicosane (33,5%), fitol (12,3%), n-tricosane (8,4%) e ácido linoleico (6,1%) e nas folhas foi o álcool oleico (Fernandes *et al.*, 2017). No óleo essencial da *Microlicia Crenulata* nota-se a presença de compostos alifáticos, aromáticos, monoterpenos, sequiterpenos e fenilpropanoide, sendo que os monoterpenos oxigenados (Linalol, α -Terpineol, *E*-Pinocarveol, Pinocarvona entre outros) apresentaram-se como a classe majoritária (Pereira, 2013). Na *Miconia munitiflora* o 3-hexenol (*Z*) foi um dos principais constituintes (9,73%), outros compostos também foram identificados como majoritários: 1-octen-3-ol (8,16%), hexenilbutanoato (3*Z*) (9,77%), 3-hexenil isovalerato (*Z*) (8,65%), hexenil hexanoato, (3*Z*) (10,91%) e fitol (7,34%) (Ferreira *et al.*, 2022). O 3-hexenol também foi identificado como um dos componentes principais no óleo essencial da *Tibouchina aspera AUBL* (Maciel, 2021).

Diante dessas informações fornecidas, pode-se constatar que através da proposta de anotação dos compostos voláteis do óleo essencial da *P. granulosum*, foi possível encontrar uma variedade de compostos. Ao realizar uma comparação com a literatura existente, foram identificados diversos compostos que até então não haviam sido mencionados na composição química das folhas dessa espécie.

5.2 EXTRATOS

5.2.1 Determinação da umidade

A determinação do teor de umidade em matérias-primas vegetais é um procedimento fundamental para diversas finalidades. Um dos principais motivos é evitar que a água presente nas amostras seja erroneamente quantificada como componente do produto em análises subsequentes (ROCHA, 2011). Os resultados dos teores de umidade obtidos estão apresentados na Tabela, 9 fornecendo informações importantes para a caracterização e comparação das amostras.

Tabela 9 - Teor de umidade presente nas folhas utilizadas para o extrato

Amostra	Umidade (%)
1	5,77
2	6,02
3	5,04
Média	5,61 ±0,5

Fonte: a autora

5.2.2 Rendimento dos extratos

Os extratos brutos vegetais podem ser definidos segundo Santos (2018) como uma combinação complexa de diferentes classes de produtos naturais e que possuem grupos funcionais, já os extratos vegetais constituem preparações líquidas ou em forma de pó obtidos através da remoção dos princípios ativos das drogas vegetais, aplicando-se diferentes métodos para essa separação.

A extração é um método que permite estar identificando, isolando, purificando, e removendo os fitoquímicos ou os metabólicos secundários por meio da adição de solventes (Rodrigues *et al.*, 2016). São vários os fatores que podem interferir no processo de extração dos componentes químicos das plantas, como a composição do solvente, o tempo de extração, pH, a temperatura e o tamanho da partícula (Boyadzhieva; Angelov, 2018). Além disso, existem diversas técnicas que permitem o processo de extração de plantas vegetais como a maceração, infusão, percolação, decocção, extração contínua quente (Soxhlet), extração em contra-corrente, por microondas, ultrassom, fluido supercrítico e turbólise (Oliveira *et al.*, 2016).

Neste trabalho utilizou-se a técnica de maceração para a extração das folhas da *P. granulosum*, a sua metodologia é simples, no entanto assegura que a estrutura dos compostos não

seja modificada, devido a temperatura ambiente e a pressão atmosférica (Silva, 2019). O rendimento do Extrato Hexânico (EH) e do Extrato Etanólico (EE) podem ser visualizados por meio da Tabela 10.

Tabela 10- Rendimento obtido dos EH e EE das folhas de *P. granulosum*

Massas das Folhas (g)	Extrato	Massa obtida de extrato (g)	Rendimento (%)
459,28	Hexânico	5,74	1,3
	Etanólico	41,44	9,5

Fonte: a autora

Os resultados obtidos indicam que o rendimento do extrato etanólico é superior ao extrato hexânico, o que pode ser justificado pelas características do solvente utilizado. A escolha do solvente no processo de extração é influenciada pela polaridade do solvente e do grupo de substâncias a serem extraídas (Simões *et al.*, 2016). O etanol, por exemplo, possui uma constante dielétrica de 24,30 em comparação com a água, que é 78,36. Isso significa que o etanol tem uma polaridade intermediária, o que pode favorecer a extração de substâncias com essa mesma polaridade intermediária (Medeiros; Kanis, 2010). A constante dielétrica representa a polaridade de cada solvente.

5.2.3 Prospecção fitoquímica

Através da triagem fitoquímica realizada nos extratos das folhas da espécie *Pleroma granulosum*, foi possível identificar os constituintes químicos do metabolismo secundário presentes nos extratos. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 11.

Ao realizar a revelação dos extratos com os reagentes de Liberman Burchard, Anisaldeído e Vanilina sulfúrica, observou-se uma forte intensidade de coloração tanto no EH quanto no EE. Essa intensidade indica a presença potencial de terpenos, esteroides, açúcares e fenóis nas amostras. Além disso, foi confirmada a detecção de flavonoides e antraquinonas no EE.

É importante ressaltar que a não detecção de alcaloides nos extratos não implica necessariamente na ausência desses compostos. É possível que a quantidade de alcaloides presente

nas amostras seja muito pequena para ser detectada pelos métodos utilizados na triagem fitoquímica, como descrito por Brum e colaboradores (2011).

Tabela 11- Prospecção fitoquímica para a *Pleroma granulorum*.

	Flavonoides			Alcaloides		Terpenos, esteroides	Terpenos, esteroides, açúcares e fenol	
	NP/PEG	AlCl ₃	KOH	Iodocloro platinado	Dragendorff	Libermann Burchard	Anisaldeído	Vanilina sulfúrica
EH	-	-	-	-	-	+++	+++	+++
EE	+++	-	++	-	-	+++	+++	+++

Nota: EE: Extrato etanólico; EH: Extrato hexânico; - Não identificado; ++ intenso; +++ muito intenso

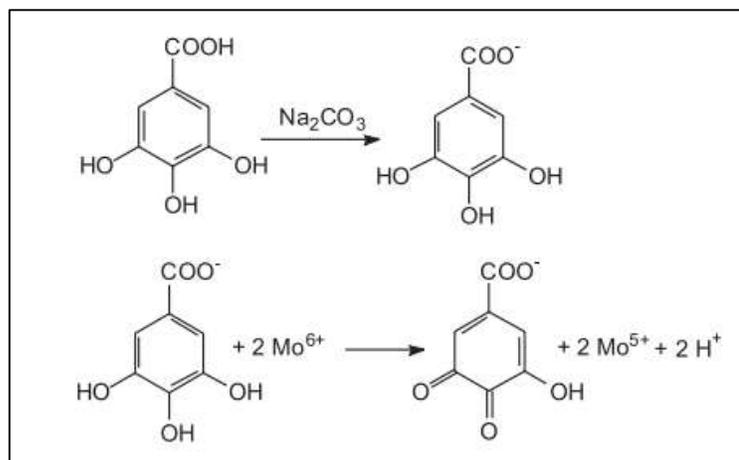
Filho, Ventura e Castro (2021) descreveram em seu trabalho a investigação da prospecção fitoquímica do extrato floral dessa planta e os resultados revelaram a presença de diversos grupos de compostos, como em especial para alcaloides, fenólicos, oxalatos, saponinas, carboidratos e taninos.

5.2.4 Análise do teor de fenóis totais

A quantificação dos compostos fenólicos apresenta uma grande relevância, haja visto que diversos estudos vêm evidenciando que eles estão diretamente relacionados com a atividade antioxidante presente nos vegetais, sendo alvo de interesse em diferentes áreas como alimentação, farmacêutica e cosmética (Kivrak, 2018).

O método Folin-Ciocalteu é constituído por dois ácidos, o ácido fosfomolibídico e o fosfotungstíco, que apresentam uma coloração amarela devido ao estado de oxidação do tungstênio e do molibdênio. Se o reagente entrar em contato com substâncias redutoras, como por exemplo os compostos fenólicos, ocorre uma alteração na coloração do amarelo para o azul. Essa mudança resulta a partir de uma reação de oxirredução entre os ânions fenolatos decorrentes da desprotonação dos compostos fenólicos e o reagente de Folin-Ciocalteu, no qual o molibdênio sofre uma redução, permitindo assim, medir a concentração dos compostos redutores (Oliveira *et al.*, 2009). Essa reação pode ser observada através da Figura 25.

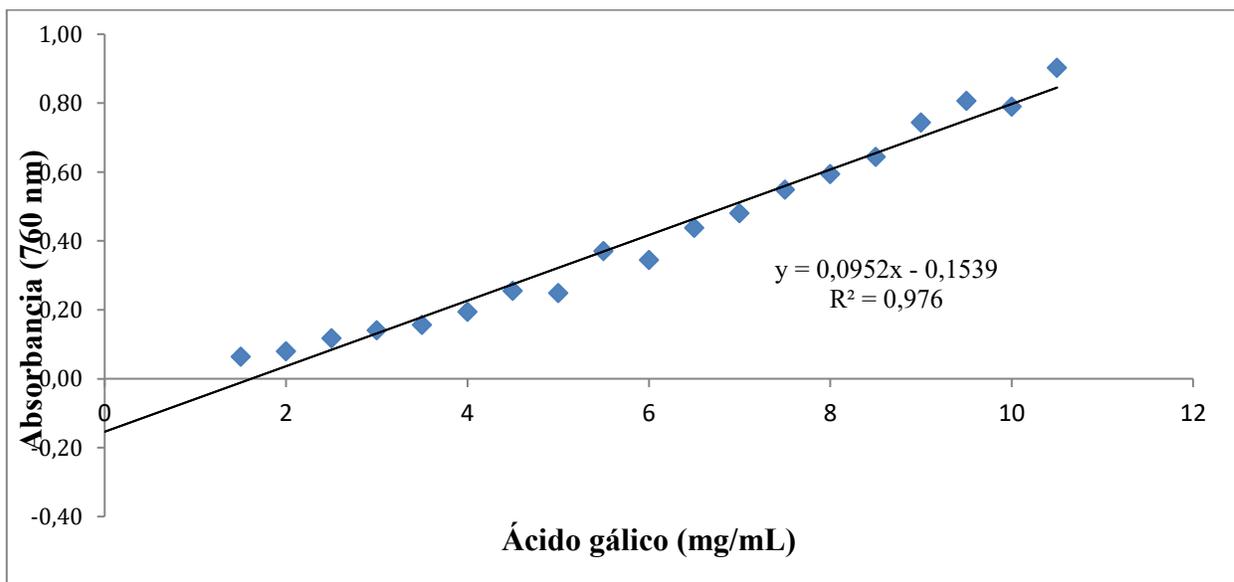
Figura 25- Reação do ácido gálico com o íon molibdênio, um dos constituintes do reagente de Folin-Ciocalteu.



Fonte: Oliveira (2009)

Utilizando-se a absorvância medida para as amostras de diferentes concentrações de ácido gálico delineou-se uma curva analítica (Figura 26). A partir desta, foi possível a determinação dos compostos fenólicos totais presentes nos extratos da amostra.

Figura 26- Curva analítica para a determinação espectrofotométrica de fenóis totais.



Fonte: a autora

Empregou-se a equação da reta ($y = 0,0952x - 0,1539$) para os cálculos dos compostos fenólicos totais como equivalentes de ácido gálico por gramas da amostra de extrato. Através do coeficiente de determinação (r^2) no valor de 0,9760, foi obtido uma correlação favorável entre o ácido gálico e a absorvância. A Tabela 12 apresenta os resultados obtidos para os extratos do presente estudo.

Tabela 12 - Teor de fenóis totais dos extratos das folhas da *P. granulatum*.

Amostra	Teor de fenóis totais (mg de EAG/g de extrato)
Extrato Etanólico	381,19 ± 4,67
Extrato Hexânico	128,52 ± 5,35

Fonte: a autora.

Observa-se que o maior teor de fenóis está presente no extrato etanólico da folha, sendo o valor de 381,19 mgEAG/g. Em um estudo realizado por Barnaby, Reid e Warren (2016) sobre a atividade antioxidante e teor de fenóis totais do extrato etanólico das flores, a *P. granulatum* (reportada como *Tibouchina granulosa*) apresentou a maior quantidade cerca de 96,35±2,88 mg EAG/g, isso em comparação com a *Cassia fistula* (54,05 ± 5,09 mg EAG/g), *Senna siamea* (79,37 ± 4,46 mg EAG/g), *Spathodea campanulata* (12,50 ± 1,97 mg EAG/g) e *Delonix regia* (60,77 ± 4,65 mg EAG/g).

Já o extrato hexânico apresentou um valor mais baixo, e esse resultado pode ser decorrente ao fato que os compostos fenólicos possuem uma afinidade melhor com as estruturas dos solventes orgânicos polares, uma vez que estes são encontrados na natureza em forma de ésteres ou de heterosídeos (Oldoni, 2007).

5.2.5 Análise da atividade antioxidante

5.2.5.1 Sequestro do radical DPPH

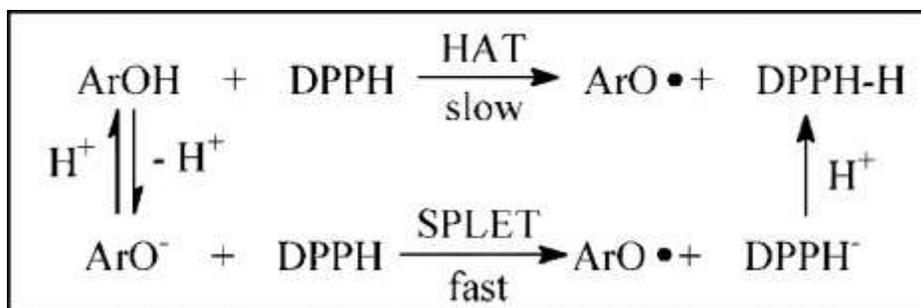
Um dos métodos para se avaliar a capacidade antioxidante de uma substância, é através do reagente DPPH que consiste em uma molécula com um radical livre estável, que possui coloração violeta, com absorção em cerca de 520nm. A metodologia se fundamenta por meio da capacidade

antioxidante da substância em sequestrar o radical DPPH transferindo um átomo de hidrogênio, resultando em uma redução de um radical para hidrazina, e originando uma solução cuja coloração é amarela (Alves *et al.*, 2010).

Existem dois tipos de mecanismos de reação para se determinar a capacidade antioxidante: por meio da transferência de átomos de hidrogênio (HAT) ou através da perda sequencial de próton na transferência de elétrons (SPLET) (Gülçin, 2012).

A diferença entre os dois métodos é que o primeiro consiste na transferência direta do átomo de hidrogênio para o DPPH radical e no segundo ocorre a desprotonação formando o ânion fenólico (ArO^-) e posteriormente o DPPH recebe um elétron, formando o ânion DPPH^- que doa o seu par de elétrons e se forma a hidrazina DPPH-H (Liu, 2010). A Figura 27 mostra o esquema das reações.

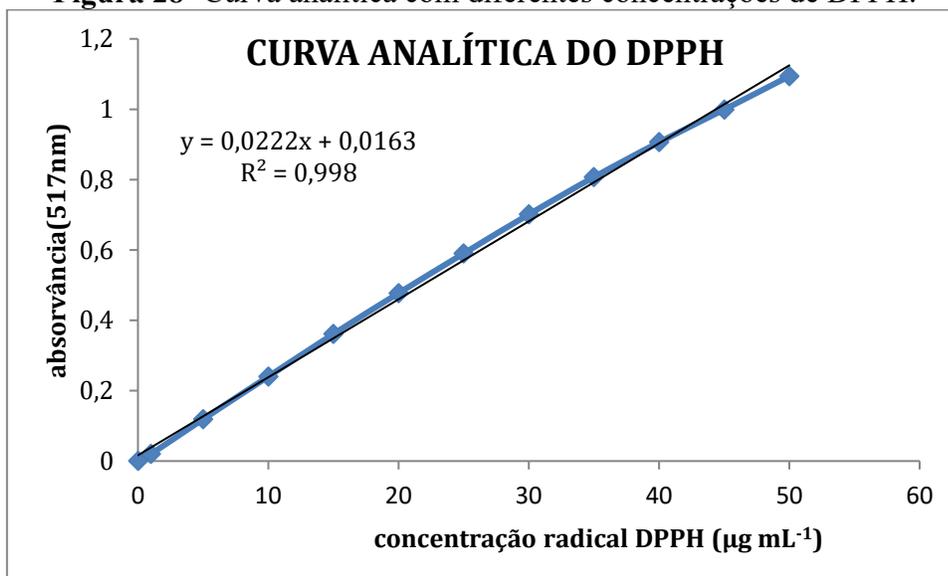
Figura 27- Mecanismo de reação entre o DPPH e compostos fenólicos.



Fonte: LIU (2010)

A mudança de coloração (violeta para amarelo) através desse método pode ser monitorada por meio de um espectrofotômetro UV/visível que permite a determinação da capacidade antioxidante.

Mediante a leitura da absorbância para as amostras determinadas do DPPH, foi elaborado uma curva analítica, conforme mostra na Figura 28. Essa curva analítica demonstra que o reagente DPPH está apresentando um comportamento linear.

Figura 28- Curva analítica com diferentes concentrações de DPPH.

Fonte: a autora

Os resultados obtidos da capacidade antioxidante usando o DPPH é expresso em porcentagem de redução do DPPH. Ou seja, os resultados são apresentados em Concentração eficiente 50% (CE_{50}), que é definido com a quantidade de antioxidante necessário para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50% (Brand-Williams; Berset, 1995). Essas informações são apresentadas na Tabela 13.

Tabela 13 - Resultados de CE_{50} da análise da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH dos extratos das folhas da *P. granulosum*.

Amostra	CE_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Extrato em etanol	$6,07 \pm 0,28$
Extrato em hexano	$206,08 \pm 25,50$

Fonte: a autora

O extrato etanólico das folhas, apresentou uma ótima atividade antioxidante. Isso porque quanto menor o valor de CE_{50} , maior a atividade antioxidante da substância, pois dessa forma será necessária uma menor concentração para se obter os 50% da atividade antioxidante, conforme estabelecido por Reynertson, Basile e Kennelly (2005): uma amostra é considerada muito ativa se apresentar um CE_{50} menor que $50 \mu\text{g/mL}$, moderadamente ativa se o CE_{50} for de $50-100 \mu\text{g/mL}$, levemente ativa de $100-200 \mu\text{g/mL}$, e é considerada inativo se o valor for acima de $200 \mu\text{g/mL}$.

Com isso, pode-se concluir através da análise da Tabela 13 que o extrato hexânico é inativo para atividade antioxidante, devido ao seu valor ter sido acima de 200 µg/mL. A concentração eficiente de outras plantas da família Melastomataceae foram analisadas, e os dados podem ser verificados por meio da Tabela 14.

Tabela 14 - Valores de CE₅₀ para outras espécies da família Melastomataceae.

Espécies	Parte da Planta	Solvente	CE ₅₀ (µg/mL ⁻¹)	Referência
<i>Melastoma malabathricum</i> L.	Fruto	Etanol	16,82±0,24	ISNAINI <i>et al.</i> , 2019
<i>Miconia albicans</i>	Folhas	Metanol	49,45±0,0050	PIERONI <i>et al.</i> , 2011
<i>Tibouchina mollis</i>	Flores	Metanol	8,82 ± 0,15	SOLARTE <i>et al.</i> , 2022
<i>Tibouchina pereirae</i>	Aéreas	<i>n</i> -Hexano	15,33 ± 0,01	DIAS <i>et al.</i> , 2016
<i>Tibouchina urvilleana</i>	Flores	Metanol	14,62 ± 0.17	SOLARTE <i>et al.</i> , 2022

Fonte: a autora

No presente estudo, a capacidade antioxidante sequestrante do radical de DPPH tem valores próximos ao apresentado por outros autores, embora não tenha muitos estudos da literatura sobre a capacidade antioxidante pelo método do DPPH acerca do gênero *Pleroma*, esse assunto já foi reportado para a família Melastomataceae. Uma planta relevante dentro dessa família é a do gênero *Miconia* que vem sendo relatada por possuir uma boa capacidade antioxidante, atividade anti-inflamatória e um elevado teor de compostos fenólicos (Côrrea *et al.*, 2021). Pieroni e colaboradores (2011) avaliaram o extrato metanólico das folhas da *Miconia albicans* (sw.) Triana (canela-de-velho), e o resultado apresentou uma alta capacidade de redução da concentração de DPPH.

Em um trabalho realizado por Dias (2016) acerca da *Pleroma pereirae* (reportada como *Tibouchina pereirae*), a atividade antioxidante do extrato *n*-hexânico foi comprovada por meio do ácido ascórbico e hidroxitolueno butilado como padrões, apresentando CE₅₀ de 15,33 µg/mL, valor esse que pode ser justificado pela presença de flavonoides presentes na planta.

Ambas espécies *Pleroma urvilleanum* (reportada como *Tibouchina urvilleana*) e *Tibouchina mollis* foram identificadas como fontes notáveis de capacidade antioxidante, o extrato das pétalas foi macerado com metanol e ácido acético e, posteriormente, foi identificado um valor de CE₅₀ 14,62±0,17 e 8,82±0,15 µg/mL respectivamente. Esse resultado é decorrente da presença de antocianinas e flavonoides nas flores das plantas.

A capacidade antioxidante pode ser impactada por alguns fatores como o solvente, temperatura, tempo de extração, proporção solvente-sólido, condições de armazenamento, condições e etapas da oxidação, formação e estabilidade dos radicais (Alves, 2020; Rockenbach, 2008). O etanol e o metanol são solventes bastante utilizados, pela facilidade da doação de um átomo de hidrogênio, influenciando no aumento da solubilidade e na taxa constante de transferência de hidrogênio para o radical DPPH (Alves, 2020).

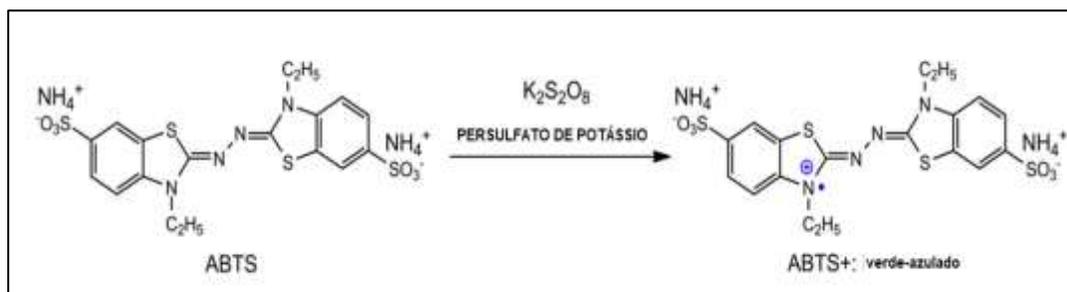
Através dos resultados relatados pela literatura, percebe-se que a *P. granulorum* apresentou uma ótima quantidade de atividade antioxidante e possivelmente isso pode estar atrelado aos compostos presentes na planta.

5.2.5.2 Atividade antioxidante pelo método ABTS

Em estudos de avaliação da atividade antioxidante, um conjunto de métodos se baseia na redução do radical ABTS[•] que é uma espécie química relativamente estável formada pela oxidação do ácido 2,20-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) por um elétron. Esse radical possui a capacidade de absorver luz visível, resultando em soluções com coloração verde-azulada. Portanto, por meio de medidas de absorvância, é possível quantificar facilmente as variações na concentração do radical ABTS[•]. O método comumente empregado é expresso como Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC). Esse método é caracterizado por sua rapidez e pela sua aplicabilidade em uma ampla faixa de valores de pH, tanto em sistemas solventes aquosos quanto orgânicos. Além disso, apresenta uma boa repetibilidade e é de fácil execução. (Kut *et al.*, 2022; Ratnavathi; Komala, 2016).

A formação do radical ABTS[•] não ocorre naturalmente e não está disponível comercialmente. Para obter esse radical, é necessário provocar a perda de um elétron a partir do átomo de nitrogênio presente na molécula do ABTS. Isso pode ser feito por meio de reações químicas, enzimáticas ou eletroquímicas, utilizando substâncias como persulfato de potássio, dióxido de manganês ou di-hidroclorato de 2,20-azobis-(2-amidino-propano) (AAPH). Essas reações promovem a oxidação do ABTS, resultando na formação do radical ABTS[•] que é utilizado na análise da atividade antioxidante (Echegaray *et al.*, 2021).

Figura 29- Formação de radical ABTS a partir de ABTS com persulfato de potássio



Fonte: XIAO *et al.*, (2020)

Quando antioxidantes são adicionados ao cátion radical pré-formado, eles reduzem a quantidade de ABTS presente, e a extensão dessa redução varia de acordo com a atividade antioxidante, a concentração do antioxidante e o tempo de reação. Dessa forma, a redução da intensidade de cor, representada como a porcentagem de inibição do radical catiônico ABTS^{•+}, é determinada em função da concentração e do tempo, sendo calculada em relação à reatividade padrão do Trolox, que serve como uma referência para a atividade antioxidante (Re *et al.*, 1999; Becker, 2019).

O resultado da análise da atividade antioxidante pelo método ABTS foi expresso em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox ($\mu\text{mol ET. g}^{-1}$). A atividade foi determinada por meio de uma comparação realizada através de uma curva analítica de um gráfico da absorbância da reação entre o Trolox e o reagente ABTS. A partir de soluções padrões do Trolox em diferentes concentrações (x) e suas absorbâncias (y) obteve-se uma equação por regressão linear: $y = -0,0259x + 1,0543$. Os dados podem ser observados pela Tabela 15.

Tabela 15- Resultados da Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox da análise da atividade antioxidante pelo método ABTS dos extratos das folhas da *P. granulosum*.

Amostra	$\mu\text{mol ET. g}^{-1}$
Extrato em etanol	3068,00 \pm 123,60
Extrato em hexano	24,10 \pm 6,50

Fonte: A autora

O resultado obtido para a capacidade antioxidante do extrato etanólico de 3068,00 $\mu\text{mol ET. g}^{-1}$ indica uma significativa atividade antioxidante. Quanto maior o valor de capacidade

antioxidante expresso em $\mu\text{mol ET. g}^{-1}$, maior é a atividade antioxidante do extrato em relação ao Trolox. Isso sugere que o extrato possui a capacidade de interagir com os radicais livres, que são moléculas instáveis e potencialmente prejudiciais, auxiliando na sua neutralização ou redução de seus efeitos danosos.

