

Universidade Federal de Uberlândia

GABRIELA SELLA SEHNEM

**Composição química dos extratos de *Miconia ibaguensis*
(MELASTOMATACEAE) e avaliação do potencial biológico**

Uberlândia

2024

GABRIELA SELLA SEHNEM

**Composição química dos extratos de *Miconia ibaguensis*
(MELASTOMATACEAE) e avaliação do potencial biológico**

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 Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Alberto de Oliveira

Uberlândia

2024

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

5456 2024	<p>Sehnm, Gabriela Sella, 1994- Composição química dos extratos de <i>Miconia ibaguensis</i> (MELASTOMATACEAE) e avaliação do potencial biológico [recurso eletrônico] / Gabriela Sella Sehnm. - 2024.</p> <p>Orientador: Alberto de Oliveira. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Química. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2024.381 Inclui bibliografia.</p> <p>1. Química. I. Oliveira, Alberto de, 1979-., (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Química. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 54</p>
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB8/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB8/3074



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 392, PPGQUI				
Data:	Vinte de fevereiro de dois mil e vinte e quatro	Hora de início:	14h15min	Hora de encerramento:	16h50min
Matrícula do Discente:	12212QMI003				
Nome do Discente:	Gabriela Sella Sehnem				
Título do Trabalho:	Composição química dos extratos de <i>Miconia ibaguensis</i> (MELASTOMATACEAE) e avaliação do potencial biológico				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Medicinal, Química de Produtos Naturais e Síntese Orgânica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Estudo químico e biológico de espécies do Cerrado				
ODS	ODS 3 - Saúde e bem-estar: assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades. ODS 15 - Vida terrestre: proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da Terra e deter a perda da biodiversidade.				

Reuniu-se, por webconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: **Marcos Pivatto**, da Universidade Federal de Uberlândia; **Grasiely Faria de Sousa**, da Universidade Federal de Minas Gerais, e **Alberto de Oliveira**, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. **Alberto de Oliveira**, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu à 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(às) 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):

Aprovada.

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 **Alberto de Oliveira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 20/02/2024, às 17:07, 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 **Marcos Pivatto, Professor(a) do Magistério Superior**, em 20/02/2024, às 17:07, 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 **Grasiely Faria de Sousa, Usuário Externo**, em 20/02/2024, às 17:07, 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 **5127896** e o código CRC **61ED1E36**.

AGRADECIMENTOS

Início agradecendo a Deus, por Sua inspiração divina, pelas oportunidades que coloca em nossas vidas e pelos recomeços. Agradeço a Ele também por ter colocado em meu caminho pessoas e situações que constantemente me lembram do meu potencial.

Aos meus pais, Carlos e Margarete, pelo apoio incondicional, suporte emocional e empurrãozinho de sempre.

Ao meu marido Marcelo pela paciência e admiração mútua, ficamos um período longe fisicamente, porém a sintonia para realização dos projetos foi compartilhada.

Aos colegas de laboratório do NuPPEñ pelo aprendizado e convivência que foram fundamentais na minha formação. Agradeço especialmente a Dra. Tiara da Costa Silva e ao Me. Diego Godina Prado pela condução e por tantos ensinamentos que foram além da química.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Alberto de Oliveira pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa, pela orientação e suporte ao longo desses 2 anos. À Profa. Dra. Raquel de Sousa, por ser inspiração, pelas trocas e incentivo.

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique G. Martins do Laboratório de Ensaio Antimicrobianos (LEA-UFU) e as alunas: Sara Lemes de Souza, Anna Livia Oliveira Santos e M.a. Mariana Brentini Santiago pela realização dos ensaios antimicrobianos.

Ao Prof. Dr. Foued Salmen Spindola do Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LABIBI-UFU) pela parceria para realização dos ensaios de avaliação das atividades antioxidantes e antidiabéticas com a colaboração dos alunos: Me. Vinícius Prado Bittar, M.a. Ana Luiza Silva Borges e ao Dr. Allisson Benatti Justino.