Quando confrontados os valores TEAC encontrados neste estudo para a *P. granulosum* com valores TEAC obtidos de outras plantas da mesma família, alguns estudos apresentaram atividades antioxidantes consideráveis empregando o método ABTS. Pereira (2013) relatou que frações mais polares do extrato bruto da fração etanólica das partes aéreas *Microlicia crenulata* (DC.) Mart. apresentaram maior atividade antioxidante e os melhores resultados foram obtidos para a fração etanólica ($2.310 \mu\text{mol ET. g}^{-1}$). O extrato etanólico da *Osbeckia parvifolia* apresentou um valor significativamente atingindo $8071,0 \pm 597,7 \mu\text{mol ET. g}^{-1}$ foi constatado altos teores de fenólicos totais, incluindo taninos e flavonoides (Murugan; Parimelazhagan, 2013). Outra planta que apresentou um resultado interessante foi a *Tibouchina kingii* $3590 \pm 48 \mu\text{mol ET. g}^{-1}$ para o extrato aquoso (Jiménez *et al.*, 2015).

5.2.5.3 Atividade Antioxidante pelo método FRAP

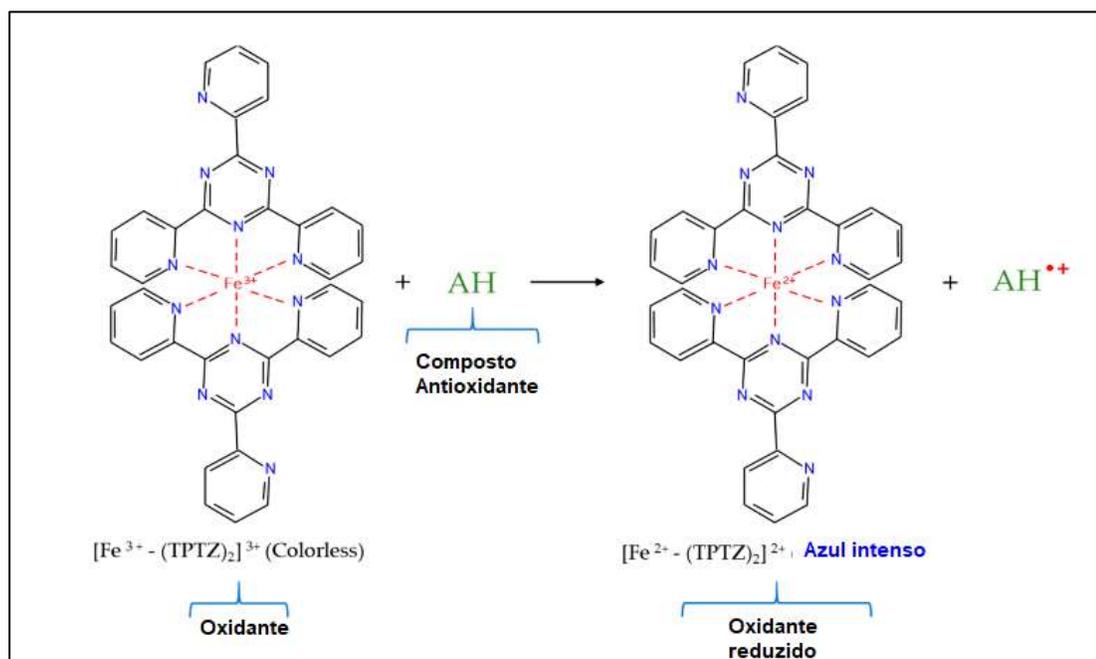
O ensaio de Poder Antioxidante Redutor de Férrico (*Ferric Reducing Antioxidant Power - FRAP*) é um método utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de uma substância ou amostra. Ele é baseado na capacidade de um antioxidante em reduzir (transferência de elétrons) íons Fe^{3+} para Fe^{2+} na presença de TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina), formando um complexo Fe^{2+} - TPTZ azul intenso, sendo monitorado pela medição da variação na absorbância em 593 nm. (Jiménez-Estrada *et al.*, 2013; Rajurkar; Hande, 2011).

O teste FRAP é conduzido em um ambiente ácido a fim de garantir a solubilidade do ferro. A redução do pH reduz o potencial de ionização, promovendo a transferência de elétrons e aumentando o potencial redox, com a formação de radical ariloxila (Munteanu; Apetrei, 2021; Spiegel *et al.*, 2020). A Equação 04 apresenta a equação química desse processo.



Dessa forma, o radical ariloxila formado durante o ensaio FRAP é um indicador da capacidade da substância em reduzir o íon férrico e, conseqüentemente, sua atividade antioxidante. Quanto maior for a quantidade de radical ariloxila formado, maior será a capacidade do antioxidante em reduzir o íon férrico, indicando uma maior atividade antioxidante. Um esquema dessa reação pode ser visualizado por meio da Figura 30.

Figura 30 - Reação do *FRAP*



Fonte: Echegaray *et al.*, (2021)

O resultado da análise da atividade antioxidante pelo método FRAP foi expresso em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox ($\mu\text{mol ET} \cdot \text{g}^{-1}$). A atividade foi determinada por meio de uma comparação realizada através de uma curva analítica de um gráfico da absorbância da reação entre o Trolox e o reagente FRAP. A partir de soluções padrões do Trolox em diferentes concentrações (x) e suas absorbâncias (y) obteve-se uma equação por regressão linear: $y = 0,0725x + 0,0305$. Os dados podem ser observados pela Tabela 16.

Tabela 16- Resultados da Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox da análise da atividade antioxidante pelo método FRAP dos extratos das folhas da *P. granulosum*.

AMOSTRA	$\mu\text{mol ET. g}^{-1}$
Extrato em etanol	$736,09 \pm 7,97$
Extrato em hexano	$180,41 \pm 2,21$

Fonte: A autora.

No caso do extrato em etanol, foi observada uma atividade antioxidante significativa de $736,09 \pm 7,97 \mu\text{mol ET. g}^{-1}$. Por outro lado, o extrato em hexano apresentou uma atividade antioxidante um pouco mais baixa, medida em $180,41 \pm 2,21 \mu\text{mol ET. g}^{-1}$.

Em um estudo realizado por Ramírez-Atehortúa e colaboradores (2018), foram analisados os extratos hidroalcoólicos de três plantas da família Melastomataceae: *Cuphea calophylla*, *Tibouchina kingii* e *Pseudelephantopus spirali*. Os resultados mostraram que o extrato de *Cuphea calophylla* apresentou uma atividade antioxidante de $1761,92 \pm 3,05 \mu\text{mol ET. g}^{-1}$, o extrato de *Tibouchina kingii* mostrou uma atividade ainda mais alta de $4097,58 \pm 2,89 \mu\text{mol ET. g}^{-1}$, enquanto o extrato de *Pseudelephantopus spirali* apresentou uma atividade antioxidante de $835,31 \pm 2,50 \mu\text{mol ET. g}^{-1}$. Esses resultados ressaltam a importância dessas plantas como fonte potencial de compostos bioativos com propriedades antioxidantes.

5.2.6 Atividade antifúngica

Atualmente, a pesquisa de novos compostos antimicrobianos derivados de extratos vegetais e outros produtos naturais recebe grande atenção. O objetivo desses estudos é encontrar substâncias que tenham atividade antifúngica comparável aos agentes convencionais, mas com menor toxicidade, maior eficácia contra a resistência de microrganismos patogênicos e menor impacto ambiental. Isso busca a criação de alternativas terapêuticas mais seguras e sustentáveis para combater as infecções microbianas, minimizando os danos ao organismo e ao meio ambiente (Bona *et al.*, 2014). Métodos de diluição são utilizados para avaliar a suscetibilidade antimicrobiana, determinando a menor concentração do agente capaz de inibir o crescimento do organismo testado. Entre esses métodos, a microdiluição é mais econômica e menos trabalhosa que a macrodiluição, pois requer menores quantidades de meio de cultura, reagentes e agentes testados (Golus *et al.*, 2016).

A atividade antifúngica dos extratos foi avaliada pelo método de microdiluição de caldos e o resultado em Concentração Inibitória Mínima (CIM) contra diferentes espécies de fungos. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela a seguir, destacando as concentrações necessárias para inibir o crescimento visível dos fungos testados. A análise desses resultados permite avaliar a eficácia dos extratos como potenciais agentes antifúngicos e direcionar estudos adicionais para investigar sua seletividade e mecanismos de ação. A tabela 17 apresenta a CIM obtidos utilizando-se os extratos da planta estudada.

Tabela 17 -Concentrações inibitórias mínima (CIM) dos extratos e óleo essencial das folhas de *P.granulosum*.

MICRORGANISMOS	Concentração inibitória mínima (CIM) $\mu\text{g.mL}^{-1}$		
	Extratos Brutos		
	EH FOLHAS	EE FOLHAS	Óleo essencial
<i>Candida albicans</i> (ATCC 28366)	>3000	2,93	>3000
<i>Candida glabrata</i> (ATCC 15126)	3000	1,46	>3000
<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 13803)	>3000	11,72	>3000
<i>Candida parapsilosis</i> (ATCC 22019)	>3000	1,46	>3000

Nota: EH- Extrato hexânico e EE- Extrato etanólico, Concentração do controle positivo gentamicina: 0,0115 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 5,90 $\mu\text{g mL}^{-1}$; antofericina B = 0,031 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 16,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Os resultados obtidos para o extrato hexânico das plantas contra as espécies *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis* demonstraram concentrações inibitórias mínimas (CIM) >3000 $\mu\text{g/mL}$. Esses valores indicam as concentrações necessárias do extrato para inibir o crescimento visível dos fungos testados. No entanto, é importante destacar que essas concentrações estão relativamente altas em comparação com os valores considerados significativos, que geralmente são inferiores a 100 $\mu\text{g/mL}$. Por outro lado, os resultados obtidos para o extrato etanólico mostraram uma atividade antifúngica potencialmente mais significativa. A CIM do extrato etanólico foi inferior a 100 $\mu\text{g/mL}$, o que, de acordo com alguns estudos, indica uma boa atividade antimicrobiana (Holetz et al., 2002; Kuete, 2020). Isso sugere que o extrato etanólico pode ser mais eficaz no combate às espécies de *Candida* testadas e quanto ao extrato hexânico, não houve uma atividade antifúngica.

Estudos foram realizados com o objetivo de investigar a atividade antimicrobiana da *Pleroma granulosum*. Filho, Ventura e Castro (2021) realizaram pesquisas utilizando o extrato floral hidroetanólico dessa planta, e observaram inibições significativas contra *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* nas maiores concentrações testadas, variando de 100 a 50 mg/mL. Os pesquisadores acreditam que essa inibição do crescimento está associada aos principais grupos presentes na prospecção fitoquímica do extrato floral, tais como alcaloides, compostos fenólicos e saponinas. Esses resultados sugerem o potencial da *Pleroma granulosum* como uma fonte de compostos antimicrobianos, e reforçam a importância da investigação dos fitoquímicos presentes no extrato floral como possíveis agentes terapêuticos contra infecções causadas por esses microrganismos.

Estudos comparativos envolvendo diferentes espécies de *Pleroma* foram encontrados na literatura, nos quais foi observada uma eficácia moderada na inibição de bactérias e fungos. Em uma pesquisa realizada por Santos *et al.*, (2012), foram identificados compostos isolados dos extratos de órgãos aéreos da *Pleroma candolleianum*, como os ácidos ursólico e oleanólico, que demonstraram uma ação bacteriostática efetiva contra a espécie *Bacteroides fragilis* (CIM de 20 µg. mL⁻¹). Além disso, esses compostos mostraram eficácia contra outras bactérias testadas, como *Actinomyces naeslundii*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella nigrescens*.

A CIM do óleo essencial foi determinada, revelando um valor consistente de 3000 µg/mL para todas as espécies testadas. Esse resultado indica que o óleo essencial não apresentou uma atividade antifúngica significativa nas concentrações avaliadas contra as espécies investigadas.

5.2.7 Anotação dos compostos no extrato etanólico por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução

A avaliação da composição do extrato etanólico, em vez do extrato hexano, foi motivada pela atividade biológica promissora observada no extrato etanólico. Dessa forma, a anotação dos compostos presentes nos extratos foi conduzida utilizando uma abordagem analítica que combina a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com a espectrometria de massas (EM), sendo acoplada a um sistema de ionização por electrospray (IES). Durante as análises, foram obtidos espectros nos modos de ionização negativo e positivo, nos quais foram registrados os valores de

razão massa/carga (m/z) dos íons detectados, juntamente com o erro em partes por milhão (ppm) atribuído a cada composto identificado. Esses dados espectrométricos, como os valores de m/z e os erros em ppm, são essenciais para a identificação e a caracterização dos compostos presentes nos extratos. Eles fornecem informações sobre a massa molecular, a fragmentação dos íons e a composição química dos compostos, permitindo uma análise detalhada de suas propriedades estruturais.

A Figura 31 apresenta o cromatograma do pico base (BPC) nos modos positivo e negativo, enquanto a Tabela 18 contém as propostas de anotação dos compostos presentes no extrato etanólico da *Pleroma granulorum*. Essa identificação foi realizada por meio do cálculo da fórmula molecular a partir da massa experimental em alta resolução, levando em consideração o erro em ppm. Além disso, foram comparados os espectros de massa EM/EM obtidos com dados da literatura. Os espectros EM/EM dos compostos podem ser encontrados no Apêndice A. As estruturas dos compostos identificados estão ilustradas na Figura 32.

Figura 31- Cromatograma em alta resolução no modo positivo (a) e modo negativo (b) do extrato etanólico da *P. granulorum*.

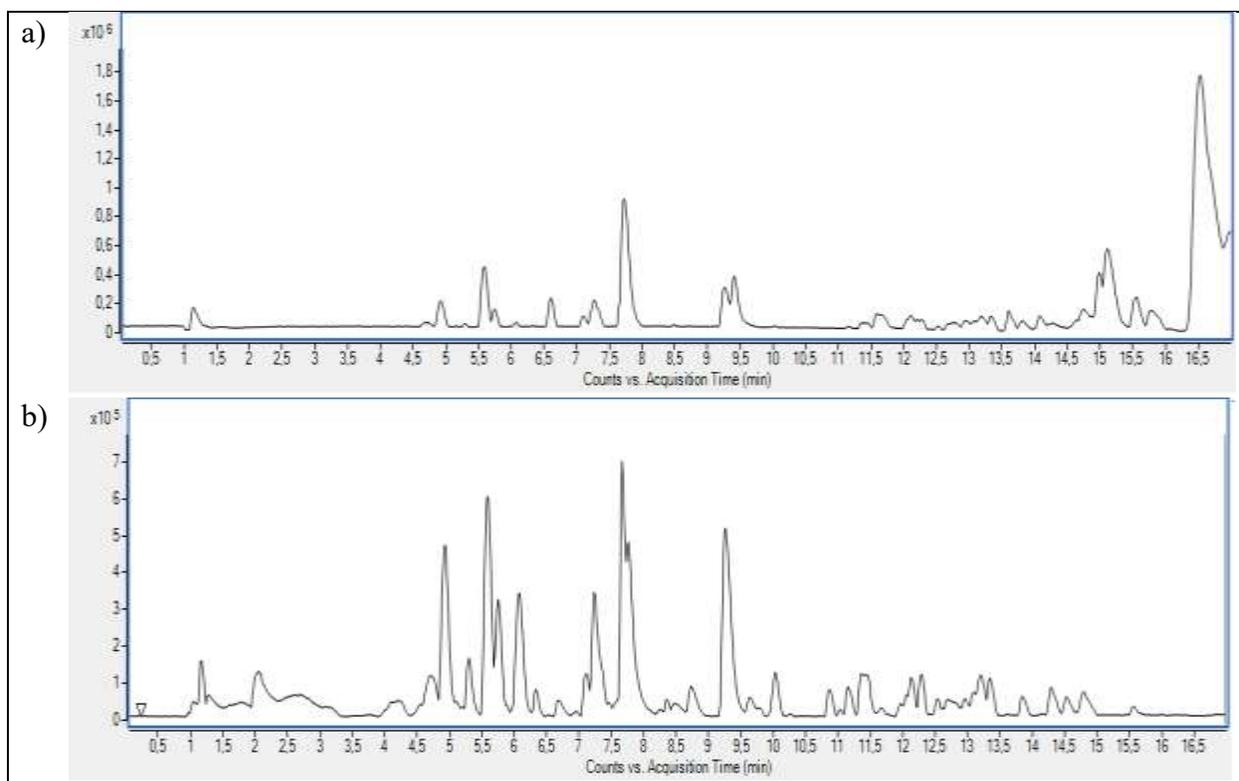


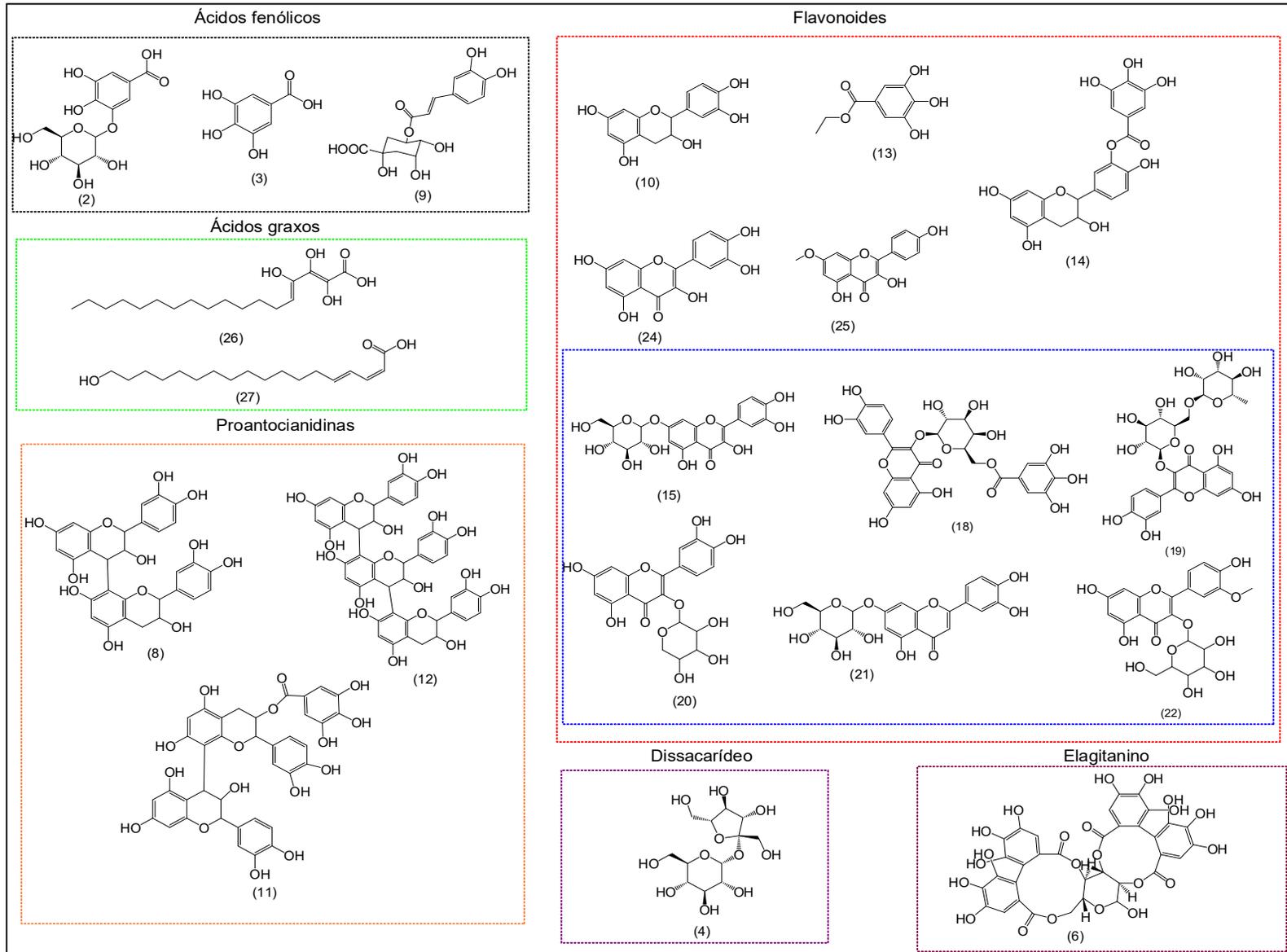
Tabela 18- Propostas de anotação dos compostos presentes no extrato etanólico da *Pleroma granulorum*

Tr (min)	Composto	Fórmula molecular	m/z experimental		Erro pppm	Fragmentos MS ²	Referências	
			[M-H] ⁻ / [M-H] ⁺	[M-H] ⁺				[M-H] ⁻ / [M-H] ⁺
1.	1,58	N.I	431,1393	-	-	341,179,89	-	
2.	1,83	Glicosídeo de ácido gálico	C ₁₃ H ₁₅ O ₁₀ ⁻	331,0670	331,0671	-0,3	169,125	(GARRIDO- BAÑUELOS, 2019) (SINGH <i>et al.</i> , 2016)
3.	2,01	Ácido gálico	C ₇ H ₅ O ₅ ⁻	169,0142	169,0142	0	125, 107,79	(WYREPKOWSKI <i>et al.</i> , 2014) (FATHONI <i>et al.</i> , 2017)
4.	2,05	Sacarose	C ₁₂ H ₂₁ O ₁₁ ⁻	/341,1083	341,1084	-0,29	179, 161,143,119,101	(PRADO, 2021)
5.	3,51	Ácido protocatecuico	C ₇ H ₅ O ₄ ⁻	153,0193	153, 0193	0	123, 109, 91	(BARREIRA <i>et al.</i> , 2014) (CHANDRADEVAN <i>et al.</i> , 2020)
6.	3,55	bis HHDP-glicose	C ₃₄ H ₂₃ O ₂₂ ⁻	783,0671	783,0686	-1,91	481, 301, 275	(SIMIRGIOTIS; SCHMEDA- HIRSCHMANN, 2010)
7.	3,56	N.I	-	617,0663	-	-	564,368, 300,275,249	-
8.	5,13	Proantocianidina tipo B dímero	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂ ⁻ /C ₃₀ H ₂₇ O ₁₂ ⁺	577,1352/ 579,1499	577,1351/ 579,1497	0,17/ 0,34	451, 425, 407, 289/ 427,409, 291, 127	(KISS; NARUSZEWICZ, 2012)

								(NOBRE, 2017)/ (SANTANA, 2017)
9.	5,16	Ácido 5-O-cafeoilquínico	$C_{16}H_{17}O_9^-$ $/C_{16}H_{19}O_9^+$	353,0875/355,1028	353,0878/355,1024	-0,84/ 1,12	191/135,145,163	(NOBRE,2019)
10.	4,68	(epi)/catequina	$C_{15}H_{13}O_6^-$	289,0718/ 291,0861	289,0718/ 291,0863	0/ -0,68	245,205,179,151, 125, 109/ 207,161,147, 139,123	(LI <i>et al.</i> , 2021)/ (SILVA, 2019)
11.	5,14	Dímero do galato de proantocianidina	$C_{37}H_{29}O_{16}^-$ $/C_{37}H_{31}O_{16}^+$	729,1454	729,1461	-0,96	577,559, 451,425, 407,289	(RODRIGUES, 2007) (BOREL, 2011) (GE <i>et al.</i> , 2015)
12.	5,31	Proantocianidina do tipo B trímero	$C_{45}H_{37}O_{18}^-$ $/C_{45}H_{39}O_{18}^+$	865,1952/ 867,2144	865,1985/867,2131	-3,8/ 1,49	713,695,577,287/ 579,289	(KISS; NARUSZEWICZ, 2012) (NOBRE, 2017)/ (ROUTABOUL <i>et al.</i> , 2006)
13.	6,09	Galato de etila	$C_9H_9O_5^-$	197,0455	197,0455	0	169,124,78	(SINGH <i>et al.</i> , 2016).
14.	6,14	(epi)/catequina 3'-O-galato	$C_{22}H_{17}O_{10}^-$	441,0827	441,0827	0	289,245,169,125	(SINGH <i>et al.</i> , 2016).
15.	6,74	Quercetina 7-O-glicosídeo	$C_{21}H_{19}O_{12}^-$	463,0882	463,0882	0	301, 300	(CHEN <i>et al.</i> , 2016)
16.	6,91	N.I	-	497,1445	-	-	289,341,245, 205,160	-
17.	6,83	N.I	-	255,2329	-	-	228,193, 165,132, 147	-
18.	6,93	Quercetina-O-(O-galoil)- hexosídeo	$C_{28}H_{23}O_{16}^-$	615,0982	615,0992	-1,63	463,301	(LUZ, 2019) (ERSAN <i>et al.</i> , 2016)

19.	7,26	Quercetina-3-O-rutinosídeo	$C_{27}H_{29}O_{16}^-$	609,1452	609,1461	-1,47	300,301	(PIANOSKI <i>et al.</i> , 2020) (CAROCHO <i>et al.</i> , 2014)
20.	7,48	Quercetina-O- pentosídeo	$C_{20}H_{17}O_{11}^-$	433,0773	433,0776	-0,69	300, 301,271, 255	(EK <i>et al.</i> , 2006)
21.	7,16	Luteolina-7-O-glicosídeo	$C_{21}H_{19}O_{11}^-$	447,0927	447,0933	-1,34	285,284	(LI <i>et al.</i> , 2016)
22.	7,34	Isorhamnetina 3-O-hexosídeo	$C_{22}H_{21}O_{12}^-$	477,1032	477,1038	-1,25	315,314,299,271	(MOSIC <i>et al.</i> , 2019)
23.	7,82	N.I	-	-	461,1075	-	446,297,283	-
24.	8,6	Quercetina	$C_{16}H_{11}O_6^-$	301,0347	301,0354	-2,34	273,245,151,121,107	(ZHANG <i>et al.</i> , 2018) (SILVA <i>et al.</i> , 2019)
25.	9,56	rhamnocitrina	$C_{18}H_{31}O_5^-$	299,0556	299,0561	-1,67	284,283,256,255,240,227	(CHEN <i>et al.</i> , 2016)
26.	9,68	ácido tri- hidroxioctadecadienoico	$C_{18}H_{33}O_5^-$	327,2170	327,2177	-2,13	229,211,183,171,151,127	(SILVA <i>et al.</i> , 2019)
27.	10,12	ácido hidroxioctadecadienoico	$C_{15}H_9O_7^-$	329,2327	329,2333	-1,82	229,211,171,139	(SILVA <i>et al.</i> , 2019)
28.	12,35	N.I	-	721,3625	-	-	675,415, 397,277, 235	-
29.	14,17	N.I	-	505,3009	-	-	483,255,233, 205,113	-
30.	16,65	N.I	-	619,2908	-	-	518,504,445,107	-

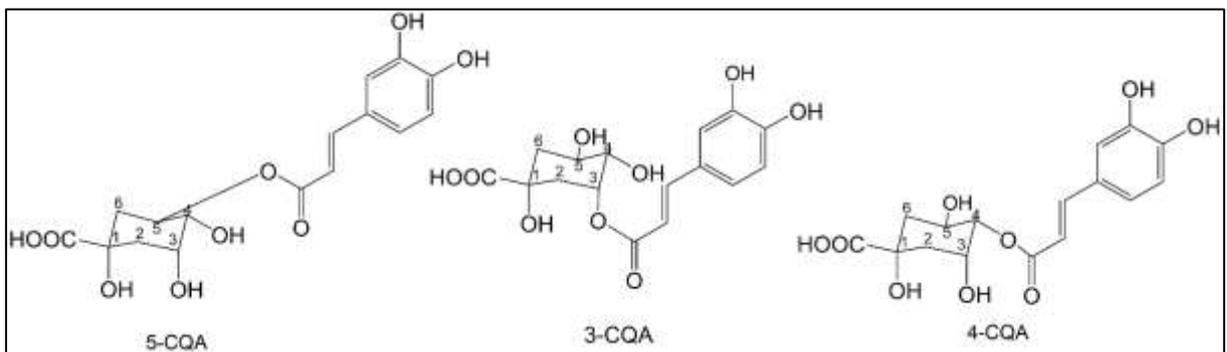
Figura 32- Estruturas dos compostos identificados no extrato etanólico da *P. granulosum*



A análise por espectrometria de massa revelou uma diversidade de compostos pertencentes a diferentes classes químicas. Entre eles, destacam-se os ácidos fenólicos, como o ácido gálico e o ácido protocatecuico, que são conhecidos por suas propriedades antioxidantes e potenciais benefícios à saúde. Um outro exemplo dessa classe, encontrado na análise é o ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA), que é um composto pertencente à classe dos ácidos cafeoilquínicos, oriundo da esterificação do ácido quínico com um C₆-C₃ trans-hidroxicinâmico (ácido-*p*-cumárico, ácido cafeico, ferúlico e sinápico).

Esses ácidos apresentam um isomerismo conformacional e régio-isomerismo, o que torna difícil a descrição corretamente (Clifford *et al.*, 2017). As maiores discrepâncias surgem na classificação de dois compostos pertencentes aos ácidos cafeoilquínicos, nomeadamente o 5-CQA e o ácido 3-cafeoilquínico (3-CQA), que frequentemente são confundidos. Se utilizarmos nomes triviais, é comum denominá-los ácido clorogênico e ácido neoclorogênico, respectivamente (Kremr *et al.*, 2016). Um outro isômero comum é o ácido 4-cafeoilquínico (4-CQA), cujo nome trivial é ácido criptoclorogênico (Maria; Moreira, 2004). A Figura 33 apresenta esses isômeros mencionados.

Figura 33- Isômeros do ácido 3,4 e 5-cafeoilquínico



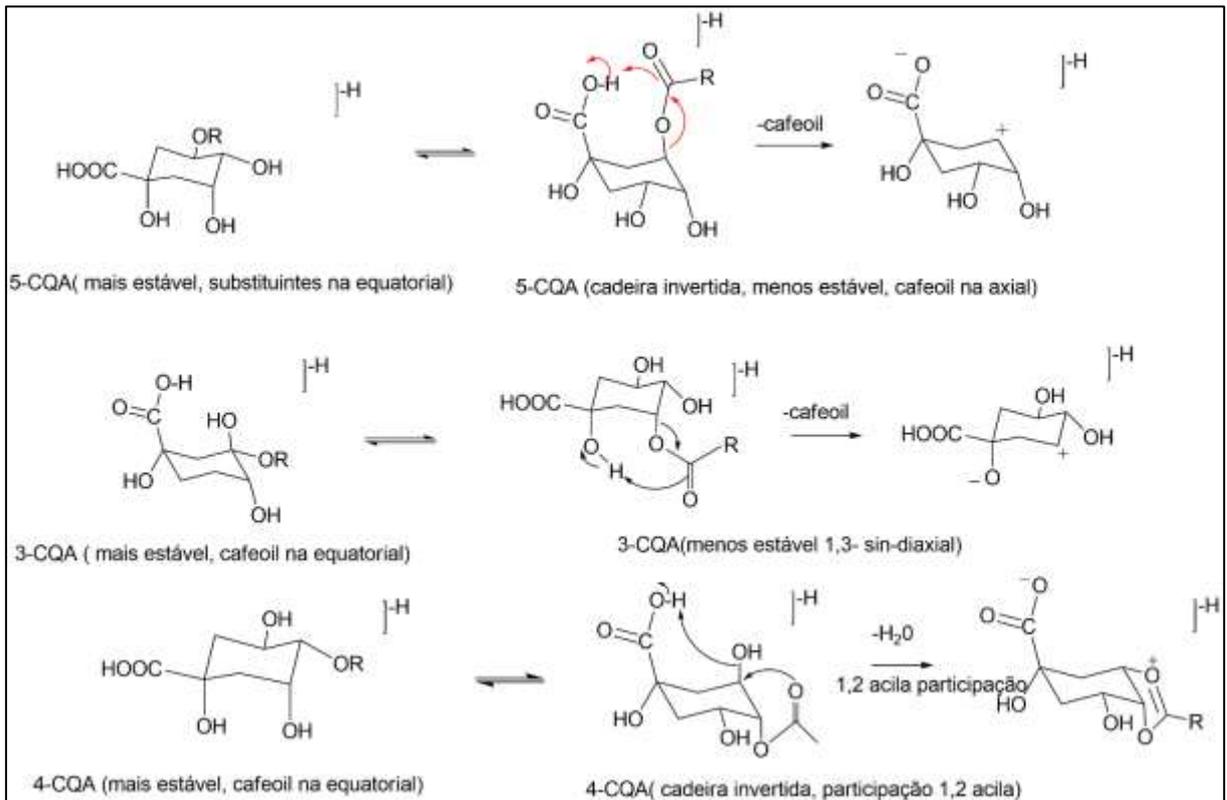
Fonte: Adaptado de Clifford, Knight e Kuhnert (2005).

Dados da literatura afirmam que esses isômeros (posicionais) embora apresentem padrões de fragmentação semelhantes, os mesmos podem ser diferenciados. Todos esses íons apresentam íons moleculares protonados e desprotonados em m/z 355 e m/z 353 respectivamente (Costa *et al.*, 2020). Nemzer, Kalita e Abshiru (2021) afirmam que o 3-CQA produziu três fragmentos principais: m/z 135, 179 e 191, enquanto que o 5-CQA gerou apenas um íon fragmento principal em m/z 191. Já o 4-CQA apresentou fragmentos em m/z 135, 173, 179 e 191. Szyborska, Franski e Beszterda-Buszczyk (2022) corroboram com essa afirmação e ainda complementam que o 3-CQA produz em abundância o íon m/z 179, enquanto

o m/z 173 é abundante no 4-CQA. O fragmento m/z 191 [ácido quínico-H]⁻ é formado durante a quebra da ligação do éster, enquanto que a quebra da ligação C-O adjacente ao éster resulta na formação do íon m/z 179 [ácido cafeico-H]⁻ e do íon m/z 173 [ácido quínico-H₂O-H]⁻. O íon com m/z 135 é formado pela perda neutra de CO₂ (massa de 44 Da) a partir do íon [ácido cafeico - H]⁻ (Xie *et al.*, 2011).

O padrão das fragmentações está relacionado às diferentes configurações estereoisoméricas dos substituintes no ácido quínico. No caso do derivado de 5-acila, ocorre uma ligação de hidrogênio entre o grupo carboxila (COOH) e o substituinte 5-acila, em uma conformação de cadeira invertida (menos estável). No 3-CQA, a ativação ocorre por meio de uma interação de ligação de hidrogênio com o grupo hidroxila alcoólico na posição 01, entretanto o OH de um ácido carboxílico é mais ácido que um OH do grupo hidroxila alcoólico, dessa forma a perda do grupo cafeoil é mais propensa no 5CQA. Nos derivados de 4-acila, não ocorre uma ligação de hidrogênio que ative o grupo 4-acila. Entretanto, em uma conformação de cadeira invertida, o grupo COOH ativa o grupo 5-OH para eliminação assistida pela participação do grupo 1,2-acila, resultando na perda de uma molécula de água. Isso leva à formação de um fragmento característico com uma massa de carga (m/z) de 173. No 3-CQA, a eliminação de água é observada em menor intensidade, pois o resíduo acila não está em uma posição trans em relação à hidroxila vicinal. No 5-CQA, o grupo acila em posição 5 está trans em relação ao OH em C4. No entanto, a perda da hidroxila C4 através da participação do grupo acila em posição 1,2 não ocorre, pois exigiria a remoção de um próton que não está disponível nesse isômero específico em sua conformação reativa (Clifford *et al.*, 2003; Kuhnert; Said; Jaiswal, 2014). Na figura 34 abaixo apresenta um esquema representativo.

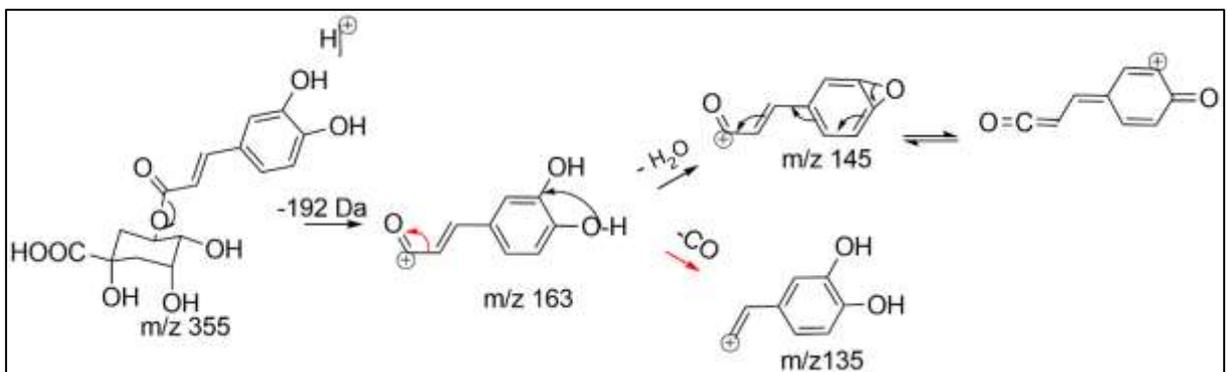
Figura 34- Esquema do padrão de fragmentações dos isômeros cafeoilquínico



Fonte Adaptado de Clifford *et al* (2003)

No modo positivo, são observados fragmentos derivados do ácido cafeico em m/z 355. O fragmento observado em m/z 163 corresponderia a um grupo cafeoil, que é derivado do ácido cafeico. A perda de uma molécula de H_2O indica que ocorreu uma reação de eliminação de água a partir do grupo cafeoil. Além disso, os fragmentos em m/z 145 e 135 são subsequentes à perda neutra de água e monóxido de carbono a partir do fragmento em m/z 163, respectivamente (Nobre, 2022).

Figura 35- Proposta de fragmentação do m/z 355 (modo positivo)

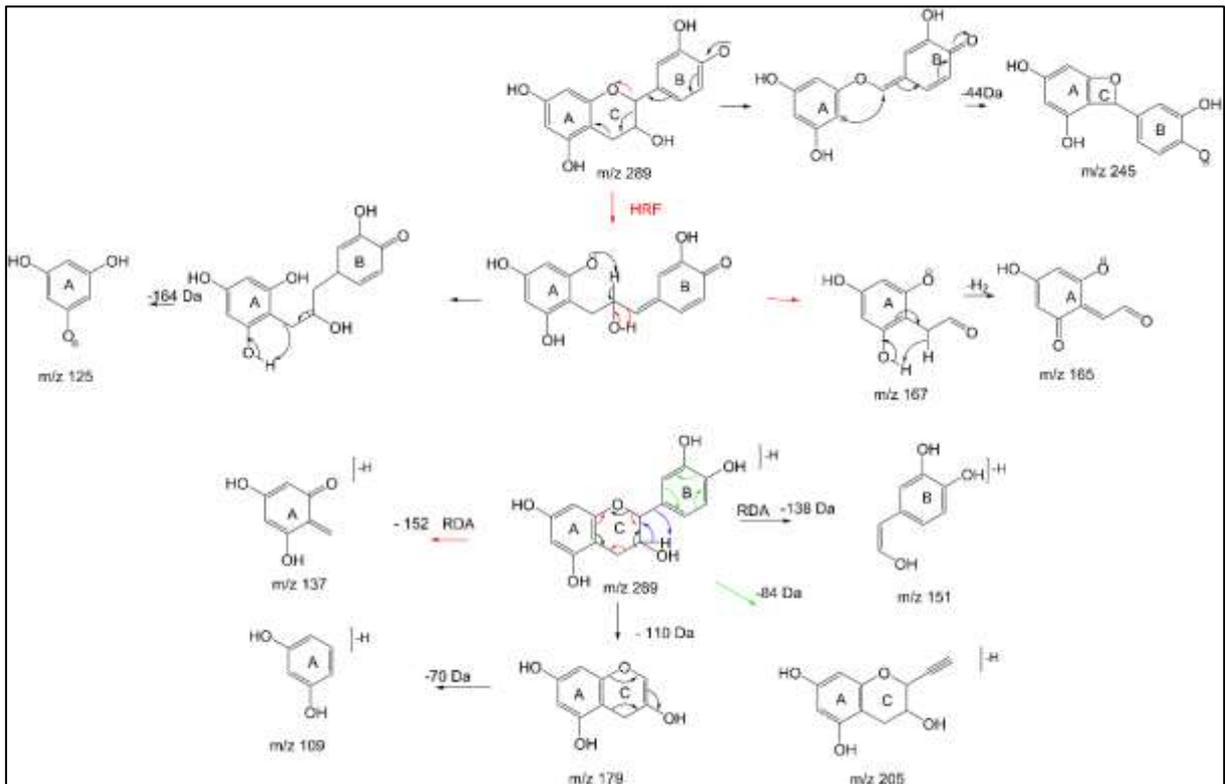


Fonte: A autora

Os flavonoides também são uma classe importante identificada na análise de espectrometria de massa. Os flavonoides são compostos amplamente distribuídos na natureza e possuem uma variedade de propriedades biológicas. Essa classe de compostos era esperada, já que por meio da prospecção fitoquímica foi possível identificar. Os flavonoides identificados foram: (epi) /catequina (10) e Quercetina (24) (glicosilada e não glicosilada), (epi) /catequina-3-*O*-galato (14), Luteolina (21) e Isorhamnetina glicosilada (22), Rhamnocitrina (25), Proantocianidinas do tipo B dímeros (8) e trímeros (12), dímeros do galato de proantocianidina (11).

O íon precursor ($[M-H]^-$) m/z 289 gerou como principais fragmentos os íons: 245, 205, 179, 165, 151, 137, 125, 109 e no modo positivo ($[M+H]^+$) m/z 291 gerou: 207, 161, 147, 139, 123. Esses íons conforme dados da literatura podem ser referentes a molécula desprotonada de (+) -catequina ou (-) -catequina/epicatequina que por serem flavonoides diastereoisômeros compartilham um padrão comum de fragmentação (Santana, 2017). O íon de fragmentação em m/z 245 é resultado da remoção de um grupo C_2H_4O . A quebra do anel A produz o íon de fragmentação em m/z 205. Adicionalmente, ocorre a eliminação de um grupo catecol ($C_6H_6O_2$), resultando no íon em m/z 179. O fragmento 165 pode ser resultado da eliminação do anel A, sendo formado por meio da fissão do anel heterocíclico (do inglês *heterocyclic ring fission*- HRF). O íon m/z 125 confirma essa fissão. Já o íon com m/z 137 é gerado pela clivagem retro-Diels-Alder (RDA) do anel C, como evidenciado pela presença do íon m/z 151. A perda dos anéis A e C rendeu íons a m/z 109 (Aboulthana *et al.*, 2022; Hamed *et al.*, 2014; Mutungi *et al.*, 2021; Said *et al.*, 2017). A Figura 35 mostra as fragmentações a partir do íon m/z 289.

Figura 36- Fragmentação do íon m/z 289 (modo negativo)



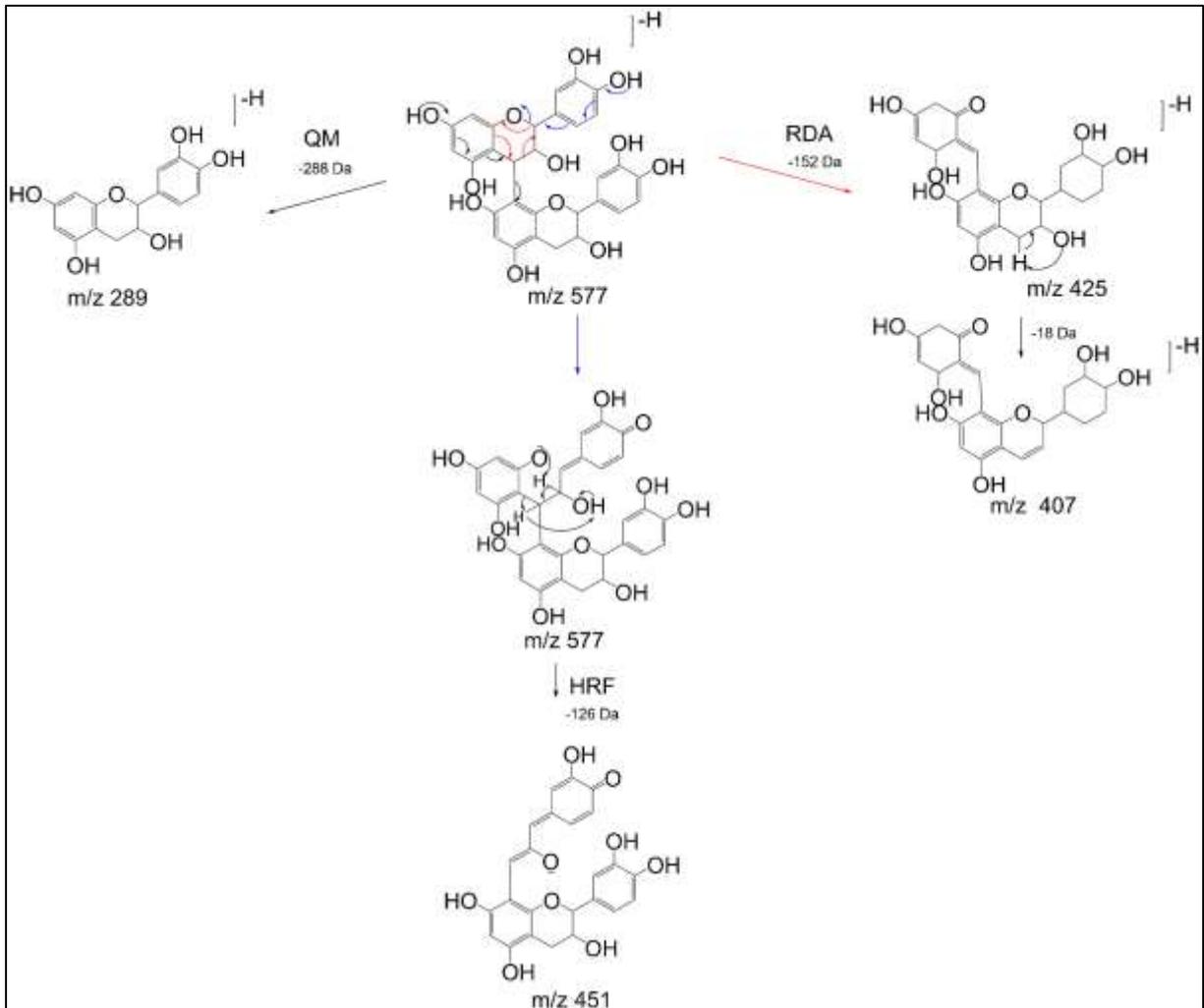
Fonte: A autora

Existem outros compostos que foram identificados e que possuem em sua estrutura o Flavan-3-ol, que é a maior classe dos flavonoides monoméricos, sendo uma das principais unidades para constituir as proantocianidinas (Aron; Kennedy, 2008). As proantocianidinas podem ser dímeros, trímeros e até mesmo heptâmeros e comumente são referidas como oligômeros, sendo que cadeias maiores geralmente são denominadas de poliméricas ou taninos (Aquino, 2018). Nessa pesquisa, através dos padrões de fragmentação revelou-se a presença de: dímeros de proantocianidinas tipo B em m/z 577; galato do dímero de proantocianidinas em m/z 729; e trímero das proantocianidinas do tipo B em m/z 865.

Henriques (2016) relata que a fragmentação das proantocianidinas do tipo B e C rege-se principalmente pela ocorrência de fissão RDA, fissão HRF e ainda por clivagem da ligação interflavânica através do mecanismo de “quinone methide” (QM). O íon m/z 577 indica a presença de proantocianidinas diméricas do tipo B e tem-se os seguintes fragmentos: m/z 451, m/z 425, m/z 407, m/z 289. O íon m/z 451 é formado por meio da fragmentação HRF através da eliminação da unidade superior do dímero (eliminando o anel superior A). A clivagem por RDA gera o íon m/z 425 com eliminação do anel superior B. Em seguida, RDA produz o produto íon m/z 407 ocasionado pela perda de água, e o m/z 289 é a representação da unidade monomérica,

que é formado pela clivagem interflavânica (C₄-C₈) via QM (Henriques, 2016; Rodrigues *et al.*, 2007; Santana, 2018). A Figura 36 apresenta esses fragmentos oriundo do *m/z* 577.

Figura 37- Fragmentação do íon *m/z* 577 (modo negativo)



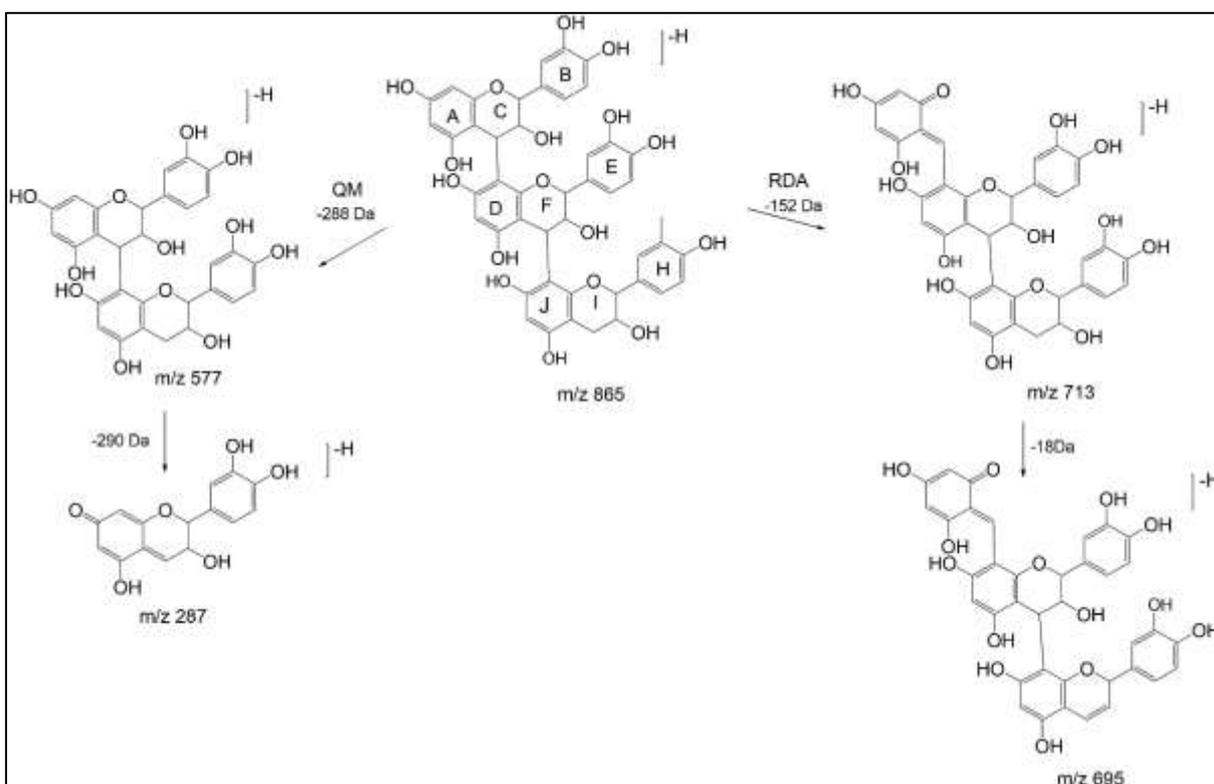
Fonte: Adaptado de Rodrigues *et al.*, (2007)

A Fragmentação ocorrida no íon precursor de *m/z* 729 resultou na geração dos fragmentos com *m/z* 577, que indica a liberação de um grupo galóila. Além disso, os fragmentos com *m/z* 559, 451, 425 e 407 são consistentes com a fragmentação típica dos dímeros de proantocianidinas. Por outro lado, a formação do íon *m/z* 289 está relacionada à liberação de um grupo galoil, seguido pela liberação de uma molécula de (epi) catequina ou, possivelmente, pela liberação de uma porção de (epi) catequina galato. Esses resultados estão em conformidade com as características de fragmentação observadas (Rockenbach, 2012).

O íon de *m/z* 865, que foi identificado como um trímero de proantocianidinas, apresentou picos de intensidade nos valores de *m/z* 713, 695, 577 e 287. Os íons de *m/z* 713 e

695 surgiram devido à ocorrência do mecanismo RDA (M-H-152), seguido por uma etapa de desidratação (M-H-152-18). A geração do íon de m/z 577 resultou da fragmentação QM, com a eliminação de 288 unidades (M-H-288) e uma clivagem entre os anéis C-D. Por fim, o íon de m/z 287 foi formado por meio de um mecanismo QM no anel D da unidade central do trímero (Escobar-Avello *et al.*, 2019; Magrini, 2016; Santana, 2017). A Figura 37 apresenta os fragmentos oriundo do m/z 865.