Ao Laboratório de Nanobiotecnologia Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho-UFU onde foram realizadas as análises de CLAE-EM pelo Dr. Mário Machado Martins.

À FAPEMIG (Projeto APQ-01612-18), à CAPES pela bolsa concedida e ao CNPq pelo apoio financeiro e projetos aprovados.

Ao Instituto de Química da UFU e ao Programa de Pós-Graduação em Química, que propiciaram à realização desse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

A *Miconia ibaguensis*, pertencente à família Melastomataceae, está presente no bioma Cerrado. Espécies do gênero *Miconia* são reconhecidas por suas propriedades medicinais, o que motivou o estudo químico e biológico inédito da espécie *M. ibaguensis*. Deste modo, este trabalho visa explorar a composição química e potenciais propriedades medicinais da *M. ibaguensis*. Os extratos hexânico (EH) e etanólico (EE) foram obtidos por maceração, e frações diclorometano (FD), acetato de etila (FAE), *n*-butanol (FB) e aquosa (FA) foram obtidas por extração líquido-líquido a partir do EE. Atividades antimicrobianas revelaram que a FAE apresentou relevante atividade antifúngica contra *Candida* spp., com concentração inibitória mínima (CIM) entre 1,95 e 3,90 $\mu\text{g mL}^{-1}$, destacando-se contra *Candida glabrata*. As FAE e FB exibiram atividade antibacteriana, com CIM entre 25 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *Streptococcus sanguinis* e *Fusobacterium nucleatum*. A FAE demonstrou elevada atividade antioxidante nos métodos do sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH), do poder antioxidante redutor férrico (FRAP) e da capacidade de absorção do radical de oxigênio (ORAC), com 94,85% de inibição e IC_{50} de 1,74 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no método DPPH; 654,01 $\mu\text{mol E}_{\text{trolox}}/\text{g}_{\text{amostra}}$ no método FRAP e 3.698,88 $\mu\text{mol E}_{\text{trolox}}/\text{g}_{\text{amostra}}$ no método ORAC. Em relação aos ensaios antidiabéticos, o EE obteve o melhor resultado na inibição da enzima α -amilase com 91,22% de inibição e IC_{50} de 8,42 $\mu\text{g L}^{-1}$. Na análise de glicoxidação, a FAE mostrou a melhor inibição (86,66%) no método albumina sérica bovina (BSA)-frutose. No entanto, nenhum extrato apresentou resultados significativos para a inibição de α -glicosidase. No estudo da composição química por CLAE(-)-IES-EM/EM, foram anotados metabólitos das classes dos flavonoides, taninos hidrolisáveis, triterpenoides e ácidos fenólicos no EE e nas frações, sugerindo que o potencial antimicrobiano observado na *M. ibaguensis* deve estar associado a esses compostos. Este estudo enriquece nossa compreensão da biodiversidade presente no Cerrado e da quimiosistemática do gênero *Miconia*, assim como o potencial farmacológico da *M. ibaguensis*.

PALAVRAS-CHAVE: Melastomataceae. Cerrado. Antifúngico. Antibacteriano. Inibição de AGEs. Diabetes. Compostos fenólicos. Triterpenoides.