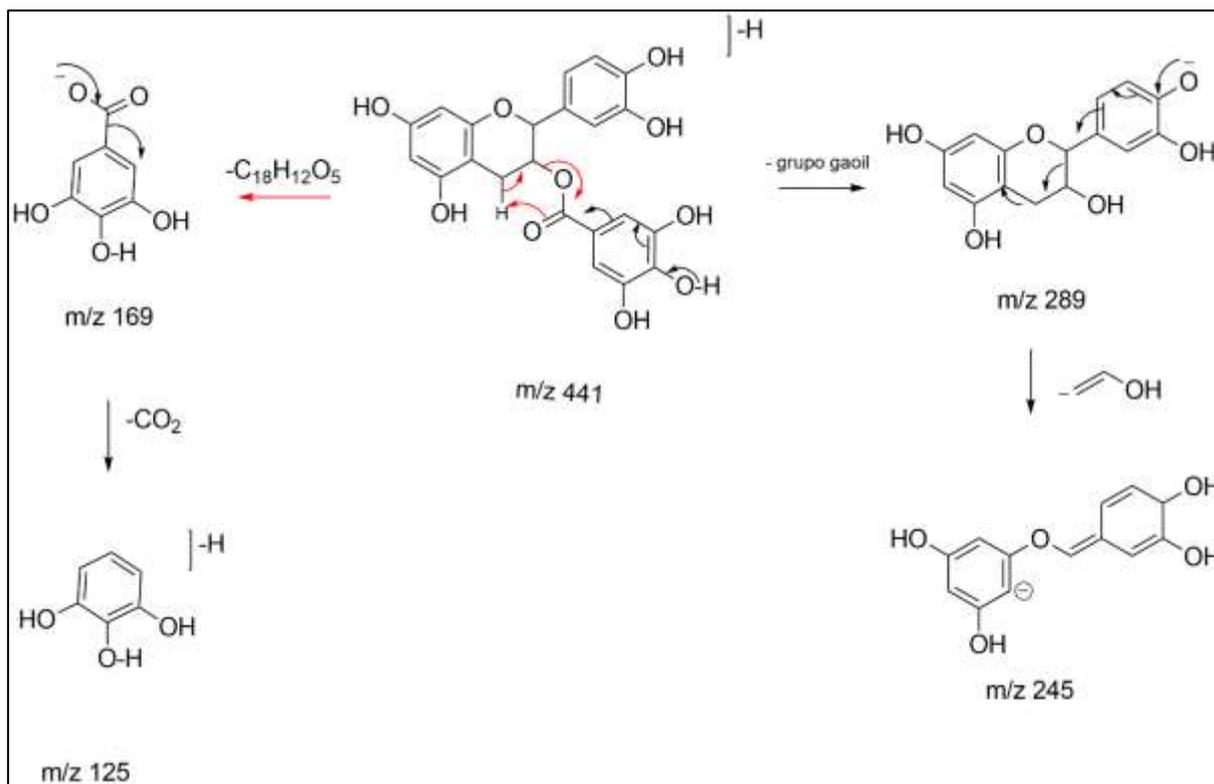
Figura 38- Fragmentação do íon m/z 865 (modo negativo)



Fonte: Adaptado de Enomoto *et al.*, (2019)

O íon m/z 441, apresentou fragmentos em: m/z 289, 245, 169 e 125. Conforme Xu *et al.*, (2010) esse padrão de fragmentação demonstra a presença de grupos estruturais contendo ácido gálico e a catequina. Dessa forma, esse composto seria um derivado desses dois grupos, o (epi)/catequina-3-*O*-galato. O fragmento m/z 289 é resultado da clivagem da ligação éster com a perda do grupo gaoil. Já o fragmento m/z 169 da clivagem da ligação éster com a perda de unidade de (epi) catequinas (Sun *et al.*, 2007). O fragmento em m/z 125 é referente a descarboxilação da porção do ácido gálico (Singh; Kumar, 2018). A Figura 38 apresenta uma proposta de fragmentação para o modo negativo do íon m/z 441.

Figura 39- Proposta de Fragmentação para (epi)/ catequina-3-*O*-galato no modo negativo.



Fonte: A autora

5.2.8 Relação entre os compostos identificados e as atividades biológicas avaliadas

Realizar a prospecção fitoquímica no extrato etanólico foi de suma importância para identificar a presença de flavonoides, terpenos, esteroides e açúcares. Essa análise revelou-se crucial para uma compreensão abrangente da ampla variedade de resultados observados neste estudo. A presença desses compostos está relacionada com as atividades biológicas, como as atividades antioxidantes e antifúngicas que foram notadas.

O elevado teor de compostos fenólicos encontrado no extrato etanólico está diretamente relacionado à presença de compostos identificados, como os flavonoides e proantocianidinas. Considerando a correlação entre a eficácia antioxidante desses compostos aromáticos e o número de grupos $-OH$ em suas estruturas, é possível inferir que a abundância de compostos fenólicos no extrato etanólico contribui para suas propriedades antioxidantes. Além disso, a presença desses compostos fenólicos pode também facilitar a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares entre grupos funcionais, fortalecendo ainda mais suas atividades antioxidantes (Olszowy, 2019).

Além disso, a inibição das espécies pertencentes ao gênero *Candida* pode ser associada à presença dos compostos identificados no extrato etanólico, incluindo os ácidos fenólicos. Estudos na literatura analisaram os efeitos do ácido clorogênico contra cepas de *Candida spp.*, e os resultados indicam que esse composto pode exercer atividade antifúngica através de uma série de ações. Tais ações envolvem perturbação na estrutura da membrana celular, aumentando o potencial de despolarização mitocondrial, estimulando a produção de moléculas altamente reativas contendo oxigênio dentro das células dos fungos, resultando na fragmentação do DNA. Além disso, o ácido clorogênico apresentou interações significativas com os resíduos do sítio ativo ALS3 de *C. albicans*, desempenhando um papel crucial no processo de adesão e resistência ao fluconazol (Silva *et al.*, 2022; Sung; Lee, 2010)

Portanto, a análise fitoquímica, o teor de fenóis totais, os resultados antioxidantes e antifúngicos, juntamente com a análise de espectrometria de massa, convergem para fornecer uma compreensão abrangente das propriedades do extrato etanólico.

6. CONCLUSÕES

Esse estudo visou realizar uma investigação acerca das propriedades químicas e potencial biológico dos extratos e do óleo essencial da *Pleroma granulorum*. Durante a pesquisa, foram conduzidas análises com foco na avaliação das propriedades antioxidantes e antifúngica desses compostos.

A prospecção fitoquímica foi conduzida utilizando cromatografia em camada delgada (CCD) e reveladores específicos para as principais classes de metabólitos especializados. Essa abordagem permitiu a identificação de diferentes classes de metabólitos presentes nas amostras, incluindo flavonoides, terpenos, açúcares, entre outros compostos fenólicos. No entanto, os alcaloides não foram detectados durante a análise.

O teor de fenóis totais encontrado na *Pleroma granulorum* indica a presença significativa desses compostos em sua composição química (381,19 mgEAG. g extrato⁻¹). Também se observou ótimos resultados para a atividade antioxidante pelo método DPPH com uma CE_{50} de 6,07 ($CE_{50} < 50 \mu\text{g mL}^{-1}$), pelo método ABTS 3068,00 $\mu\text{mol ET. g}^{-1}$ e 736,09 em $\mu\text{mol ET. g}^{-1}$ para o teste FRAP.

Mediante a utilização da técnica de espectrometria de massas, foi possível identificar uma variedade de compostos no extrato etanólico da espécie estudada. Entre os componentes detectados, encontram-se flavonoides como Catequina e Quercetina (tanto glicosilada quanto não glicosilada), Luteolina e Isorhamnetina glicosilada, assim como Rhamnocitrina.

Adicionalmente, foram anotadas Proantocianidinas do tipo B e trímeros, ácidos fenólicos como Ácido gálico, Ácido protocatecuico e Ácido 5-O-cafeoilquínico, sacarose e ácidos graxos, tais como ácidos tri-hidroxi-octadecadienoico e ácido hidroxioctadecadienoico.

Quanto à atividade antifúngica, o extrato etanólico apresentou excelente resultado, com CIM de 2,93 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. albicans*, 1,46 para $\mu\text{g mL}^{-1}$ *C. glabrata*, 11,72 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. tropicalis* e 1,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$ *C. parapsilosis*.

Quanto ao óleo essencial, sua composição foi analisada por CG-EM, revelando álcoois voláteis, aldeídos, ésteres, terpenos e alcanos. O componente predominante foi o 3-Hexen-1-ol (Z) (41,7%). A análise antifúngica do óleo não obteve resultado significativo.

Os resultados mostraram que o extrato etanólico das folhas da espécie *P. granulosum* apresenta grande quantidade de compostos fenólicos, destacando os flavonoides, o que pode justificar a elevada atividade antioxidante observada. Somado a isso, esse extrato se mostrou muito eficiente quando a atividade antifúngica, indicando que essa espécie de planta, embora normalmente utilizada apenas em ornamentações, pode ser muito promissora quanto à atividade biológica. Essas descobertas ampliam significativamente o interesse em pesquisas adicionais e possíveis aplicações dessa espécie vegetal com ênfase na melhoria da saúde e do bem-estar.

REFERÊNCIAS

- ABOULTHANA, W. M. K. *et al.* Metabolite Profiling and Biological Activity Assessment of *Casuarina equisetifolia* Bark after Incorporating Gold Nanoparticles. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP**, v. 23, n. 10, p. 3457, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.31557/APJCP.2022.23.10.3457> .
- ADAMS, R. P. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. 4. ed. Carol Stream: **Allured**, 2007. 469 p.
- AL-ROOQI, M. M. *et al.* Flavonoids and related privileged scaffolds as potential urease inhibitors: a review. **RSC advances**, v. 13, n. 5, p. 3210-3233, 2023.
DOI: <https://doi.org/10.1039/D2RA08284E> .
- ALTINCICEK, B. *et al.* Tools for discovery of inhibitors of the 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DXP) synthase and DXP reductoisomerase: an approach with enzymes from the pathogenic bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. **FEMS microbiology letters**, v. 190, n. 2, p. 329-333, 2000.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(00\)00357-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(00)00357-8)
- ALVES, C. Q. *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n., p. 2202-2210, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033>
- ALVES, I. D.P.D. **Aplicação do extrato etanólico da folha de *C. Longa l.* Como antioxidante natural em óleo de soja.** 2020. 102 p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia, Goiânia, 2020.
- ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. suppl_1, p. 5-16, 2001.
DOI: https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5
- ANVISA- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 55, de 16 de dezembro de 2010. Dispõe sobre o registro de produtos biológicos novos e produtos biológicos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 2010.
- AQUINO, A. J. **Diferenciação química de quatro espécies de *Bauhinia* (Pata-de-vaca).** 2018. 165p. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade Estadual de São Paulo, Departamento de Química, São Carlos, 2018. Disponível em: https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/10482/AQUINO_Amanda_2018vf.pdf?sequence=4&isAllowed=y. Acesso: 04 jul. 2023.
- ARANDA-RIVERA, A. K. *et al.* RONS and Oxidative Stress: An Overview of Basic Concepts. **Oxygen**, v. 2, n. 4, p. 437-478, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.3390/oxygen2040030>
- ARAÚJO, M. G. de F. **Caracterização do pontencial biológico de *Leiosthrix spiralis* Ruhland E *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland (Eriocaulaceae).** 2011. 144 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2011.

ARON, P. M.; KENNEDY, J. A. Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. **Molecular nutrition & food research**, v. 52, n. 1, p. 79-104, 2008.

DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700137>.

ASBAHANI, A.E. *et al* . Essential oils: From extraction to encapsulation. **International journal of pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>.

AYALA, A.; MUÑOZ, M. F.; ARGÜELLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2014, 2014.

DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/360438>.

BALDINI, R. *et al*. Essential oils composition of *Melittis melissophyllum* L. and *Oenanthe pimpinelloides* L. (Liguria, Italy). **Atti. Soc. Toscana Sci. Nat. Mem. Ser. B**, v. 116, p. 61-66, 2009.

BAPTISTELLA, L. H. B. *et al*. Preparação do (+)- \pm -terpineol a partir do (+)-limoneno: monoterpenos de odor agradável em um projeto para química orgânica experimental. **Química Nova**, v. 32, p. 1069-1071, 2009.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400042>.

BARNABY, A.G.; REID, R.; WARREN, D. Antioxidant activity, total phenolics and fatty acid profile of *Delonix regia*, *Cassia fistula*, *Spathodea campanulata*, *Senna siamea* and *Tibouchina granulosa*. **Journal of Analytical & Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 2, p. 00056, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.15406/japlr.2016.03.00056>

BARREIRA, J. C. M *et al*. Phenolic profiling of *Veronica* spp. grown in mountain, urban and sandy soil environments. **Food chemistry**, v. 163, p. 275-283, 2014.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.117>.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. da S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química nova**, v. 32, p. 679-688, 2009.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300012>.

BECKER, M. M. *et al*. Determination of the antioxidant capacity of red fruits by miniaturized spectrophotometry assays. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 1108-1114, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190003>.

BOMFIM, F. S. **Avaliação do potencial antifúngico de extratos de plantas medicinais frente a isolados clínicos de *Candida***. Orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares. 2018. 74f. Tese (Doutorado) - Programa de pós-graduação em inovação terapêutica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

BONA, E. A. M. de *et al*. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, p. 218-225, 2014.

DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657001192012>.

BOREL, C. R. **Estudo químico e farmacológico de galhos de *Byrsonima coccolobifolia* (MALPIGHIACEAE)**. 2011. 47p. Trabalho de conclusão do curso (Licenciatura em Química), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucurifaculdade de Ciências exatas e tecnológicas, Diamantina, 2011.

BOUZ, G.; DOLEŽAL, M. Advances in antifungal drug development: an up-to-date mini review. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 12, p. 1312, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.3390/ph14121312>.

BOYADZHIEVA, S.; GEORGIEVA, S.; ANGELOV, G. Optimization of the extraction of natural antioxidants from avocado seeds. **Bulg. Chem. Commun**, v. 50, p. 80-84, 2018.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

DOI: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).

BRAHMACHARI, G (Ed.). **Bioactive natural products: opportunities and challenges in medicinal chemistry**. Índia, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, 2011.

DOI: <https://doi.org/10.1142/8033>.

BRAHMKSHATRIYA, P.P.; BRAHMKSHATRIYA, P.S. Terpenes: Chemistry, Biological Role, and Therapeutic Applications. In: RAMAWAT, K. G.; MERILLON, J. **Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes**. New York: Springer, 2013. p. 2665-2691.

DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_120.

BRASIL. Ministério da Saúde. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos**, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 148 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde).

BREITMAIER, E. **Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones**. John Wiley & Sons, 2006.

DOI: <https://doi.org/10.1002/9783527609949>.

BRODOWSKA, K. M. Natural, flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. **European Journal of Biological Research**, v. 7, n. 2, p. 108-123, 2017.

BRUM, T. F. de. *et al.* Análise fitoquímica das folhas de *Vitex megapotamica* (sprengel) moldenke. **Saúde** (Santa Maria), p. 101-106, 2011.

DOI: <https://doi.org/10.5902/223658343088>.

CABRERA, D. da C. **Estudo químico, atividade antioxidante e análise multivariada do óleo essencial de *Myrocarpus frondosus***. 2013. 96p. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande. 2013.

CÁCERES, J. M. S de L. *Pleroma Granulosa*, [S.l], 2020. Disponível em: <http://www.arbolesornamentales.es/Pleroma%20granulosa.pdf>. Acesso: 18 Jul. 2022.

CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n.1, suplemento 3, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920190105>.

CAMARGO, S. B.; DE VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpene. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 3, p. 381-387, 2014.

DOI: <https://doi.org/10.9771/cmbio.v13i3.12949>.

CAROCHO, M. *et al.* *Castanea sativa* Mill. Flowers amongst the most powerful antioxidant matrices: A phytochemical approach in decoctions and infusions. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/232956>.

CASTORENA, A. L. P. Triterpenes and other Metabolites from *Tibouchina urvilleana*. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 58, n. 2, p. 218-222, 2014.

CHANDRADEVAN, M. *et al.* UHPLC-ESI-Orbitrap-MS analysis of biologically active extracts from *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. and *Cleome gynandra* L. leaves. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/3238561>.

CHEN, G. *et al.* Analysis of flavonoids in *Rhamnus davurica* and its antiproliferative activities. **Molecules**, v. 21, n. 10, p. 1275, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21101275>.

CHINTOJU, N. *et al.* Importance of natural products in the modern history. Research and Reviews: **Journal of Hospital and Clinical Pharmacy**, v. 1, n. 1, p. 5-10, 2015.

CHOY, Y. Y.; WATERHOUSE, A. L. Proanthocyanidin metabolism, a mini review. **Nutrition and aging**, v. 2, n. 2-3, p. 111-116, 2014.

DOI: <https://doi.org/10.3233/NUA-140038>.

CIVJAN, N. **Natural products in chemical biology**. John Wiley & Sons, 2012.

DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118391815>.

CLIFFORD, M. N. *et al.* Hierarchical scheme for LC-MS n identification of chlorogenic acids. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2900-2911, 2003.

DOI: <https://doi.org/10.1021/jf026187q>.

CLIFFORD, M. N. ; N.; KNIGHT, S.; KUHNERT, N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MS n. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 3821-3832, 2005.

DOI: <https://doi.org/10.1021/jf050046h>

CLIFFORD, M. N. *et al.* Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: Discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity. **Natural Product Reports**, v. 34, n. 12, p. 1391-1421, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.1039/C7NP00030H>.

CLSI standard M27Wayne PA; CLSILClinical and Laboratory Standards Institute. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**, 4th ed.; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wine, PA, USA, 2017.

CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. Approved standard M7-A9. Wayne, PA: CLSI, 2012.

COMBS, C. A. Tannins: biochemistry, food sources and nutritional properties. **Nova Publishers**, 2016.

CORRÊA, A. G. Taxol: da descoberta ao uso terapêutico. **Química Nova**, v. 18, n. 460, 1995.

CORREA, J. G.de. S *et al.* Chemical profile, antioxidant and anti-inflammatory properties of *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae) fruits extract. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 273, p. 113979, 2021.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113979>.

COSTA, J O. *et al.* One-step isolation of monoterpene indole alkaloids from Psychotria leiocarpa leaves and their antiviral activity on Dengue Virus type-2. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 2104-2113, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200111>.

CRANG, R.; LYONS-SOBASKI, S.; WISE, R. **Plant anatomy: a concept-based approach to the structure of seed plants**. Springer, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-77315-5>.

CRUZ, A. V. de M.; KAPLAN, M. A. C. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. **Floresta e ambiente**, v. 11, n. 1, p. 47-52, 2012.

CUNHA, G. O. S. *et al.* Constituintes químicos e atividade inseticida de *Miconia ferruginata*. **Química Nova**, v. 40, p. 1158-1163, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170126>.

DAS, A. K. *et al.* Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. **South African Journal of Botany**, v. 135, p. 58-70, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.008>.

DATA, N. S. R. NIST Standard Reference Data (2022). Disponível em: <https://webbook.nist.gov/chemistry/>. Acesso: 08 jul. 2022.

DEBERARDINIS, R. J.; THOMPSON, C. B. Cellular metabolism and disease: what do metabolic outliers teach us?. **Cell**, v. 148, n. 6, p. 1132-1144, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.032>.

DHANIAPUTRI, R *et al.* Introduction to Plant Metabolism, Secondary Metabolites Biosynthetic Pathway, and In-Silico Molecular Docking for Determination of Plant Medicinal

Compounds: An Overview. In: 7th International Conference on Biological Science (ICBS 2021). **Atlantis Press**, 2022. p. 373-382.

DOI: <https://doi.org/10.2991/absr.k.220406.053>.

DIAS, E. R. *et al.* Antinociceptive activity of *Tibouchina pereirae*, an endemic plant from the Brazilian semiarid region. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 71, n. 7-8, p. 261-265, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.1515/znc-2015-0155>

DUARTE, D. F. Uma breve história do ópio e dos opióides. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 55, p. 135-146, 2005.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S0034-70942005000100015>.

ECHEGARAY, N *et al.* Measurement of antioxidant capacity of meat and meat products: methods and applications. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 3880, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26133880>.

EK, S. *et al.* Characterization of phenolic compounds from lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 26, p. 9834-9842, 2006.

DOI: <https://doi.org/10.1021/jf0623687>.

ELLER, S. C. W. d. S *et al.* Avaliação antimicrobiana de extratos vegetais e possível interação farmacológica *in vitro*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 1, 2015.

ENOMOTO, H. *et al.* Distribution of flavan-3-ol species in ripe strawberry fruit revealed by matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry imaging. **Molecules**, v. 25, n. 1, p. 103, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25010103>.

ERŞAN, S. *et al.* Identification of phenolic compounds in red and green pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls (exo-and mesocarp) by HPLC-DAD-ESI-(HR)-MS n. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 26, p. 5334-5344, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01745>.

ESCOBAR-AVELLO, D. *et al.* Phenolic profile of grape canes: Novel compounds identified by lc-esi-ltq-orbitrap-ms. **Molecules**, v. 24, n. 20, p. 3763, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24203763>.

FATHONI, A. *et al.* Identification of nonvolatile compounds in clove (*Syzygium aromaticum*) from Manado. In: **AIP Conference Proceedings**. AIP Publishing, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.1063/1.4991183>.

FELIPE, L.O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.21577/0104-8899.20160068>.

FERNANDES, S. R. *et al.* Chemical composition and seasonal variation of the volatile oils from *Trembleya phlogiformis* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 419-425, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2017.03.003>.

FERREIRA, N. S. *et al.* Flavanone Glycosides, Triterpenes, Volatile Compounds and Antimicrobial Activity of *Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC.(Melastomataceae). **Molecules**, v. 27, n. 6, p. 2005, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27062005>.

FILHO, A. C. P. de M.; VENTURA, M. V. A.; CASTRO, C. F. de. S. FLORAL EXTRACT OF *Tibouchina granulosa* (DESR.) COGN. PHYTOCHEMISTRY PROSPECTION, AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY. **Ipê Agronomic Journal**, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2021.
DOI: <https://doi.org/10.37951/2595-6906.2021v5i1.6880>.

FILHO, R. B. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, p. 229-239, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000100040>.

FLIEGER, J. *et al.* Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. **Materials**, v. 14, n. 15, p. 4135, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma14154135>.

FOREZI, L. S. M *et al.* Aqui Tem Química: parte IV. Terpenos na Perfumaria. **Revista Virtual de Química: Sociedade Brasileira de Química**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 1005-1024, 24 mar. 2022 DOI: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20220055>.

FRAGA, C.N.; GUIMARÃES, P.J.F. Two new species of *Pleroma* (Melastomataceae) from Espírito Santo, Brazil. **Phytotaxa** 166: 77–84. 2014.
DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.166.1.5>.

FRANCIS, F.; BALDINI, V.; LADEROZA, M. New anthocyanins from *Tibouchina granulosa*. **Journal American Society for Horticultural Science**, v. 107, p. 789-791, 1982.
DOI: <https://doi.org/10.21273/JASHS.107.5.789>.

FRUTOS, P. *et al.* Tannins and ruminant nutrition. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 2, n. 2, p. 191-202, 2004.
DOI: <https://doi.org/10.5424/sjar/2004022-73>.

GALVANO, F *et al.* Cyanidins: metabolism and biological properties. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 15, n. 1, p. 2-11, 2004.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2003.07.004>.

GARRIDO-BAÑUELOS, G. *et al.* Impact of time, oxygen and different anthocyanin to tannin ratios on the precipitate and extract composition using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.21548/40-1-3249>.

GE, Y.W. *et al.* Molecular ion index assisted comprehensive profiling of B-type oligomeric proanthocyanidins in rhubarb by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 408, p. 3555-3570, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9433-z>.

GHANEIAN, M. T *et al.* Antimicrobial activity, toxicity and stability of phytol as a novel surface disinfectant. **Environmental Health Engineering and Management Journal**, v. 2, n. 1, p. 13-16, 2015.

GOLUS, J. *et al.* The agar microdilution method—a new method for antimicrobial susceptibility testing for essential oils and plant extracts. **Journal of applied microbiology**, v. 121, n. 5, p. 1291-1299, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.13253>.

GÓMEZ-GARCÍA, A.; MEDINA-FRANCO, J. L. Progress and impact of Latin American natural product databases. **Biomolecules**, v. 12, n. 9, p. 1202, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3390/biom12091202>.

GUILHON, C. C. *et al.* *Tibouchina granulosa* Leaves Present Anti-Inflammatory Effect. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 12, p. 1458, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3390/ph15121458>.

GUIMARAES, P. J. F *et al.* Systematics of *Tibouchina* and allies (Melastomataceae: Melastomateae): A new taxonomic classification. **Taxon**, v. 68, n. 5, p. 937-1002, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.1002/tax.12151>.

GUIMARÃES, P. J. F.; SILVA, M. F. O. A new species of *Pleroma* (Melastomataceae, Melastomeae) from southeastern Brazil. **Phytotaxa**, v. 205, n. 1, p. 51-58, 2015.

DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.205.1.4>.

GÜLCIN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of toxicology**, v. 86, n. 3, p. 345-391, 2012.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>.

HAAGEN-SMITH, A. J. Essential Oils. **Engineering and Science**, v. XXIV, n. 8, 1961.

HAMED, A. I. *et al.* Profiles analysis of proanthocyanidins in the argun nut (*Medemia argun*—an ancient Egyptian palm) by LC–ESI–MS/MS. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 49, n. 4, p. 306-315, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/jms.3344>.

HARBORNE, J. B. **The Flavonoids, Advances in Research since 1986**. 1ed. London: Routledge, 2017.

HAZZOUMI, Z.; MOUSTAKIME, Y.; JOUTEI, K. A. Essential oil and glandular hairs: diversity and roles. In: **Essential oils-oils of nature**. IntechOpen, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.86571>.

HEMINGWAY, R. W.; KARCHESY, J. J. **Chemistry and significance of condensed tannins**. Springer Science & Business Media, 1989.

DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4684-7511-1>.

HENRIQUES, J. F. S. **Determinação de compostos bioativos e atividades biológicas, de extratos aquosos de folhas de *Actinidia deliciosa***. 2016. 165 p. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade de Lisboa- Departamento de Química e Bioquímica, [S.l.], 2016.

HERRMANN, K. M.; WEAVER, L. M. The shikimate pathway. **Annual review of plant biology**, v. 50, n. 1, p. 473-503, 1999.

DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.473>.

HOANG, H. T.; MOON, J. Y.; LEE, Y. C. Natural antioxidants from plant extracts in skincare cosmetics: Recent applications, challenges and perspectives. **Cosmetics**, v. 8, n. 4, p. 106, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.3390/cosmetics8040106>.

HOLETZ, F. B *et al.*. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 1027-1031, 2002.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000700017>.

INCZÉDY, J.; LENGYEL, T.; URE, A. M.; Compendium of Analytical Nomenclature: Definitive Rules, 3rd ed., **International Union of Pure and Applied Chemistry**: Oxford, 1998.

ISAZA, J. H.; ITO, H.; YOSHIDA, T. Oligomeric hydrolyzable tannins from *Monochaetum multiflorum*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 3, p. 359-367, 2004.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2003.11.017>.

ISLAM, M. T. *et al.* Phytol in a pharma-medico-stance. *Chemico-Biological Interactions*, v. 240, p. 60-73, 2015.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.07.010>.

ISLAM, M. T. *et al.* Phytol: A review of biomedical activities. **Food and chemical toxicology**, v. 121, p. 82-94, 2018.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.08.032>.

ISNAINI, I.; YASMINA, A.; NUR'AMIN, H. W. Antioxidant and cytotoxicity activities of Karamunting (*Melastoma malabathricum L.*) fruit ethanolic extract and quercetin. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, v. 20, n. 2, p. 639, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.31557/APJCP.2019.20.2.639>.

ISO-International Organization for Standardization. **ISO 9235:2021- Aromatic natural raw materials** – Vocabulary. Geneva: ISO, 2021.

JAKIEMIU, E. A. R. **Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris L.*)**. 2008. 90p. Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2008.

JAMES, D. G. Further field evaluation of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects. **Journal of chemical ecology**, v. 31, n. 3, p. 481-495, 2005.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s10886-005-2020-y>.

JIMÉNEZ, N *et al.* Antioxidant capacity and phenolic content of commonly used anti-inflammatory medicinal plants in Colombia. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 272-279, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.050>.

JIMÉNEZ-ESTRADA, M *et al.* In vitro antioxidant and antiproliferative activities of plants of the ethnopharmacopeia from northwest of Mexico. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 13, p. 1-8, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-12>.

JULKUNEN-TIITTO, R.; HAGGMAN, H. Tannins and tannin agents. **Handbook of natural colorants**, v. 8, p. 201, 2009.

DOI: <https://doi.org/10.1002/9780470744970.ch12>

JUNIOR, A. C. **Constituintes químicos da espécie vegetal *Polygala sabulosa* AW Bennett (Polygalaceae)**. 2002. 125p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Pós- graduação em Química, Florianópolis, 2002.

KHANBABAEI, K.; VAN REE, T. Tannins: classification and definition. **Natural product reports**, v. 18, n. 6, p. 641-649, 2001.

DOI: <https://doi.org/10.1039/b101061l>.

KIM, J. K.; PARK, S. U. Quercetin and its role in biological functions: an updated review. **EXCLI journal**, v. 17, p. 856, 2018.

KIM, S. M *et al.* Functional identification of Ginkgo biloba 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase (DXS) gene by using *Escherichia coli* disruptants defective in DXS gene. **Journal of Applied Biological Chemistry**, v. 48, n. 2, p. 101-104, 2005.

KISS, A. K.; NARUSZEWICZ, M. Polyphenolic compounds characterization and reactive nitrogen species scavenging capacity of *Oenothera paradoxa* defatted seed extracts. **Food Chemistry**, v. 131, n. 2, p. 485-492, 2012.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.011>.

KIVRAK, Ş. *et al.* Investigation of phenolic profiles and antioxidant activities of some *Salvia species* commonly grown in Southwest Anatolia using UPLC-ESI-MS/MS. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 423-431, 2018.

DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.32017>.

KOINA, I. M.; SARIGIANNIS, Y.; HAPESHI, E. Green Extraction Techniques for the Determination of Active Ingredients in Tea: Current State, Challenges, and Future Perspectives. **Separations**, v. 10, n. 2, p. 121, 2023.

DOI: <https://doi.org/10.3390/separations10020121>.

KOTHA, R. R. *et al.* Oxidative Stress and Antioxidants-A Critical Review on *In Vitro* Antioxidant Assays. **Antioxidants**, v. 11, n. 12, p. 2388, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11122388>.

KREMER, D. *et al.* Unremitting problems with chlorogenic acid nomenclature: A review. **Química Nova**, v. 39, p. 530-533, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160063>.

KUETE, V. Potential of *Cameroonian* plants and derived products against microbial infections: a review. **Planta medica**, v. 76, n. 14, p. 1479-1491, 2010.

DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250027>.

KUHNERT, N.; SAID, I. H.; JAISWAL, R. Assignment of regio-and stereochemistry of natural products using mass spectrometry chlorogenic acids and derivatives as a case study. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 42, p. 305-339, 2014.

DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63281-4.00010-0>.

KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology Reports**, v. 24, p. e00370, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>.

KUT, K *et al.* A Modification of the ABTS• Decolorization Method and an Insight into Its Mechanism. **Processes**, v. 10, n. 7, p. 1288, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3390/pr10071288>.

KUTCHAN, T. M *et al.* Natural products. *In*: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM,, W.; JONES, R. L. **BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS**. 2 ed. Rockville: John Wiley & Sons, 2015. p. 1132-1206.

LAHLOU, M. The success of natural products in drug discovery. **Pharmacology & Pharmacy**, v.4, n. 3A, 17–31p, 2013. DOI: 10.4236/pp.2013.43A003.

DOI: <https://doi.org/10.4236/pp.2013.43A003>.

LATTANZIO, V. Phenolic compounds: Introduction. *In*: RAMAWAT, K. G.; MERILLON, J. **Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes**. New York: Springer, 2013. p. 1543-1580.

DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_57.

LAWARENCE, B.; MURUGAN, K. Comprehensive Evaluation of Antioxidant Potential of Selected *Osbeckia* species and their in vitro Culture, Purification and Fractionation.

Pharmacognosy Journal, v. 9, n. 5, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.5530/pj.2017.5.107>.

LEITE, T.C.C. **Avaliação da atividade antimicrobiana e estudo químico de espécies do gênero *Marsetia* (melastomataceae)**.2009.131f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de feira de Santana, Bahia, 2009. Disponível em:

<http://tede2.uefs.br:8080/handle/tede/1273>. Acesso: 04 jul.2022

LEMOS, A. R. **Caracterização físico-química, bioquímica e avaliação da atividade antioxidante em genótipos de Urucueiros (*Bixa orellana* L.)**. Orientador: Dsc. Marcondes Viana da Silva. 2008. 65p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de alimentos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, ITAPETINGA - BAHIA, 2008.

LEMOS, A.S. O *et al.* Antifungal activity of the natural coumarin scopoletin against planktonic cells and biofilms from a multidrug-resistant *Candida tropicalis* strain. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1525, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01525>.

LI, H. *et al.* Phenolic profiling of five different Australian grown apples. **Applied Sciences**, v. 11, n. 5, p. 2421, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/app11052421>.

LIMA, T. C. *et al.* 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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112908>.

LIU, Z. Q. Chemical Methods To Evaluate Antioxidant Ability. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 10, p. 5675-5691, 2010 DOI: <https://10.1021/cr900302x>.

LOPES, T. M. S. **Potencial terapêutico da canela-de-velho (*Miconia albicans*): revisão da literatura**. 2022. 72 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia)-Universidade de Campina Grande, Cuité, 2022.

LOURENÇO, S. C.; MOLDÃO-MARTINS, M; ALVES, V.D. Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. **Molecules**, v. 24, n. 22, p. 4132, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24224132>.

LUZ, L. D. R. **Perfil químico e atividade citotóxica dos extratos de folha, galho e casca de baraúna: abordagem metabolômica e Quimiométrica**. 2019. 87p. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Ceará- Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Fortaleza, 2019.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR., V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quím. Nova**, v. 25, n. 3, p.429-438, 2002.DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000300016>.

MACIEL, V. da S. **Análise da composição do óleo essencial e da fração hexânica do extrato das folhas de *Tibouchina aspera* aubl.** 2021. 42p. Trabalho de conclusão de curso (Curso de Farmácia)-Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2021. Disponível em: <http://repositorio.unifap.br/handle/123456789/763>. Acesso: 04 jul.2022.

MADIGAN, M. T.; *et al.* **Microbiologia de Brock**. Tradução: Alice Freitas Versiani *et al.* Editora Artmed, 14^aed. 1006 p. 2016.

MAGRINI, V. **Estudo fitoquímico dos extratos de folhas, galhos e caules de *Calycophyllum spruceanum* Benth para testes de potencial de cosmético funcional**. 2016. 145 p. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho- Instituto de Química, Araraquara, 2016.

MARTINS, V. E. X. **Estudo químico e avaliação biológica da *Banisteriopsis malifolia* (Ness & Mart) B. Gates (Malpighiaceae)**. 2019. 134 p. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

MAJID, I *et al.* Recent insights into green extraction techniques as efficient methods for the extraction of bioactive components and essential oils from foods. **CyTA-Journal of Food**, v. 21, n. 1, p. 101-114, 2023.DOI: <https://doi.org/10.1080/19476337.2022.2157492>.

MANNINO, G *et al.* Proanthocyanidins and where to find them: A meta-analytic approach to investigate their chemistry, biosynthesis, distribution, and effect on human health. **Antioxidants**, v. 10, n. 8, p. 1229, 2021.DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10081229>.

MARIA, C. A. B. de; MOREIRA, R. F. A. Métodos para análise de ácido clorogênico. **Química Nova**, v. 27, p. 586-592, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400013>.

MARINHO, V. M. C.; SEIDL, P. R.; LONGO, W. P. O papel governamental como ator essencial para a P&D de medicamentos: um estudo de casos. **Química Nova**, v. 31, p. 1912-1917, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700055>.

MCRAE, J. F. *et al.* Genetic variation in the odorant receptor OR2J3 is associated with the ability to detect the “grassy” smelling odor, cis-3-hexen-1-ol. **Chemical senses**, v. 37, n. 7, p. 585-593, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/chemse/bjs049>.

MEDEIROS, J. D.; KANIS, L. A. Avaliação do efeito de polietilenoglicóis no perfil de extratos de *Mikania glomerata* Spreng., Asteraceae, e *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 796-802, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010005000001>.

MICHELANGELI, F. A. *et al.* Phylogenetic relationships and distribution of new world Melastomeae (Melastomataceae). **Botanical journal of the Linnean Society**, v. 171, n. 1, p. 38-60, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01295.x>.

MIGUEL, N. D. L.; NASCIMENTO, S. G. D. **Uso do paclitaxel e seu impacto na qualidade de vida dos pacientes com cânceres de mama e de pulmão**. Orientador: Dra. Juliana de Oliveira Silva. 2022. 29 p. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Faculdade UNA de Itabira, Itabira, 2022. Disponível em: <https://repositorio.animaeducacao.com.br/bitstream/ANIMA/24758/3/Artigo%20Vers%c3%a3o%20Final%20Postar%20ok%20.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2023.

MILES, S. Methyl salicylate. In: Enna SJ, Bylund DB, editors. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*. Boston: **Elsevier**; 2007. p. 1-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.62158-0>.

MONDAL, S.; RAHAMAN, S. T. Flavonoids: A vital resource in healthcare and medicine. **Pharm. Pharmacol. Int. J.**, v. 8, n. 2, p. 91-104, 2020. DOI: <https://doi.org/10.15406/ppij.2020.08.00285>.

MONTEIRO, S. D. C.; BRANDELLI, C. L. C. Farmacobotânica: Aspectos Teóricos e Aplicação. **Artmed Editora**, 2017. 172p.

MORAIS, S. A. L. *et al.* Análise de compostos bioativos, grupos ácidos e da atividade antioxidante do café arábica (*Coffea arabica*) do cerrado e de seus grãos defeituosos (PVA) submetidos a diferentes torras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. S, p. 198-207, dez. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000500031>.

MOSIĆ, M. *et al.* Phenolic composition influences the health-promoting potential of bee-pollen. **Biomolecules**, v. 9, n. 12, p. 783, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom9120783>.

MOTTA, L. B. *et al.* Distribution of metabolites in galled and non-galled foliar tissues of *Tibouchina pulchra*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, n. 10, p. 971-981, 2005.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2005.02.004>.

MOURA, V. M. *et al.* The potential of aqueous extracts of *Bellucia dichotoma* Cogn. (Melastomataceae) to inhibit the biological activities of *Bothrops atrox* venom: A comparison of specimens collected in the states of Pará and Amazonas, Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 196, p. 168-177, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.031>.

MUNTEANU, Irina Georgiana; APETREI, Constantin. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3380, 2021.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>.

MUTUNGI, M. M. *et al.* Antioxidant and antiproliferative potentials of *Ficus glumosa* and Its Bioactive Polyphenol Metabolites. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 3, p. 266, 2021.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ph14030266>.

MURPHY, B. J. *et al.* Determining the authenticity of methyl salicylate in *Gaultheria procumbens* L. and *Betula lenta* L. essential oils using isotope ratio mass spectrometry. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 5, p. 442-451, 2021.
DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2021.1925362>.

MURUGAN, R.; PARIMELAZHAGAN, T. Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *Osbeckia parvifolia* Arn.–An in vitro approach. **Journal of King Saud University-Science**, v. 26, n. 4, p. 267-275, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.09.006>.

MUTUNGI, M. M. *et al.* Antioxidant and antiproliferative potentials of *Ficus glumosa* and Its Bioactive Polyphenol Metabolites. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 3, p. 266, 2021.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ph14030266>.

NANI, R. E. **Caracterização Química e avaliação in vitro das atividades carrapaticida e inseticida de óleos essenciais sobre larvas de *Rhipicephalus microplus* (ACARI: IXODIDAE) e *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE).** 2016.111p. Dissertação em Biociência Animal- Universidade de Cuiabá, Cuiabá, 2016. Disponível em: <http://repositorio.pgskroton.com/bitstream/123456789/2933/1/141b135a0ac272dcc7e0ac90adc89c05.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2022.

NDJATEU, F. ST *et al.* Antimicrobial and antioxidant activities of extracts and ten compounds from three Cameroonian medicinal plants: *Dissotis perkinsiae* (Melastomaceae), *Adenocarpus mannii* (Fabaceae) and *Barteria fistulosa* (Passifloraceae). **South African Journal of Botany**, v. 91, p. 37-42, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.11.009>.

NEMZER, B.; KALITA, D.; ABSHIRU, N. Quantification of major bioactive constituents, antioxidant activity, and enzyme inhibitory effects of whole coffee cherries (*Coffea arabica*) and their extracts. **Molecules**, v. 26, n. 14, p. 4306, 2021.
DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26144306>.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>.
DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>.

NIST, Standard Reference Database 1, Standard Reference Data Program, National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg, MD, 2014.

NOBRE, G. M. **Bioprospecção de compostos micromoleculares por UFLC e LC-MS em *Cucurbita pepo*, *Paullinia cupana* e *Mangifera indica***. 2017. 57p. Monografia (Bacharel em Química), Universidade Federal do Ceará- Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Fortaleza, 2017.

NOBRE, N.F. **Cromatografia líquida de ultra performance combinada com Espectrometria de massas de alta resolução (uplc-hrms) para avaliação do perfil metabólico da erva-mate**. 2019. 49p. Monografia (Bacharel em Química), Universidade Federal do Ceará- Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Fortaleza, 2019.

NOBRE, N.F. **Determinação de biomarcadores associados ao amargor e avaliação da atividade citotóxica de infusões de *Ilex paraguariensis***. 2022. 99p. Dissertação (Mestre em Química), Universidade Federal do Ceará- Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Fortaleza, 2022.

NOGUEIRA, J. O. **Ação antimicrobiana de diferentes terpenos e fenilpropanoides em *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus***. 2019. 111p. Dissertação (mestrado acadêmico) - Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2019. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/>. Acesso: 25 março de 2023.

ODONNE, G. *et al.* Medical ethnobotany of the Chayahuita of the Paranapura basin (Peruvian Amazon). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, n. 1, p. 127-153, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.014>.

OLDONI, T. L, C. *et al.* **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera***. 2007. 105 p. Dissertação em Ciências- Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-18102007_113527/publico/DissertacaoTatianeOldoni.pdf. Acesso em: 12 jul. 2022.

OLIVEIRA, A. C. D. *et al.* Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n., p. 689-702, 2009.
DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300013>.

OLIVEIRA, J. D. F. **Estudo Químico de *Marcetia macrophylla* Wurdack (Melastomataceae)**. 2012. 97 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/15649?locale=es>. Acesso em: 02 jul. 2022.

OLIVEIRA, V. B. *et al.* Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de *Dicksonia sellowiana* (*presl.*). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, p. 230-239, 2016. DOI: https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_106.

OLIVEIRA, V. M. M. *et al.* ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DE *Clidemia hirta* (L.) D. Don. **Artigo-Revista do Grupo PET e Acadêmicos de Geografia da UFAC**, v. 3, n. 2, 2020.

OLSZOWY, M. What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 144, p. 135-143, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.09.039>.

OSTROSKY, E. A *et al.* Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 301-307, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200026>.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. **Journal of nutritional science**, v. 5, p. e47, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>.

PANDEY, R. P.; SOHNG, J. K. Genetics of Flavonoids. *In*: RAMAWAT, K. G.; MERILLON, J. **Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes**. New York: Springer, 2013. p. 1617-1645. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_52.

PEREIRA, M. D. C. **Química e atividade biológica de *Microlicia crenulata* (DC.) Mart: atividade antioxidante e antimicrobiana para a conservação de alimentos**. Orientador: Prof. Dr. David Lee Nelson. 2013. 125 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-9JUJGF/1/tese_maria_do_carmo_pereira.pdf. Acesso em: 17 jul. 2022.

PEREIRA, R. J.; NASCIMENTO, G.N. L.do. **COMPOSTOS BIOATIVOS VEGETAIS**. 2014, [S.l]. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Lucia-Gratao/publication/318447495_Phenolic_compounds/links/5ef62c5aa6fdcc4ca431a8cf/Phenolic-compounds.pdf>. Acesso: 07 mai. 2023.

PIANOSKI, K. E. *et al.* Identification and Characterization of *Bauhinia* Species by Spectroscopic and Spectrometric Fingerprints. **Revista Virtual Química**, v. 12, n.5, p.1222-1235, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200093>.

PIERONI, L. G. *et al.* Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of *Miconia albicans* (Sw.) Triana leaves. **Molecules**, v. 16, n. 11, p. 9439-9450, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules16119439>.

PIZZI, A. Tannins medical/pharmacological and related applications: A critical review. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 22, p. 100481, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100481>.

PIZZI, A. Tannins: Prospectives and actual industrial applications. **Biomolecules**, v. 9, n. 8, p. 344, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom9080344>.

PIZZINO, G. *et al.* Oxidative stress: harms and benefits for human health. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>.

POTT, D. M.; OSORIO, S.; VALLARINO, J. G. From central to specialized metabolism: An overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit. **Frontiers in plant science**, p. 835, n.835, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00835>.

PRADO, D. G. **Estudo químico e avaliação da atividade antidiabética dos extratos das cascas da *Cassia bakeriana* Craib**. 2021. 112 p. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Química, Uberlândia, 2021.

QUINTÃO, F. J. O. **Caracterização dos óleos essenciais de *Microlicia graveolens*, *Melaleuca leucadendron* e de extratos hidroalcoólicos das folhas e caules de *Vellozia squamata* para o desenvolvimento de nanoemulsões para uso farmacêutico**. 2013. 177p. Dissertação (Mestrado em biotecnologia)-Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2013.

RAJA, P. B. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using tannins. **Materials Science-Poland**, v. 32, p. 408-413, 2014. DOI: <https://doi.org/10.2478/s13536-014-0204-2>.

RAJURKAR, N. S.; HANDE, S. M. Estimation of phytochemical content and antioxidant activity of some selected traditional Indian medicinal plants. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 73, n. 2, p. 146, 2011. DOI: <https://doi.org/10.4103/0250-474X.91574>.

RAMÍREZ-ATEHORTÚA, A. M. *et al.* The traditional medicinal plants *Cuphea calophylla*, *Tibouchina kingii*, and *Pseudelephantopus spiralis* attenuate inflammatory and oxidative mediators. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/1953726>.

RASHEED, A.; AZEEZ, R. F. A. A review on natural antioxidants. **Traditional and Complementary Medicine**, p. 1-24, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.82636>.

RATNAVATHI, C. V.; KOMALA, V. V. Sorghum grain quality. In: **Sorghum biochemistry**. Academic Press, 2016. p. 1-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803157-5.00001-0>.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).

RENNER, S. S. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. **Nordic journal of Botany**, v. 13, n. 5, p. 519-540, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1993.tb00096.x>.

RENNER, S. The widespread occurrence of anther destruction by *Trigona* bees in Melastomataceae. **Biotropica**, p. 251-256, 1983. DOI: <https://doi.org/10.2307/2387649>.

REYNERTSON, K. A.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Antioxidant Potential of Seven *Myrtaceous Fruits*. **Ethnobotany Research & Applications**, v. 3, n. January, p. 025–035, 2005. DOI: <https://doi.org/10.17348/era.3.0.25-36>.

REZENDE, F. M. *et al.* Acylated Flavonoid Glycosides are the Main Pigments that Determine the Flower Colour of the Brazilian Native Tree *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. **Molecules**, v. 24, n. 4, p. 718, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24040718>.

ROBBINS, R. J. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2866-2887, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf026182t>.

ROCHA, E. de O. **Avaliação dos constituintes fenólicos e voláteis, atividade antioxidante e antimicrobiana de *Campomanesia pubescens* (DC.) O. Berg.** 2011.82 p. Dissertação em Química- Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011. Disponível em: <https://clyde.dr.ufu.br/bitstream/123456789/17344/1/d.pdf>. Acesso em: 01 Jul 2022.

ROCKENBACH, I. I. **Caracterização fenólica e antioxidante de subprodutos da vinificação.** 2012. 108p. Tese (Doutorado em Ciências dos alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina- Programa de pós graduação em Ciência dos alimentos, Florianópolis, 2012.

ROCKENBACH, I. I. *et al.* Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 238-244, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000500036>.

RODRIGUES F. A. *et al.* Obtenção de extratos de plantas do cerrado. **Enciclopédia Biosfera**, ISSN 1809-0583, v. 13, n. 23, p. 1–26, 2016. Disponível em: [http://www.conhecer.org.br/enciclop/2016a/agrarias/obtencao de extatos.pdf](http://www.conhecer.org.br/enciclop/2016a/agrarias/obtencao%20de%20extatos.pdf). Acesso em: 01 Jul 2022.

DOI: https://doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2016_075.

RODRIGUES, C. M. **Caracterização quali e quantitativa de metabólitos secundários em extratos vegetais.** Orientador: Prof. Dr. Wagner Vilegas. 2007. 197 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Instituto de Química, UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, Araraquara, 2007. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/883756/1/TESEClenilsonMRodrigues1.pdf>. Acesso em: 24 jun. 2023.

RODRIGUES, C. M. *et al.* Metabolic fingerprinting using direct flow injection electrospray ionization tandem mass spectrometry for the characterization of proanthocyanidins from the barks of *Hancornia speciosa*. **Rapid Communications in Mass Spectrometry: An**

International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up-to-the-Minute Research in Mass Spectrometry, v. 21, n. 12, p. 1907-1914, 2007.

DOI: <https://doi.org/10.1002/rcm.3036>.

RODRIGUES, C. M. *et al.* Metabolic fingerprinting using direct flow injection electrospray ionization tandem mass spectrometry for the characterization of proanthocyanidins from the barks of *Hancornia speciosa*. **Rapid Communications in Mass Spectrometry: An International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up-to-the-Minute Research in Mass Spectrometry**, v. 21, n. 12, p. 1907-1914, 2007.

DOI: <https://doi.org/10.1002/rcm.3036>.

ROMERO, R.; MARTINS, A. B. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 25, p. 19-24, 2002.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-84042002000100004>.

RÔMULO, A. **O que é erva baleeira ou *Cordia verbenácea*?**. [S.l], 2023. Blog. Disponível em: <https://univitta.net/blog/o-que-e-erva-baleeira-ou-cordia-verbenacea>. Acesso em: 02 fev. 2023.

ROUTABOUL, J.M. *et al.* Flavonoid diversity and biosynthesis in seed of *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, v. 224, p. 96-107, 2006.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-005-0197-5>.

SAID, R. B *et al.* Tentative characterization of polyphenolic compounds in the male flowers of *Phoenix dactylifera* by liquid chromatography coupled with mass spectrometry and DFT. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 3, p. 512, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18030512>.

SAIJO, R.; TAKEO, T. Increase of cis-3-hexen-1-ol content in tea leaves following mechanical injury. **Phytochemistry**, v. 14, n. 1, p. 181-182, 1975.

DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(75\)85033-3](https://doi.org/10.1016/0031-9422(75)85033-3).

SANTANA, E.C. **Atividade Antioxidante, Antimicrobiana e Caracterização de compostos bioativos da casca interna de *Kielmeyera coriacea* Mart&Zuce**. 2017. 130p. Dissertação (Mestrado em Química) -Universidade Federal de Uberlândia- Instituto de Química, Uberlândia, 2017.

SANTANA, G.S. **Caracterização química bioguiada pela atividade antioxidante de *Erythroxylum mucronatum* benth. (Erythroxylaceae)**. 2018. 80p. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Sergipe- Programa de Pós graduação em Ciências Farmacêuticas), Aracaju, 2018.

SANTOS, C. C. d. M. P. *et al.* Antinociceptive and antioxidant activities of phytol in vivo and in vitro models. **Neuroscience Journal** 2013, 9.

DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/949452>.

SANTOS, E. L. *et al.* Flavonoids: Classification, biosynthesis and chemical ecology. **Flavonoids-From biosynthesis to human health**, v. 13, p. 78-94, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.5772/67861>.

SANTOS, F. M. dos *et al.* Evaluation of antimicrobial activity of extracts of *Tibouchina candolleana* (melastomataceae), isolated compounds and semi-synthetic derivatives against endodontic bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 793-799, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000200045>.

SANTOS, T. A. **Avaliação de diferentes métodos e solventes de extração sobre a composição fenólica e centesimal, atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos dos frutos da *Momordica charantia* L.** 2018. 83p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Sergipe, Lagarto, 2018. Disponível em: https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/8871/2/TATIANE_ANDRADE_SANTOS.pdf. Acesso: 10 jul.2022.

SANTOS-BUELGA, C.; FELICIANO, A. S. Flavonoids: from structure to health issues. **Molecules**, v. 22, n. 3, p. 477, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22030477>.

SARTOR, R.B. **Modelagem, simulação e otimização de uma unidade industrial de extração de óleos essenciais por arraste a vapor.** 2009. 99f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, 2009.

SERNA, D. M. O.; MARTÍNEZ, J. H. I. Phenolics and polyphenolics from Melastomataceae species. **Molecules**, v. 20, n. 10, p. 17818-17847, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules201017818>.

SHEBIS, Y. *et al.* Natural antioxidants: function and sources. **Food and Nutrition Sciences**, vol. 4, no. 6, pp. 643–649, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.4236/fns.2013.46083>.