ABSTRACT

Miconia ibaguensis, a member of the Melastomataceae family, is found in the Cerrado biome. Species of the genus *Miconia* are recognized for their medicinal properties, which motivated the unpublished chemical and biological study of the species *M. ibaguensis*. Thus, this work aims to explore the chemical composition and potential medicinal properties of *M. ibaguensis*. The hexane (EH) and ethanolic (EE) extracts were obtained by maceration, and dichloromethane (FD), ethyl acetate (EAE), n-butanol (FB), and aqueous (AF) fractions were obtained by liquid-liquid extraction from EE. Antimicrobial activities revealed that FAE presented relevant antifungal activity against *Candida* spp., with minimum inhibitory concentration (MIC) between 1.95 and 3.90 $\mu\text{g mL}^{-1}$, standing out against *Candida glabrata*. FAE and FB exhibited antibacterial activity, with MIC between 25 and 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for *Streptococcus sanguinis* and *Fusobacterium nucleatum*. FAE demonstrated high antioxidant activity in the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging (DPPH), ferric reducing antioxidant power (FRAP) and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) methods, with 94.85% inhibition and IC_{50} of 1.74 $\mu\text{g mL}^{-1}$, in the DPPH method; 654.01 $\mu\text{mol E}_{\text{trolox}}/\text{g}_{\text{sample}}$ in the FRAP method and 3,698.88 $\mu\text{mol E}_{\text{trolox}}/\text{g}_{\text{sample}}$ in the ORAC method. Regarding the antidiabetic assays, EE obtained the best result in inhibiting the α -amylase enzyme with 91.22% inhibition and IC_{50} of 8.42 $\mu\text{g L}^{-1}$. In the glycoxidation analysis, FAE showed the best inhibition (86.66%) in the bovine serum albumin (BSA)-fructose method. However, no extract showed significant results for the inhibition of α -glucosidase. In the study of the chemical composition by HPLC-(–)-IES-MS/MS, metabolites of the classes of flavonoids, hydrolyzable tannins, triterpenoids, and phenolic acids were noted in EE and the fractions, suggesting that the antimicrobial potential observed in *M. ibaguensis* must be associated with these compounds. This study enriches our understanding of the biodiversity present in the Cerrado, the chemosystematics of the genus *Miconia*, and the pharmacological potential of *M. ibaguensis*.