SILVA, C. B. da *et al.* Composição química e atividade alelopática do óleo volátil de *Hydrocotyle bonariensis* Lam (Araliaceae). **Química Nova**, v. 32, p. 2373-2376, 2009.
DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27134132>.

SILVA, N. A. *et al.* Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) NE Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.8, n.3, p.52-55, 2006.

SILVA, N. **Passos Iniciais do metabolismo de isoprenoides em Agiospernas: Genômica Evolutiva e Análises Moleculares em Coffea SPP.** 2020. 75p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro. 2020.

SILVA, V B *et al.* The Genus *Miconia* Ruiz & Pav.(Melastomataceae): Ethnomedicinal Uses, Pharmacology, and Phytochemistry. **Molecules**, v. 27, n. 13, p. 4132, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27134132>.

SILVA, T. da C. **Estudo Químico e Avaliação do Potencial Biológico das Folhas de *Cassia bakeriana* Craib.** 2019. 184p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

SILVA, L.J. D *et al.* Diazepam's antifungal activity in fluconazole-resistant *Candida spp.* and biofilm inhibition in *C. albicans*: evaluation of the relationship with the proteins ALS3 and SAP5. **Journal of Medical Microbiology**, v. 70, n. 3, p. 001308, 2021. DOI: DOI: [10.1099/jmm.0.001308](https://doi.org/10.1099/jmm.0.001308)

SIMIRGIOTIS, M. J.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Determination of phenolic composition and antioxidant activity in fruits, rhizomes and leaves of the white strawberry (*Fragaria chiloensis* spp. *chiloensis* form *chiloensis*) using HPLC-DAD-ESI-MS and free radical quenching techniques. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 6, p. 545-553, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.08.020>.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia**, da Planta ao Medicamento. v. 1, 2 a ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2006.

SINGH, A. *et al.* Profiling of gallic and ellagic acid derivatives in different plant parts of Terminalia arjuna by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS. **Natural product communications**, v. 11, n. 2, p. 1934578X1601100227, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0220-2>.

SINGH, A.; KUMAR, S.; KUMAR, B. LC-MS Identification of Proanthocyanidins in Bark and Fruit of six Terminalia species. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 5, p. 1934578X1801300511, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578X1801300511>.

SINGH, B.; SHARMA, R. A. Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. **3 Biotech**, v. 5, n. 2, p. 129-151, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0220-2>.

SIQUEIRA, S. **Atividades biológicas de extratos de *Solanum paludosum* Moric obtido por maceração e extração supercrítica**. 2010. 192 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto- Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

SIRAT, H. M.; REZALI, M. F.; UJANG, Z. Isolation and identification of radical scavenging and tyrosinase inhibition of polyphenols from *Tibouchina semidecandra* L. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 19, p. 10404-10409, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf102231h>.

SOARES, C. B. da. V. **Caminhada da Floração**, [S.l.], 2019. Disponível em: <https://www.amigosjb.org.br/wp-content/uploads/2019/07/FLORA%C3%87%C3%83O-JUNHOJULHO-2019-compactado.pdf>. Acesso: 08 jul.2022.

SOBRINHO, A. P. *et al.* Characterization of anti-inflammatory effect and possible mechanism of action of *Tibouchina granulosa*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 69, n. 6, p. 706-713, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/jphp.12712>.

SOLARTE, N. *et al.* First accurate profiling of antioxidant anthocyanins and flavonols of *Tibouchina urvilleana* and *Tibouchina mollis* edible flowers aided by fractionation with

Amberlite XAD-7. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 57, n. 4, p. 2416-2423, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.15600>.

SOUSA, C. M. de M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>.

SOUZA, C. P. de. Biologia sintética de *Yarrowia lipolytica* visando a produção de biossurfactantes e carotenoides. 2020. 207 p. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro, 2020.

SOUZA, T. J. T. D. **Estudo dos constituintes químicos dos óleos voláteis de espécies de *Eupeatorium* nativas do Rio Grande do Sul e construção de banco de dados de lactonas sesquiterpênicas**. Orientador: Miriam Anders Apel. 2014. 302 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêutica, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

SOVA, M.; SASO, L. Natural sources, pharmacokinetics, biological activities and health benefits of hydroxycinnamic acids and their metabolites. **Nutrients**, v. 12, n. 8, p. 2190, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12082190>.

SUNG, W. S.; LEE, D. G. Antifungal action of chlorogenic acid against pathogenic fungi, mediated by membrane disruption. **Pure and applied chemistry**, v. 82, n. 1, p. 219-226, 2010. DOI: 10.1351/PAC-CON-09-01-08.

SPEISKY, H *et al.* Revisiting the oxidation of flavonoids: Loss, conservation or enhancement of their antioxidant properties. **Antioxidants**, v. 11, n. 1, p. 133, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11010133>.

SPIEGEL, M. *et al.* Antioxidant activity of selected phenolic acids–ferric reducing antioxidant power assay and QSAR analysis of the structural features. **Molecules**, v. 25, n. 13, p. 3088, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25133088>.

SPRENGER, G. A. *et al.* Identification of a thiamin-dependent synthase in *Escherichia coli* required for the formation of the 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate precursor to isoprenoids, thiamin, and pyridoxol. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, n. 24, p. 12857-12862, 1997.

DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.94.24.12857>.

STRATAKOS, A. C.; KOIDIS, A. Methods for extracting essential oils. In: **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. 1ed. London: Academic Press, 2016. p. 31-38.

DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3>.

SUN, J. *et al.* Screening non-colored phenolics in red wines using liquid chromatography/ultraviolet and mass spectrometry/mass spectrometry libraries. **Molecules**, v. 12, n. 3, p. 679-693, 2007.

DOI: <https://doi.org/10.3390/12030679>.

SZYMBORSKA, K.; FRANŃSKI, R.; BESZTERDA-BUSZCZAK, M. Extraction with Acidified Methanol—An Easy and Effective Method of Methyl Chlorogenate Formation, as Studied by ESI-MS. **Molecules**, v. 27, n. 21, p. 7543, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27217543>.

TAHERI, Y. *et al.* Paving luteolin therapeutic potentialities and agro-food-pharma applications: emphasis on in vivo pharmacological effects and bioavailability traits.

Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2021, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/1987588>.

TAIZ, L. *et al.* **A Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. In: **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre, Artmed; 4. ed; 2009. 848 p

TALAPATRA, S. K.; TALAPATRA, B. **Chemistry of Plant Natural Products: Stereochemistry, Conformation, Synthesis, Biology, and Medicine**. New York: Springer, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-45410-3>.

TAN, H.P.; LIN, S.K.; CHUAH, C.H. Characterisation of galloylated cyanogenic glucosides and hydrolysable tannins from leaves of *Phyllagathis rotundifolia* by LC-ESI-MS/MS.

Phytochemical Analysis, v. 22, n. 6, p. 516-525, 2011.

DOI: <https://doi.org/10.1002/pca.1312>.

THANGAVEL, P *et al.* Genistein as potential therapeutic candidate for menopausal symptoms and other related diseases. **Molecules**, v. 24, n. 21, p. 3892, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24213892>.

TISSIER, A. Plant secretory structures: more than just reaction bags. **Current opinion in biotechnology**, v. 49, p. 73-79, 2018.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.08.003>.

TOKUMO, K. *et al.* Effects of (Z)-3-hexenol, a major component of green odor, on anxiety-related behavior of the mouse in an elevated plus-maze test and biogenic amines and their metabolites in the brain. **Behavioural brain research**, v. 166, n. 2, p. 247-252, 2006.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.08.008>.

TONG, Z *et al.* Biological function of plant tannin and its application in animal health.

Frontiers in Veterinary Science, v. 8, p. 1597, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.803657>.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. **Journal of food science**, v. 79, n. 7, p. R1231-R1249, 2014.

DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12492>.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 2012, 967 p.

ULLAH, A *et al.* Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5243, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>.

VALANCIENE, E *et al.* Advances and prospects of phenolic acids production, biorefinery and analysis. **Biomolecules**, v. 10, n. 6, p. 874, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10060874>.

VANDENDOOL, H.; KRATZ, P. D. A Generalization of the retention index System including linear temperature programmed gas-liquid Partition chromatography. **Journal of chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)80947-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)80947-x).

WAGNER, H; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. Springer Science & Business Media, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9>.

WYREPKOWSKI, C. C. *et al.* Characterization and quantification of the compounds of the ethanolic extract from *Caesalpinia ferrea* stem bark and evaluation of their mutagenic activity. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16039-16057, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules191016039>.

XIAO, F *et al.* Guidelines for antioxidant assays for food components. **Food Frontiers**, v. 1, n. 1, p. 60-69, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/fft2.10>.

XIE, C. *et al.* Investigation of isomeric transformations of chlorogenic acid in buffers and biological matrixes by ultraperformance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole/ion mobility/orthogonal acceleration time-of-flight mass spectrometry. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 20, p. 11078-11087, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf203104k>.

XIONG, C. *et al.* In vitro antimicrobial activities and mechanism of 1-octen-3-ol against food-related bacteria and pathogenic fungi. **Journal of oleo science**, p. ess16196, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5650/jos.ess16196>.

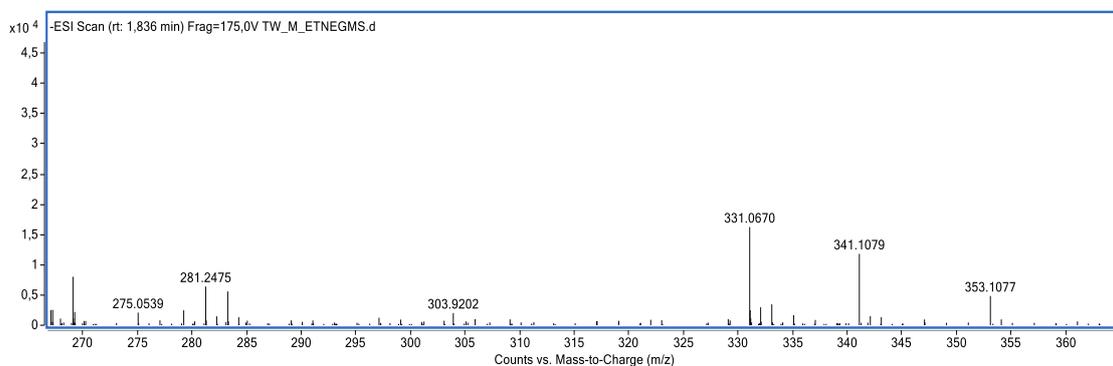
XU, F *et al.* Constituents of Da-Cheng-Qi decoction and its parent herbal medicines determined by LC-MS/MS. **Natural Product Communications**, v. 5, n. 5, p. 1934578X1000500522, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578X1000500522>.

ZEB, A. **Phenolic Antioxidants in Foods: Chemistry, Biochemistry and Analysis**. Berlin/Heidelberg, Germany: Springer, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-74768-8>.

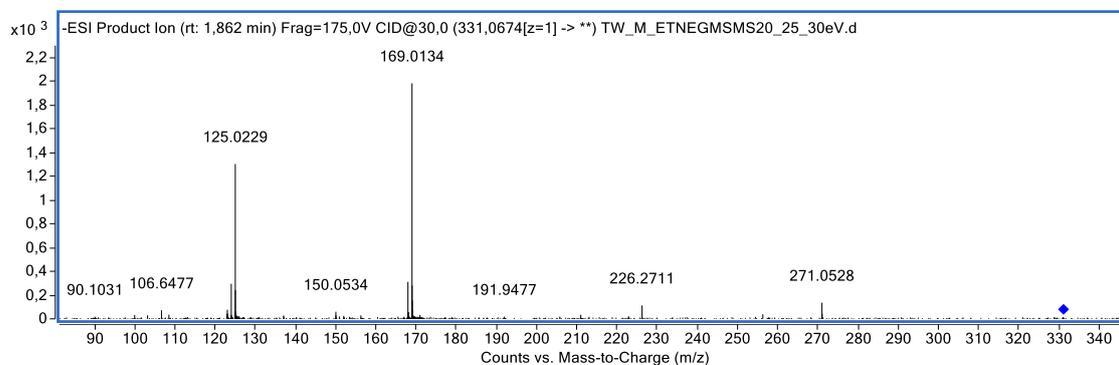
ZHANG, Y. *et al.* Compounds identification in semen cuscuteae by ultra-high-performance liquid chromatography (UPLCs) coupled to electrospray ionization mass spectrometry. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1199, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23051199>.

ZHANG, Y.; CAI, P.; CHENG, G.; ZHANG, Y. A brief review of phenolic compounds identified from plants: Their extraction, analysis, and biological activity. **Natural Product Communications**, v. 17, n. 1, p. 1934578X211069721, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578X211069721>.

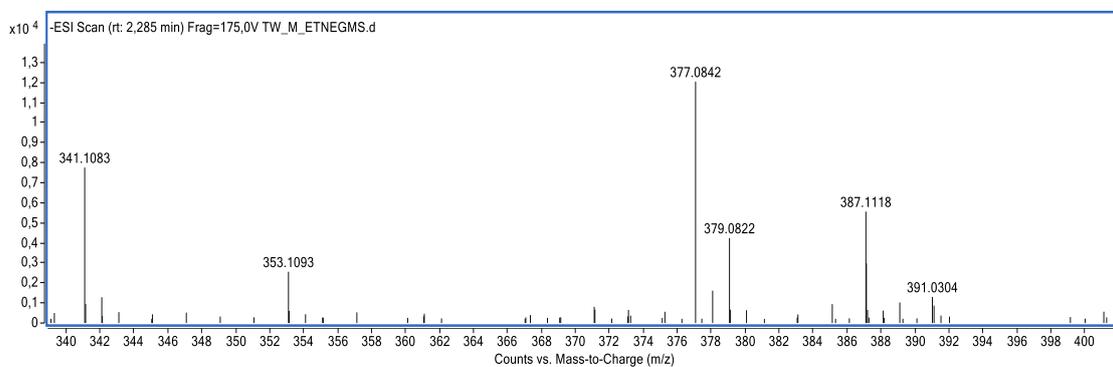
APÊNDICE A- ESPECTRO DE MASSAS DA TABELA 18



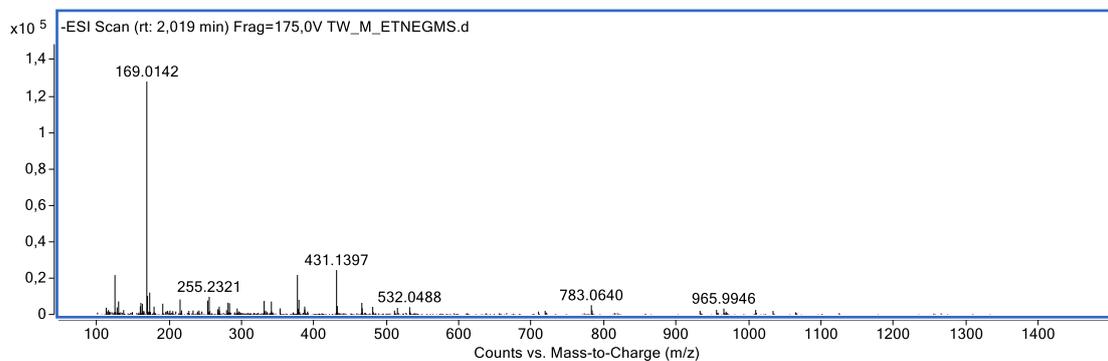
(-)-EM m/z 331,0670 [M - H]⁻



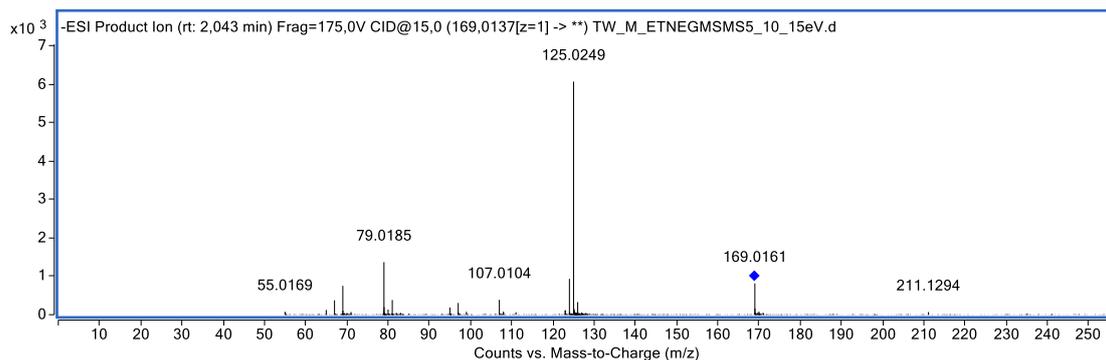
(-)-IES-EM/EM m/z 331,0670 [M - H]⁻



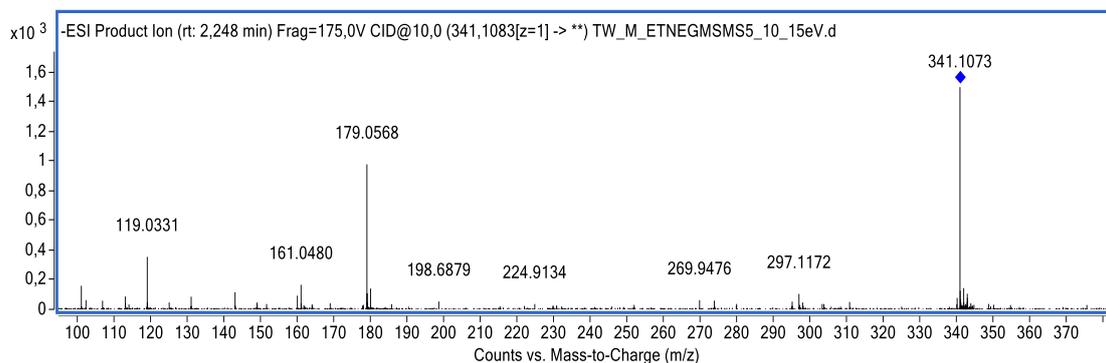
(-)-EM m/z 341,1083 [M - H]⁻



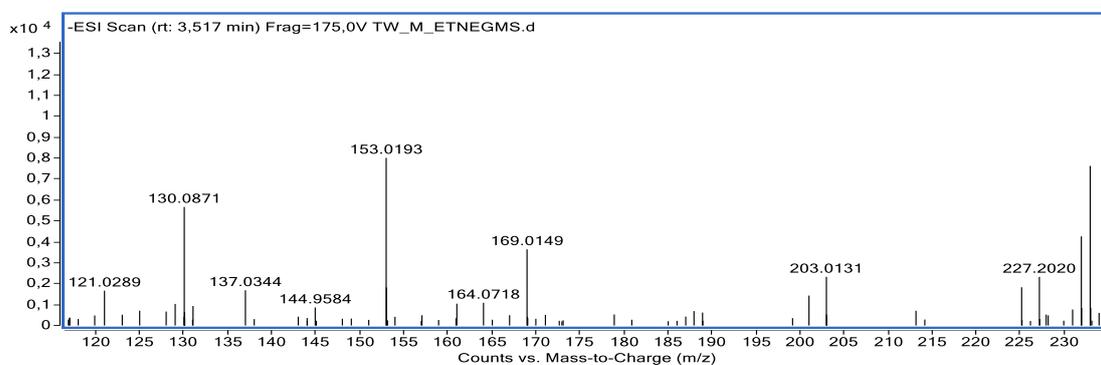
(-)-EM m/z 169,0142 [M - H]⁻



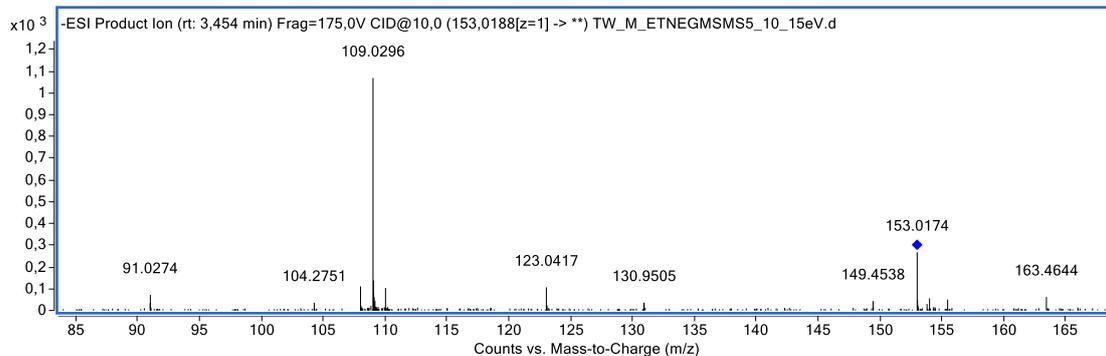
(-)-IES-EM/EM m/z 169,0142 [M - H]⁻



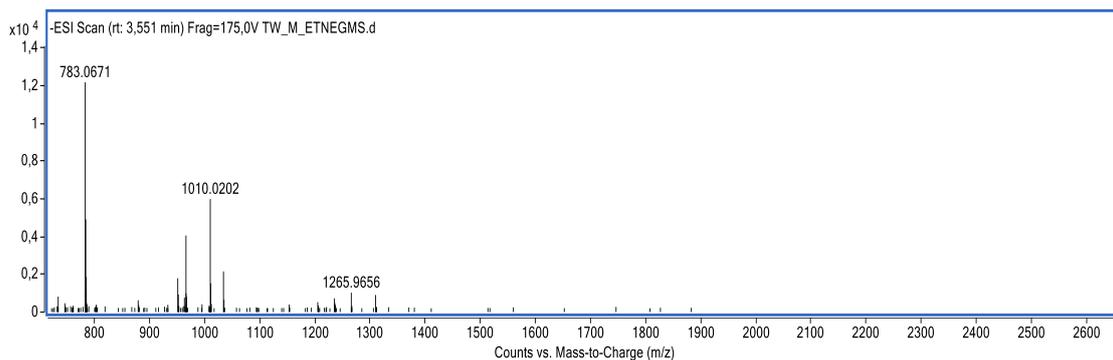
(-)-IES-EM/EM m/z 341,1083 [M - H]⁻



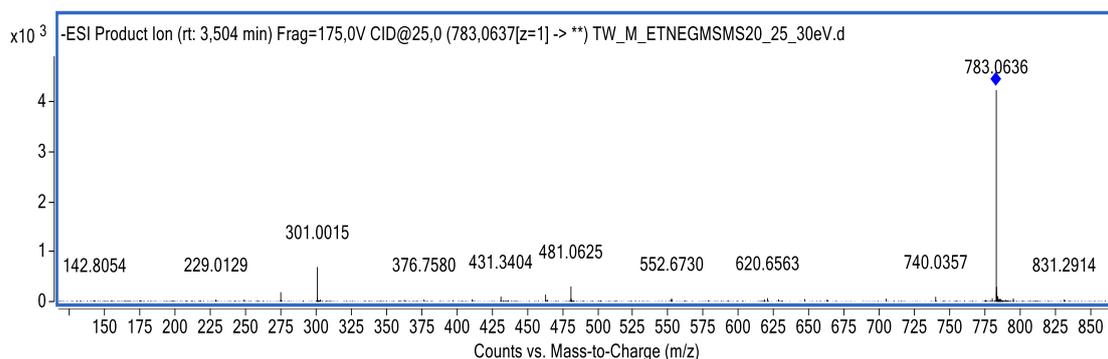
(-)-EM m/z 153,0193 [M - H]⁻



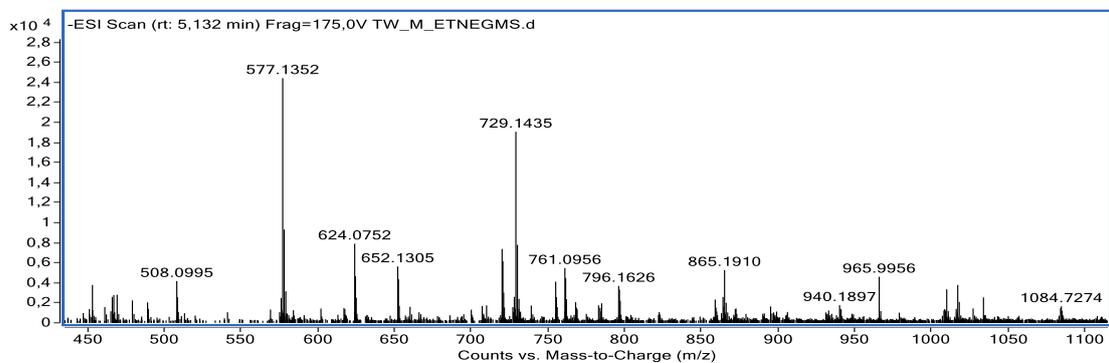
(-)-IES-EM/EM m/z 153,0193 [M - H]⁻



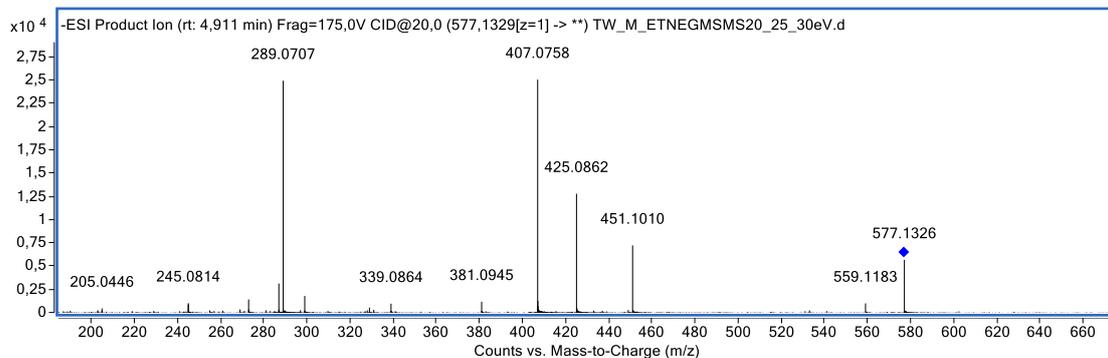
(-)-EM m/z 783,0671[M - H]⁻



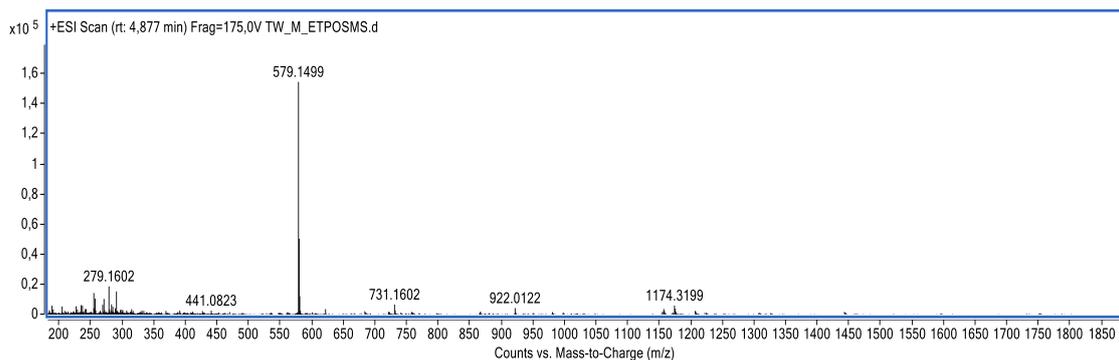
(-)-IES-EM/EM m/z 783,0671[M - H]⁻



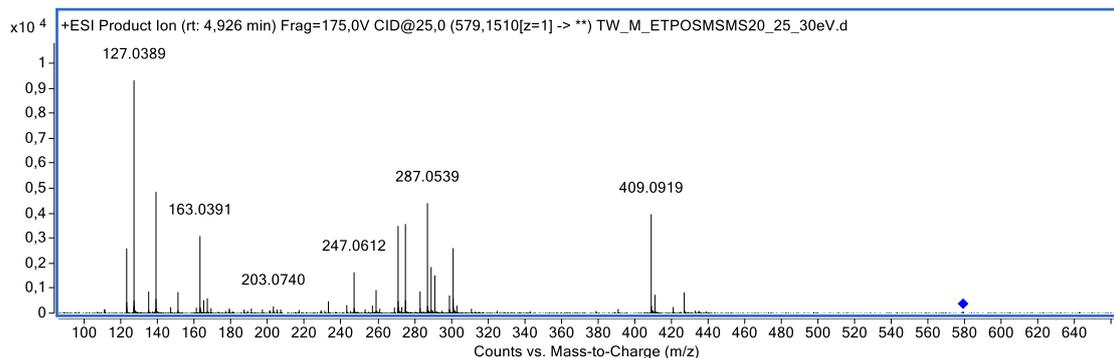
(-)-EM m/z 577,1352[M - H]⁻



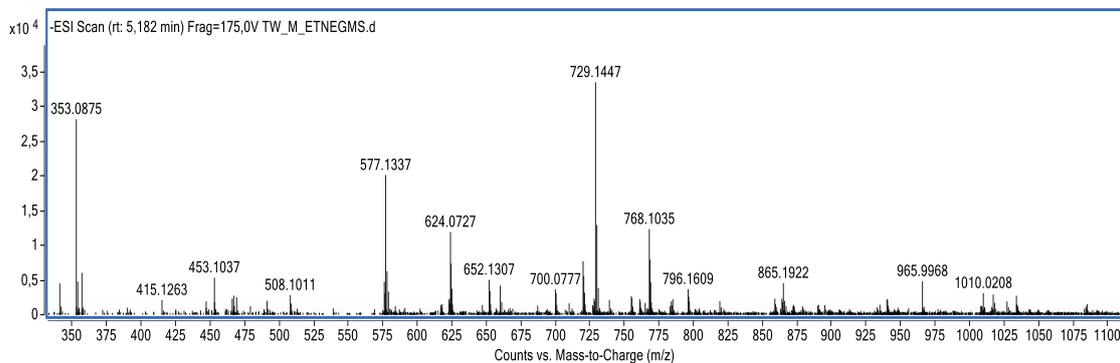
(-)-IES-EM/EM m/z 577,1352 [M - H]⁻



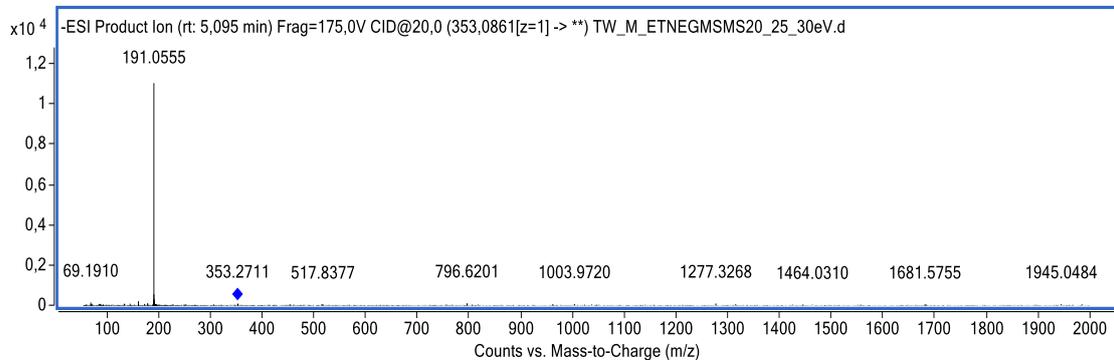
(-)-EM m/z 579,1499 [M + H]⁺



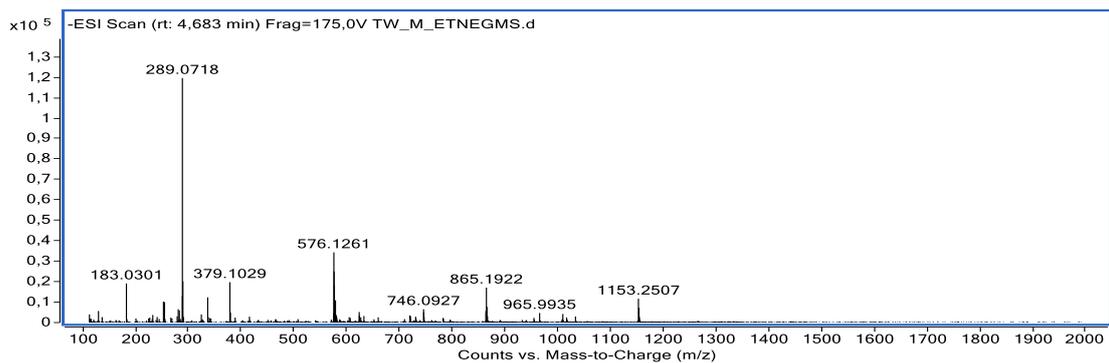
(-)-IES-EM/EM m/z 579,1499 [M + H]⁺



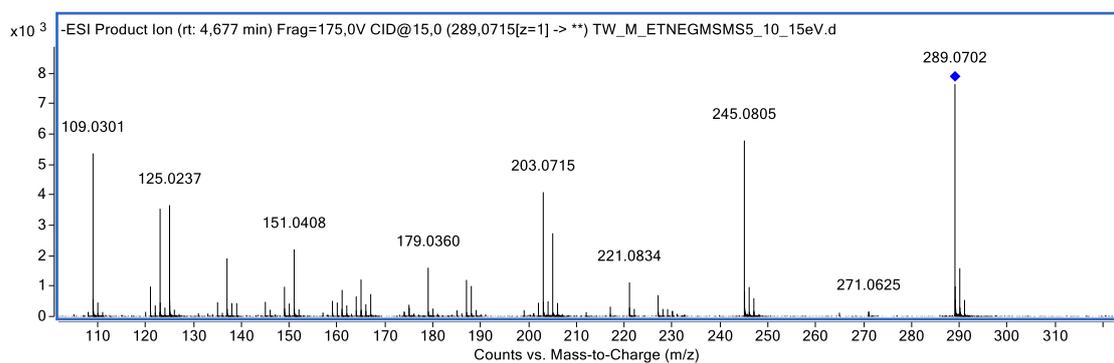
(-)-EM m/z 353,0875 [M - H]⁻



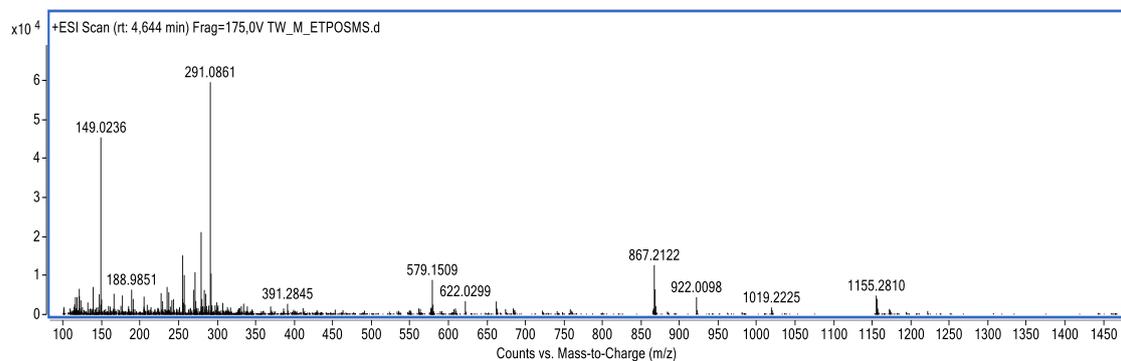
(-)-IES-EM/EM m/z 353,0875 [M - H]⁻



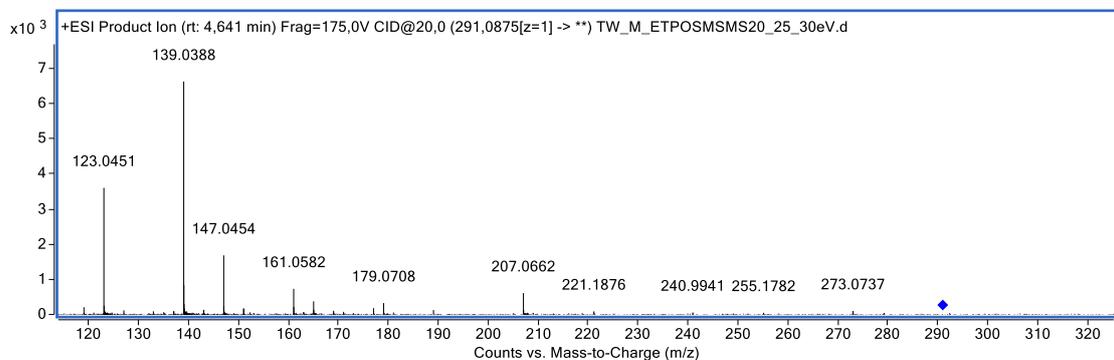
(-)-EM m/z 289,0718[M - H]⁻



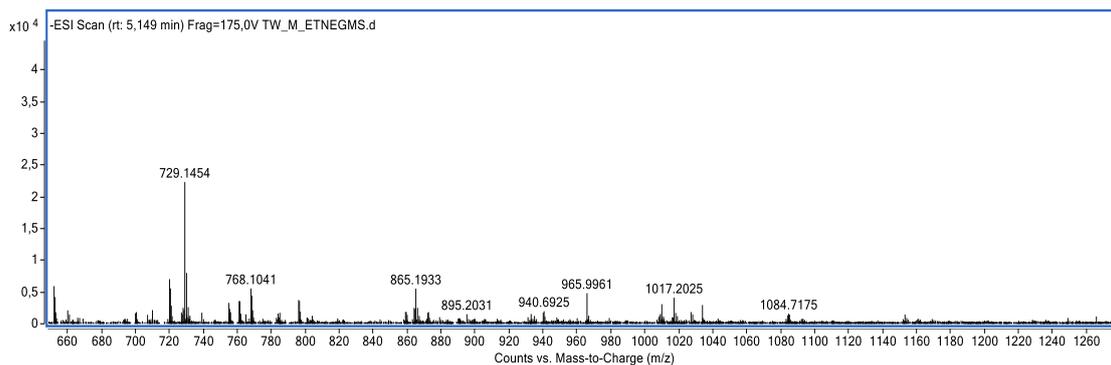
(-)-IES-EM/EM m/z 289,0718 [M - H]⁻



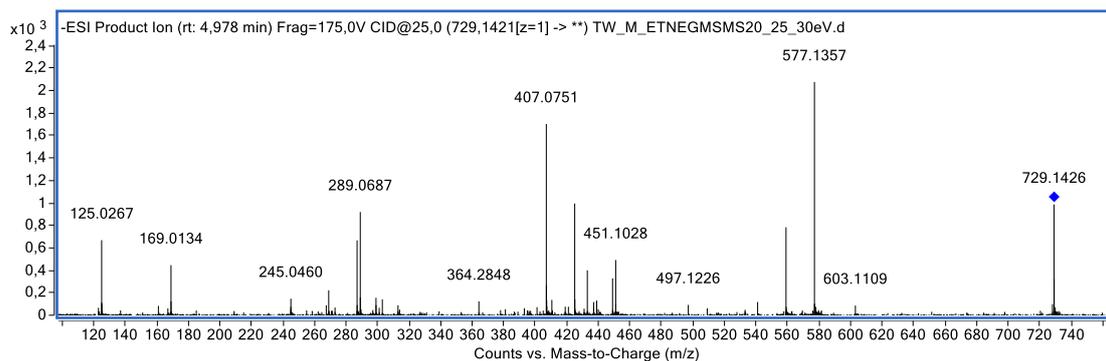
(-)-EM m/z 291,0861 [M + H]⁺



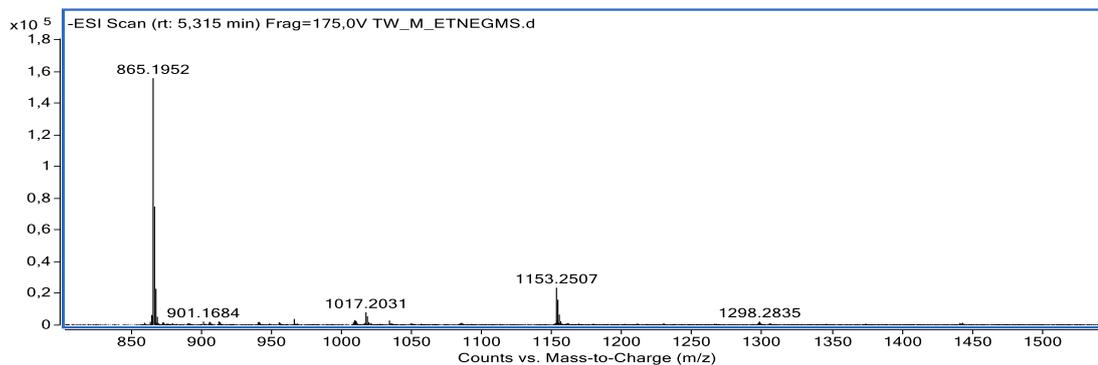
(-)-IES-EM/EM m/z 291,0861 [M + H]⁺



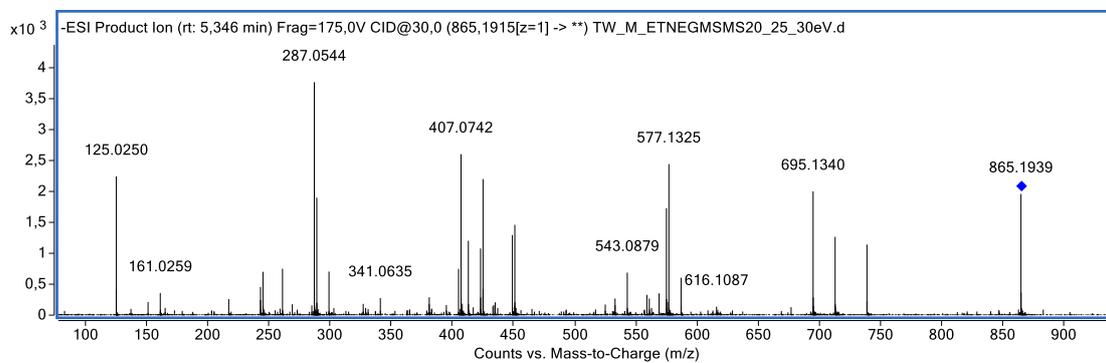
(-)-EM m/z 729,1454[M - H]⁻



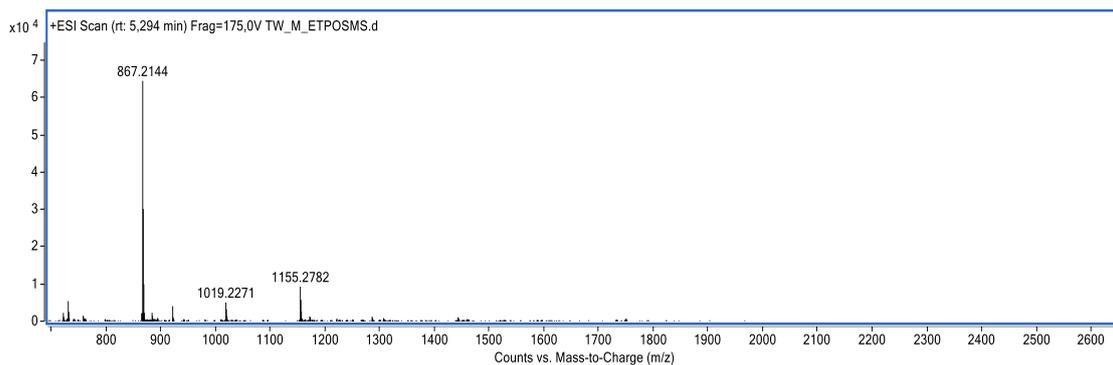
(-)-IES-EM/EM m/z 729,1454 [M - H]⁻



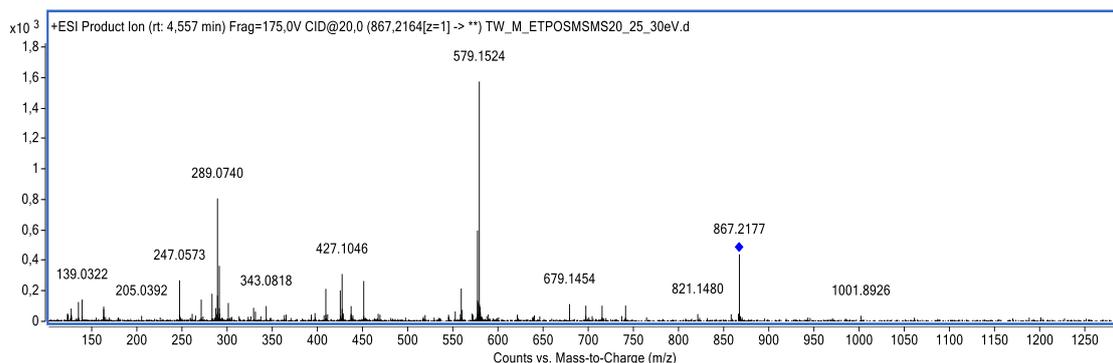
(-)-EM m/z 865,1952[M - H]⁻



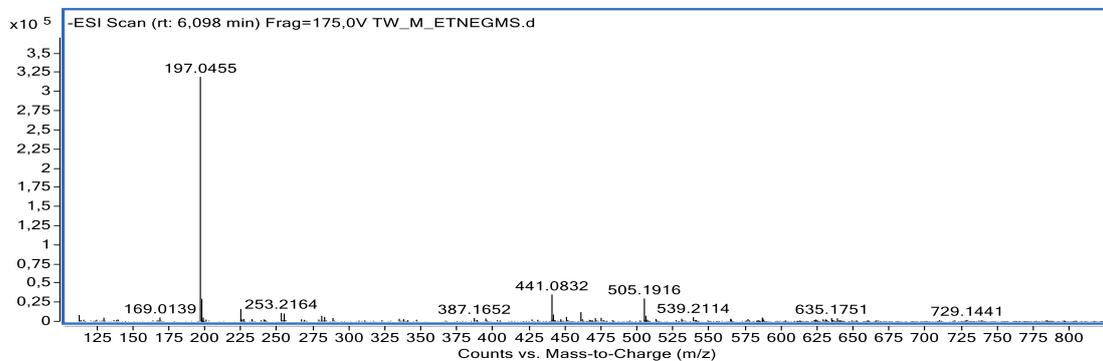
(-)-IES-EM/EM m/z 865,1952[M - H]⁻



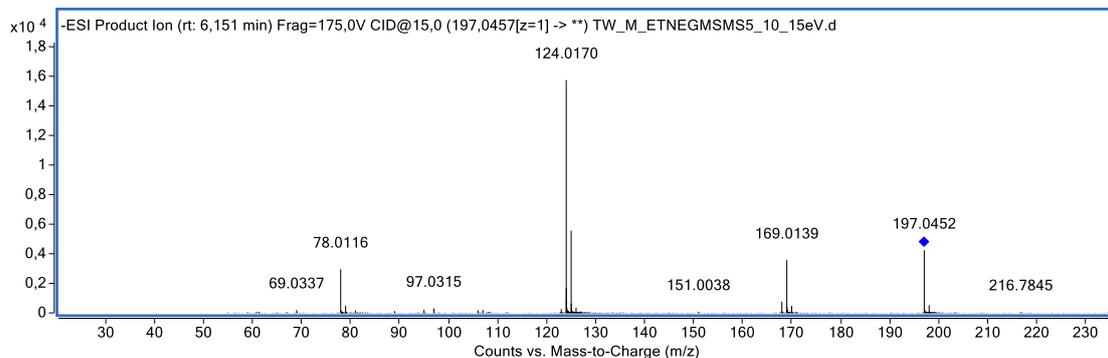
(-)-EM m/z 867,2131 $[M + H]^+$