KEYWORDS: Melastomataceae. Cerrado. Antifungal. Antibacterial. Inhibition of AGEs. Diabetes. Phenolic compounds. Triterpenoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas de fármacos obtidos a partir de produtos naturais	16
Figura 2 - Classificação dos fármacos aprovados pela FDA entre 01/1981 a 09/2019..	17
Figura 3 - <i>Miconia ibaguensis</i> (Bonpl.) Triana	19
Figura 4 - Estruturas dos intermediários na formação dos metabólitos especializados .	20
Figura 5 - Esquema de relações biossintéticas para produção de metabólitos especializados	21
Figura 6 - Unidade estrutural do terpeno	25
Figura 7 - Exemplos de medicamentos antifúngicos das classes polienos e azóis.....	28
Figura 8 - Fármacos para tratamento de diabetes como inibidores de enzimas digestivas	31
Figura 9 - Estrutura dos compostos isolados de espécies de <i>Miconia</i>	41
Figura 10 - Processo de maceração para obtenção de EH e EE	47
Figura 11 - Reação de redução da resazurina	62
Figura 12 - Flavona isolada do extrato de acetato de etila da <i>M. ioneura</i>	63
Figura 13 - Estruturas químicas dos ácidos triterpênicos e derivados semissintéticos avaliadas quanto à atividade antibacteriana.....	65
Figura 14 - Estruturas de compostos fenólicos e valores de CIM.....	66
Figura 15 - Reação do substrato Gal-G2- α -CNP catalisada pela enzima α -amilase	67
Figura 16 - Reação entre a enzima α -glicosidase e o substrato p-NPG.....	68
Figura 17 - Critérios estruturais que potencializam a inibição da α -amilase por compostos fenólicos	70
Figura 18 - Estrutura dos biomarcadores formados através da glicoxidação de proteínas	71
Figura 19 - Reação do DPPH ao composto antioxidante	75
Figura 20 - Reação de redução do Fe ³⁺ a Fe ²⁺ por composto antioxidante	75
Figura 21 - Reação do método ORAC.....	76
Figura 22 - Cromatograma de íons totais em alta resolução no modo negativo do EE de <i>M. ibaguensis</i>	79
Figura 23 - Cromatograma de íons totais em alta resolução no modo negativo do FD de <i>M. ibaguensis</i>	79
Figura 24 - Cromatograma de íons totais em alta resolução no modo negativo do FAE de <i>M. ibaguensis</i>	80
Figura 25 - Cromatograma de íons totais em alta resolução no modo negativo do FB de <i>M. ibaguensis</i>	80
Figura 26 - Cromatograma de íons totais em alta resolução no modo negativo do FA de <i>M. ibaguensis</i>	80
Figura 27 - Anotação dos metabólitos especializados presentes nas amostras de <i>Miconia ibaguensis</i>	83
Figura 28 - Proposta de fragmentação do composto (1).....	84
Figura 29 - Proposta de fragmentação para os compostos (2), (7) e (11).....	85
Figura 30 - Proposta de fragmentação do composto (17).....	86
Figura 31 - Proposta de fragmentação do composto (3).....	88
Figura 32 - Proposta de fragmentação do composto (9).....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aplicações terapêuticas de alcaloides	22
Tabela 2 - Aplicações terapêuticas de compostos fenólicos.....	24
Tabela 3 - Aplicação comercial de terpenos.....	26
Tabela 4 - Uso pela medicina popular de espécies de <i>Miconia</i>	35
Tabela 5 - Atividades biológicas observadas no gênero <i>Miconia</i>	36
Tabela 6 - Compostos isolados de espécies de <i>Miconia</i>	38
Tabela 7 - Rendimento dos extratos das folhas da <i>Miconia ibaguensis</i>	59
Tabela 8 - Porcentagem de extração das frações obtidas por extração líquido-líquido .	60
Tabela 9 - Prospecção fitoquímica dos extratos e frações de <i>Miconia ibaguensis</i>	61
Tabela 10 - Valores de CIM dos extratos e frações de <i>M. ibaguensis</i> para <i>Candida spp</i>	62
Tabela 11 - Valores de CIM dos extratos e frações de <i>M. ibaguensis</i> para bactérias	64
Tabela 12 - Inibição da enzima α -amilase das amostras de <i>M. ibaguensis</i>	68
Tabela 13 - Percentual de inibição da glicoxidação BSA-frutose das amostras de <i>M. ibaguensis</i>	72
Tabela 14 - Atividade antioxidante das amostras de <i>M. ibaguensis</i>	77
Tabela 15 - Anotação dos metabólitos especializados das amostras de <i>Miconia ibaguensis</i>	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAPH	2,2'-azobis-(2-amidinopropano) di-hidrocloro
AGEs	Produtos de glicação avançada
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
BSA	Albumina sérica bovina
CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CIM	Concentração inibitória mínima
CG	Cromatografia gasosa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLAE/EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas
CLAE-IES-EM/EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial com fonte de ionização por electrospray
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
COP15	Conferência de Diversidade Biológica das Nações Unidas
DPPH	Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazina
DPPH-H	2,2-difenil-1-picril-hidrazina
EE	Extrato etanólico
EH	Extrato hexânico
EM	Espectrometria de massas
EM/EM	Espectrometria de massas sequencial
F–Ag	Fração da enzima α -glicosidase
F–As	Fração de saliva enriquecida da enzima α -amilase
FDA	Food and Drug Administration
FE	Fase estacionária
FA	Fração aquosa
FAE	Fração acetato de etila
FB	Fração n-butanol
FD	Fração diclorometano