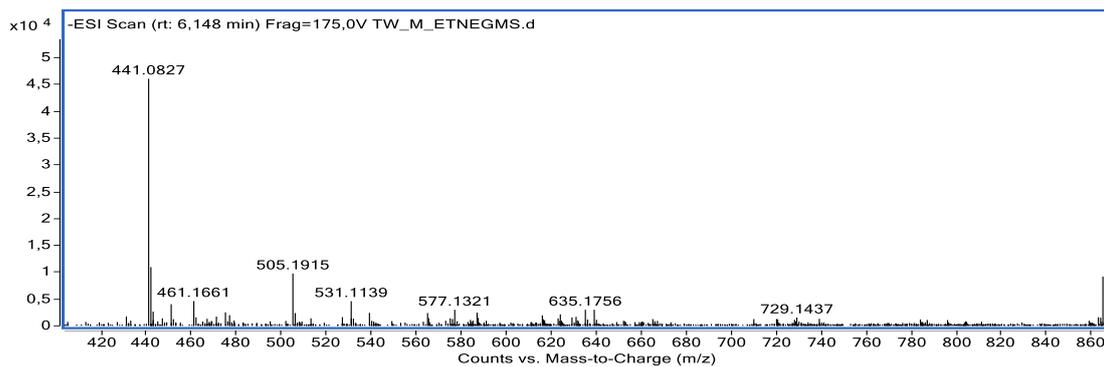
(-)-IES-EM/EM m/z 867,2131 $[M + H]^+$



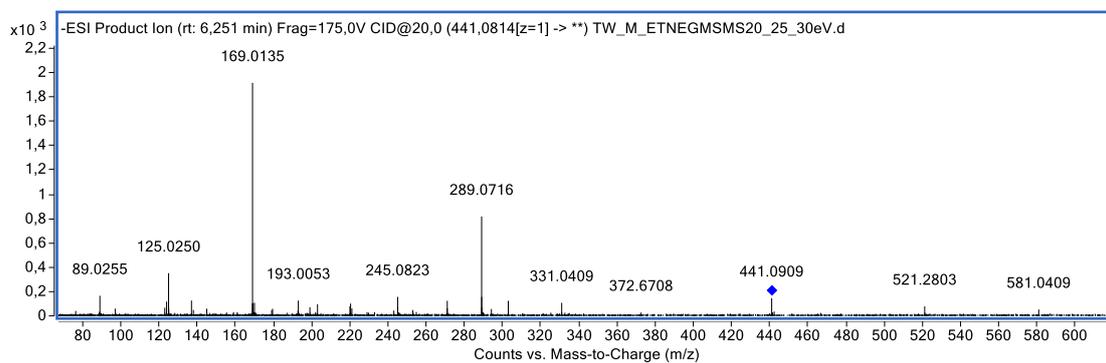
(-)-EM m/z 197,0455 $[M - H]^-$



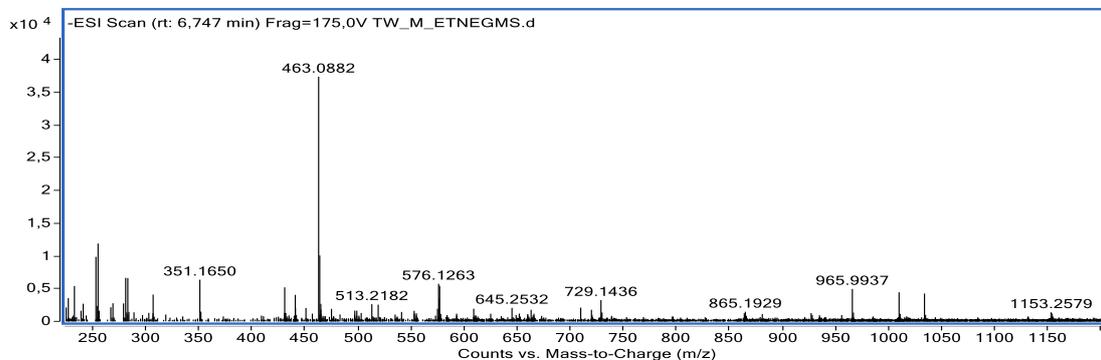
(-)-IES-EM/EM m/z 197,0455 $[M - H]^-$



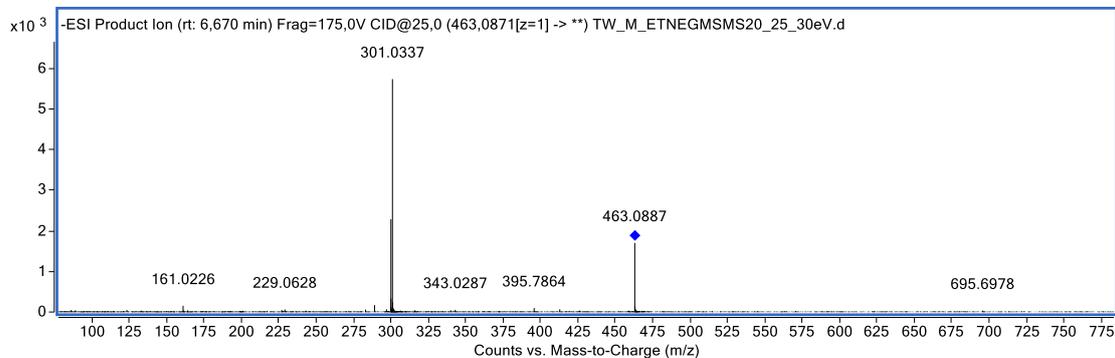
(-)-EM m/z 441,0827 [M - H]⁻



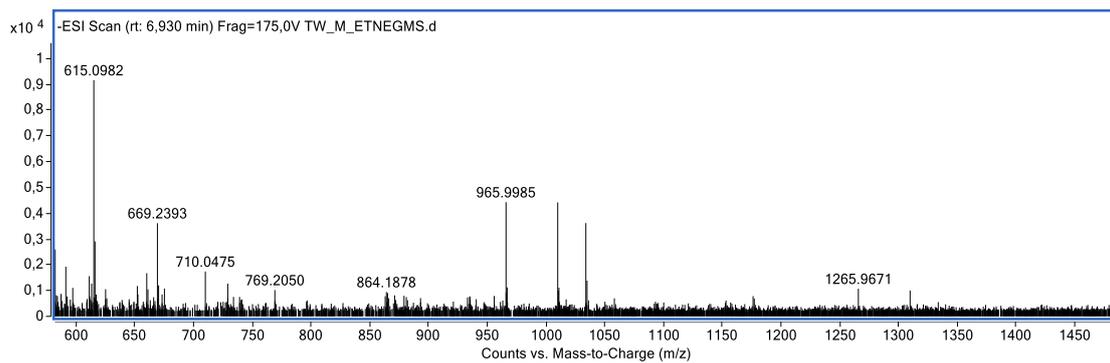
(-)-IES-EM/EM m/z 441,0827 [M - H]⁻



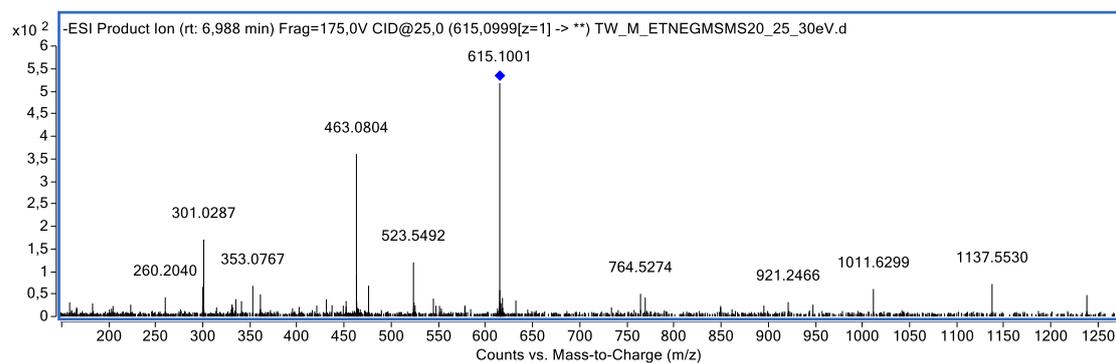
(-)-EM m/z 463,0882 [M - H]⁻



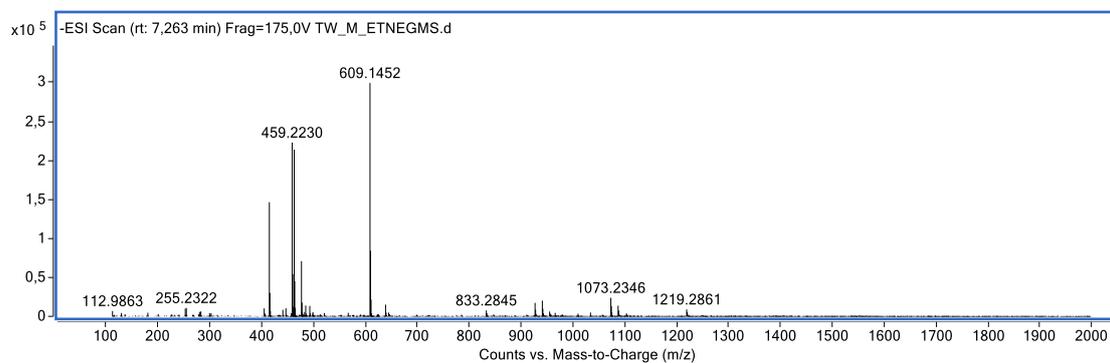
(-)-IES-EM/EM m/z 463,0882 [M - H]⁻



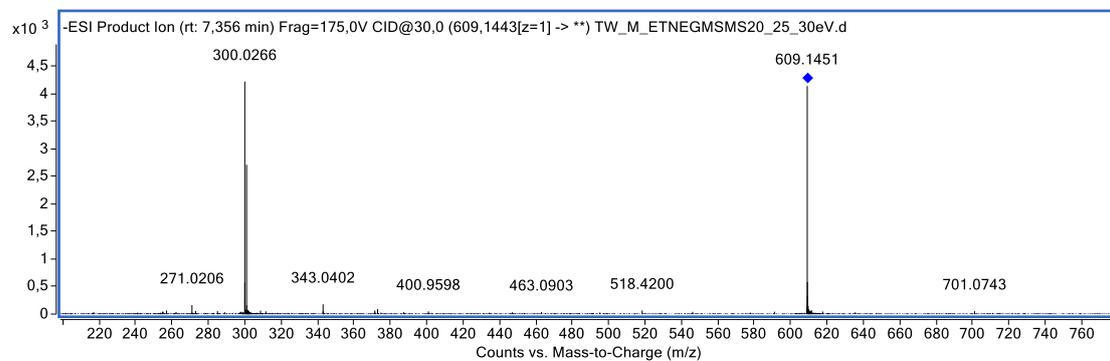
(-)-EM m/z 615,0992 [M - H]⁻



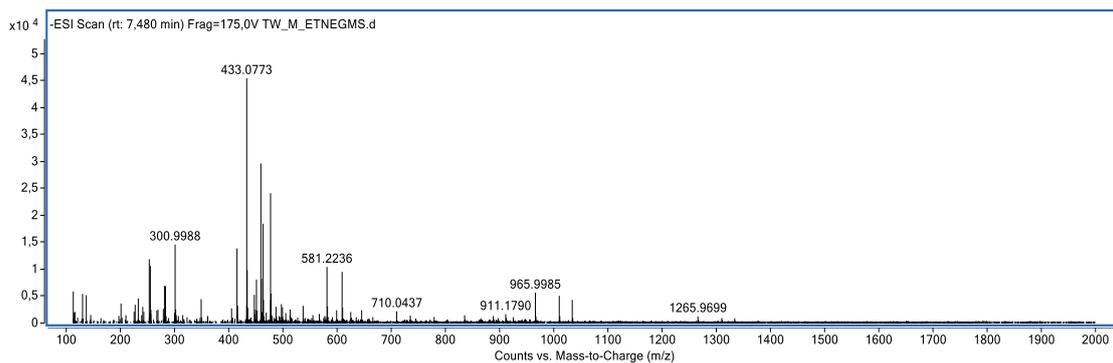
(-)-IES-EM/EM m/z 615,0992 [M - H]⁻



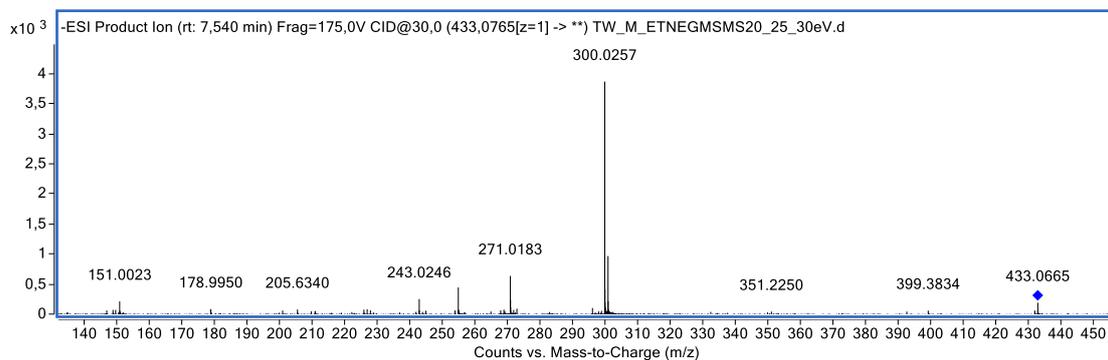
(-)-EM m/z 609,1452 [M - H]⁻



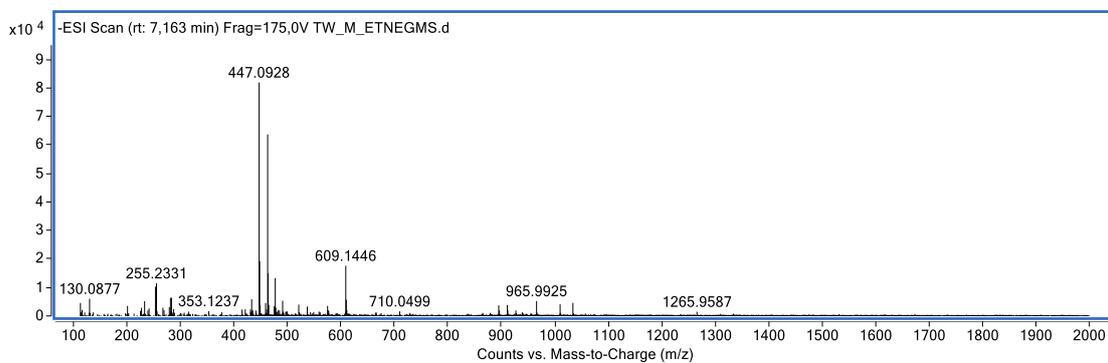
(-)-IES-EM/EM m/z 609,1452 [M - H]⁻



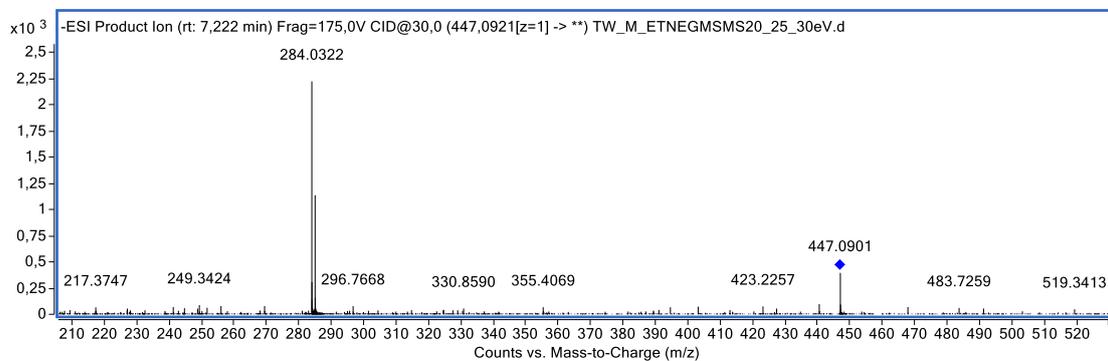
(-)-EM m/z 433,0773 [M - H]⁻



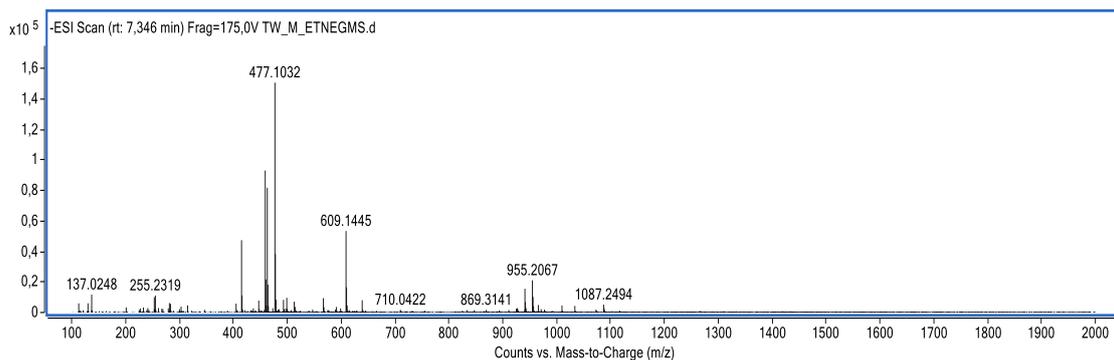
(-)-IES-EM/EM m/z 433,0773 [M - H]⁻



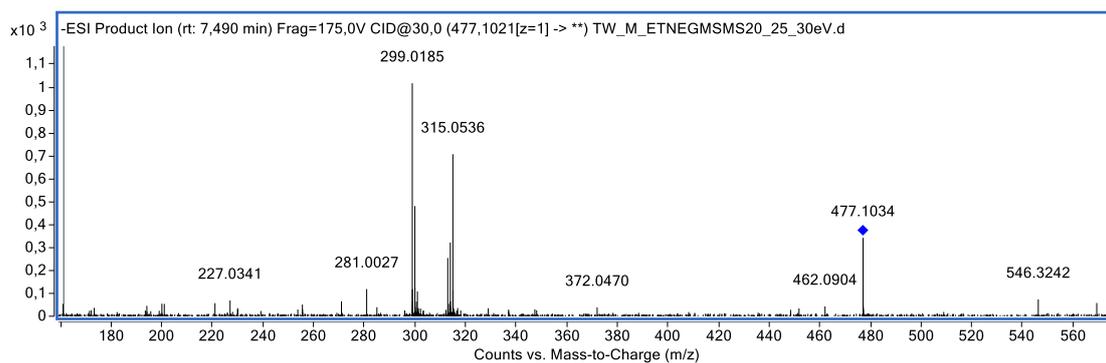
(-)-EM m/z 447,0933 [M - H]⁻



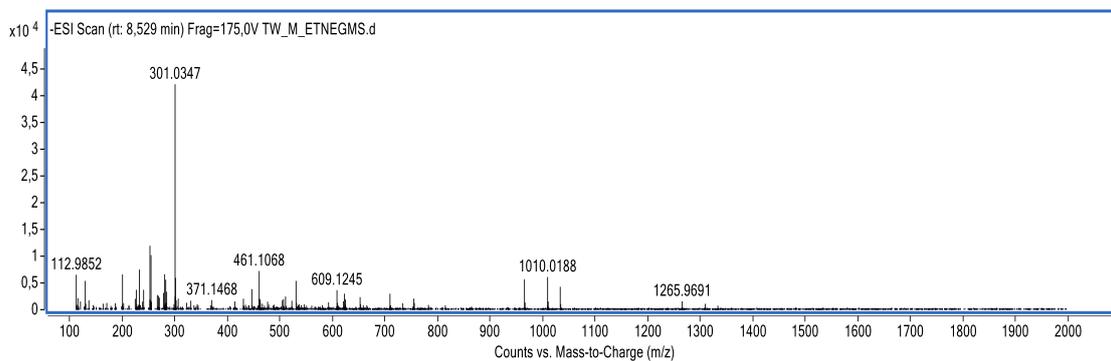
(-)-IES-EM/EM m/z 447,0933 [M - H]⁻



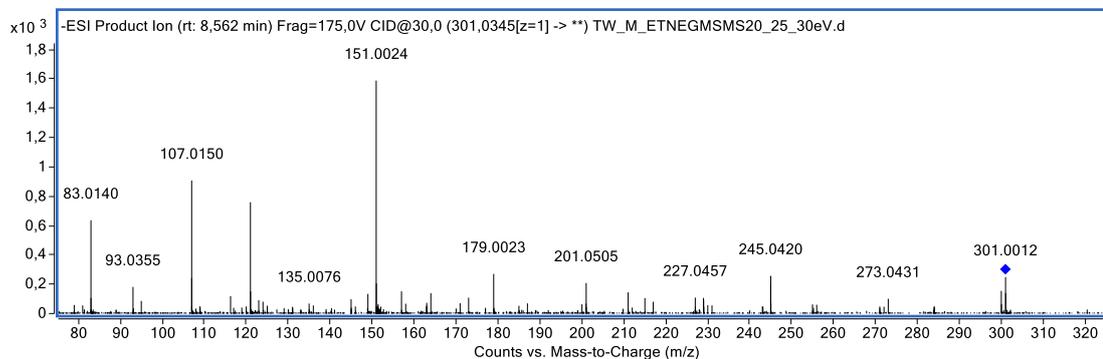
(-)-EM m/z 477,1032 $[M - H]^-$



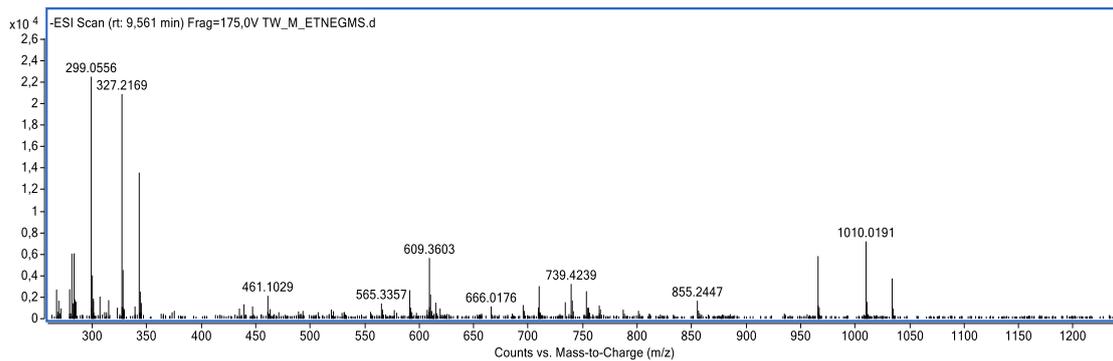
(-)-IES-EM/EM m/z 477,1032 $[M - H]^-$



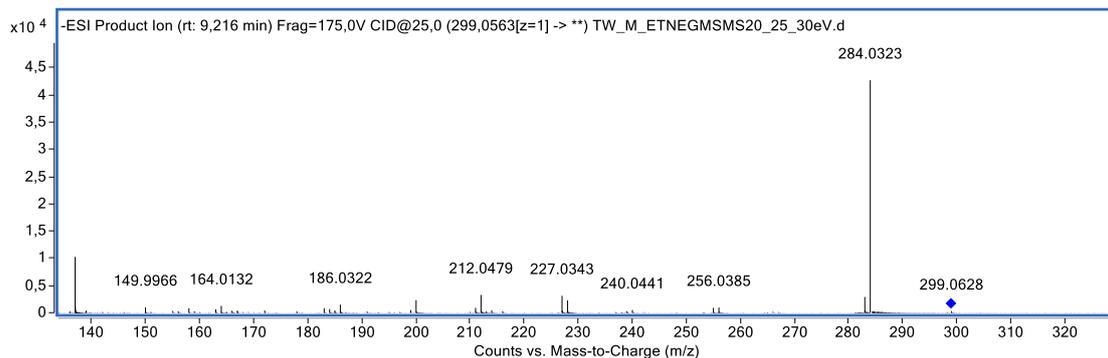
(-)-EM m/z 301,0347 $[M - H]^-$



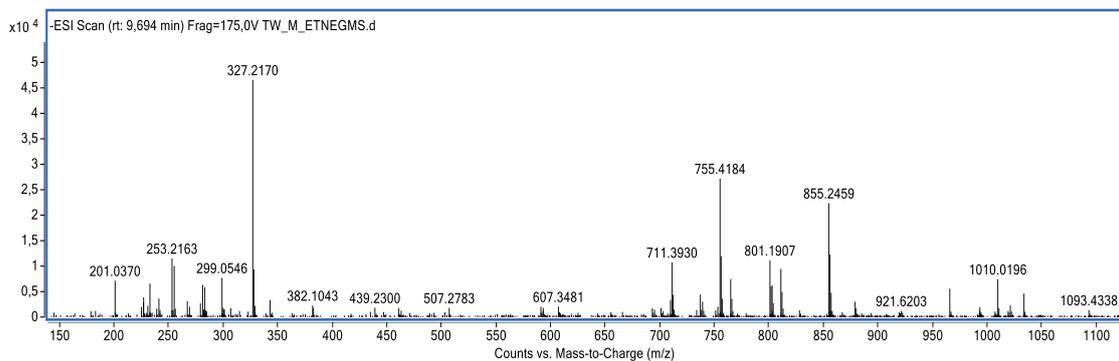
(-)-IES-EM/EM m/z 301,0347 $[M - H]^-$



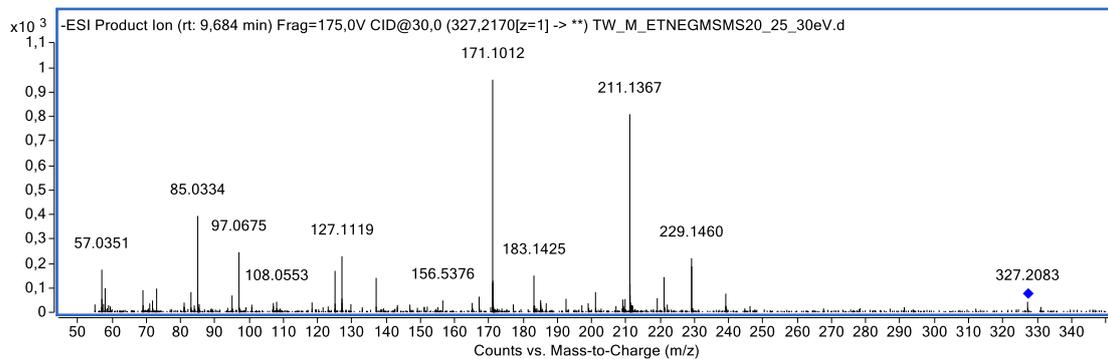
(-)-EM m/z 299,0556 [M - H]⁻



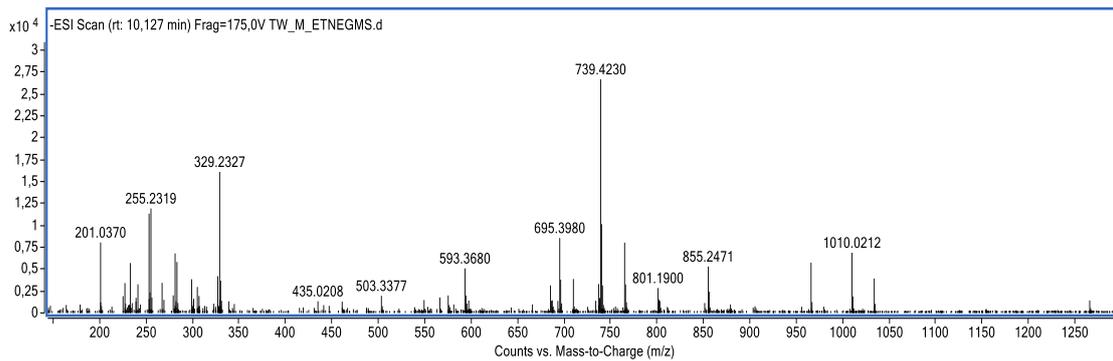
(-)-IES-EM/EM m/z 299,0556 [M - H]⁻



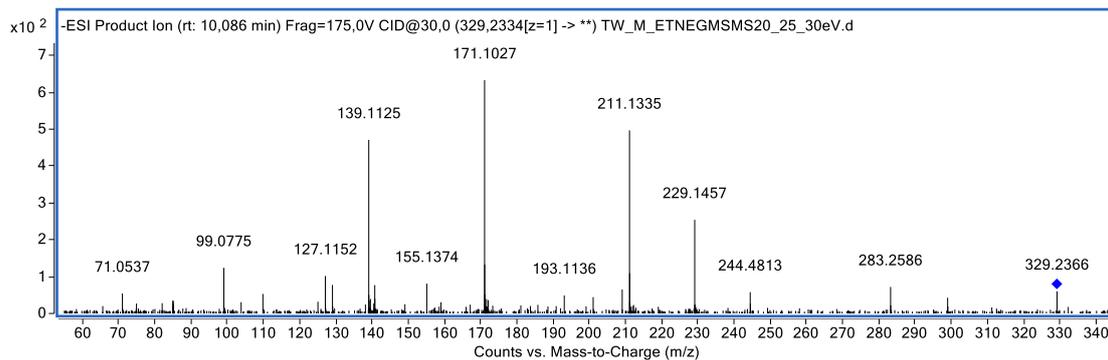
(-)-EM m/z 327,2170 [M - H]⁻



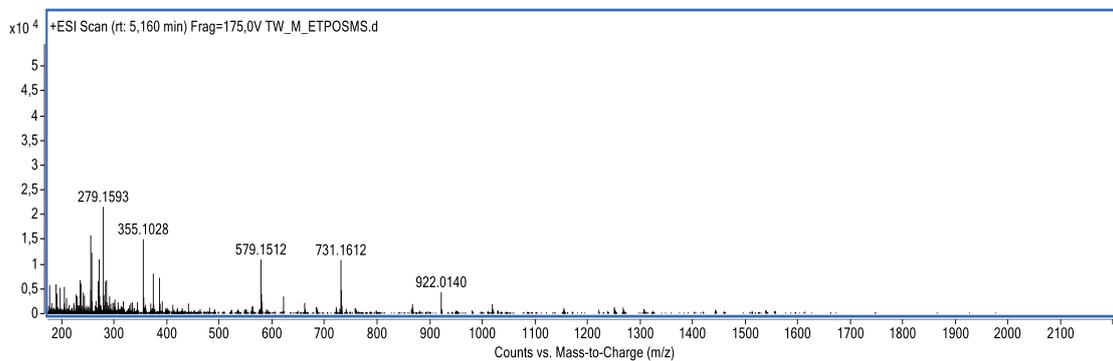
(-)-IES-EM/EM m/z 327,2170 [M - H]⁻



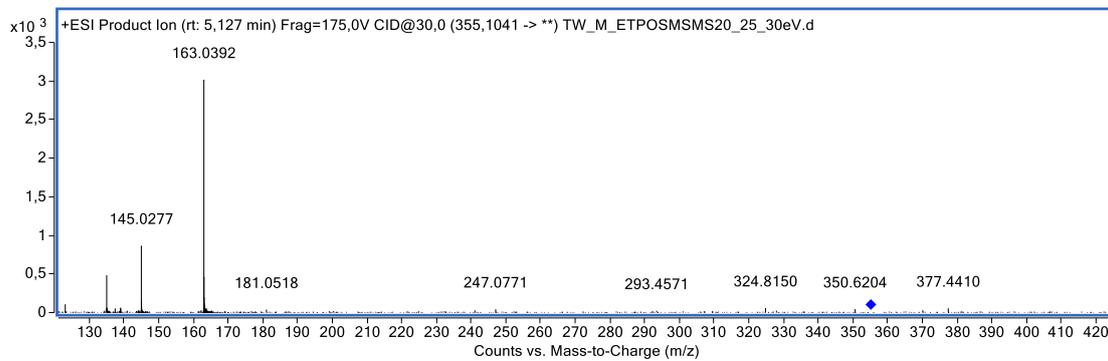
(-)-EM m/z 329,2327 $[M - H]^-$



(-)-IES-EM/EM m/z 329,2327 $[M - H]^-$



(-) -EM m/z 355,1028 $[M + H]^+$



(-) -IES-EM/EM m/z 355,1028 $[M + H]^+$