FRAP	Capacidade de redução do ferro
Gal-G2- α -CNP	α -(2-cloro-4-nitrofenil)- β -1,4-galactopiranosilmaltosídeo
IC ₅₀	Concentração de amostra necessária para inibir 50%
ME	Metabólitos especializados
MES	ácido 2-(N-morfolino)-etanossulfônico
MMA	Ministério do Meio Ambiente
NH-G	Aminoguanidina
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
P-NPG	4-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo
PNs	Produtos naturais
RDA	Retro-Diels-Alder
RAM	Resistência antimicrobiana
RMN	Ressonância magnética nuclear
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
Rf	Fator de retenção
Sp.	Espécie não identificada
Spp.	Várias espécies
SUS	Sistema Único de Saúde
TPTZ	2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina
T _R	Tempo de retenção
Trolox	ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico
UFC	Unidades formadoras de colônia
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
2.1. Metabolismo especializado.....	20
2.1.1. <i>Alcaloides</i>	22
2.1.2. <i>Compostos fenólicos</i>	23
2.1.3. <i>Terpenos</i>	25
2.2. Atividades biológicas	27
2.2.1. <i>Atividade antifúngica</i>	27
2.2.2. <i>Atividade antibacteriana</i>	28
2.2.3. <i>Resistência antimicrobiana</i>	29
2.2.4. <i>Diabetes</i>	30
2.2.5. <i>Estresse oxidativo e a atividade antioxidante</i>	33
2.3. Família Melastomastaceae	34
2.3.1. <i>Aspectos químicos e biológicos do gênero Miconia</i>	35
3. OBJETIVOS.....	44
3.1. Objetivos gerais.....	44
3.2. Objetivos específicos	44
4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	45
4.1. Instrumentos e reagentes.....	45
4.1.1. <i>Instrumentos</i>	45
4.1.2. <i>Reagentes</i>	45
4.2. Coleta e preparo do material vegetal	46
4.3. Prospecção fitoquímica.....	47
4.3.1. <i>Reveladores para flavonoides</i>	47
4.3.2. <i>Reveladores para alcaloides</i>	48
4.3.3. <i>Reveladores para antraquinonas, antronas e cumarinas</i>	48
4.3.4. <i>Reveladores universais (Terpenos, esteroides, saponinas, açúcares, fenóis, taninos, flavonoides)</i>	48
4.4. Avaliação da atividade antifúngica	49
4.4.1. <i>Microrganismos avaliados</i>	49
4.4.2. <i>Preparo das amostras, do inóculo e dos controles</i>	49
4.4.3. <i>Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)</i>	50
4.5. Determinação da atividade antibacteriana.....	50
4.5.1. <i>Microrganismos avaliados</i>	50

4.5.2.	<i>Preparo das amostras, do inóculo e dos controles</i>	51
4.5.3.	<i>Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)</i>	51
4.6.	Atividade antidiabética	52
4.6.1.	<i>Inibição da enzima α-amilase</i>	52
4.6.2.	<i>Inibição da enzima α-glicosidase</i>	53
4.6.3.	<i>Inibição dos produtos de glicação avançada</i>	54
4.7.	Determinação da atividade antioxidante	55
4.7.1.	<i>Método do sequestro do DPPH</i>	56
4.7.2.	<i>Método da capacidade de redução do ferro FRAP</i>	56
4.7.3.	<i>Método do sequestro do radical de oxigênio ORAC</i>	57
4.8.	Análise estatística	58
4.9.	Análise por Espectrometria de Massas	58
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	59
5.1.	Obtenção dos extratos e frações por extração líquido-líquido	59
5.2.	Prospecção fitoquímica	60
5.3.	Atividade antifúngica	62
5.4.	Atividade antibacteriana	64
5.5.	Atividade antidiabética	67
5.5.1.	<i>Inibição da enzima α-amilase e α-glicosidase</i>	67
5.5.2.	<i>Inibição dos produtos de glicação avançada</i>	70
5.6.	Determinação da atividade antioxidante	74
5.7.	Anotação dos metabólitos especializados de <i>M. ibaguensis</i>	78
6.	CONCLUSÕES	89
	REFERÊNCIAS	92

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O desenvolvimento sustentável de um país depende da adoção de políticas pautadas em educação, ciência, tecnologia e inovação, com base na preservação da natureza e da biodiversidade, bem como na exploração racional de fontes naturais utilizadas tanto para alimentação quanto para o avanço social e econômico do país. Isso assegura a manutenção da saúde e a cura de doenças (Braz Filho, 2010). Para que esse desenvolvimento seja atingido, a Organização das Nações Unidas estabeleceu os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), sendo um apelo global à ação para acabar com a pobreza, proteger o meio ambiente e o clima e garantir que as pessoas, em todos os lugares, possam desfrutar de paz e de prosperidade. Tais objetivos estão contribuindo a fim de que se possa atingir a Agenda 2030 no Brasil (N. U. Brasil, 2023).

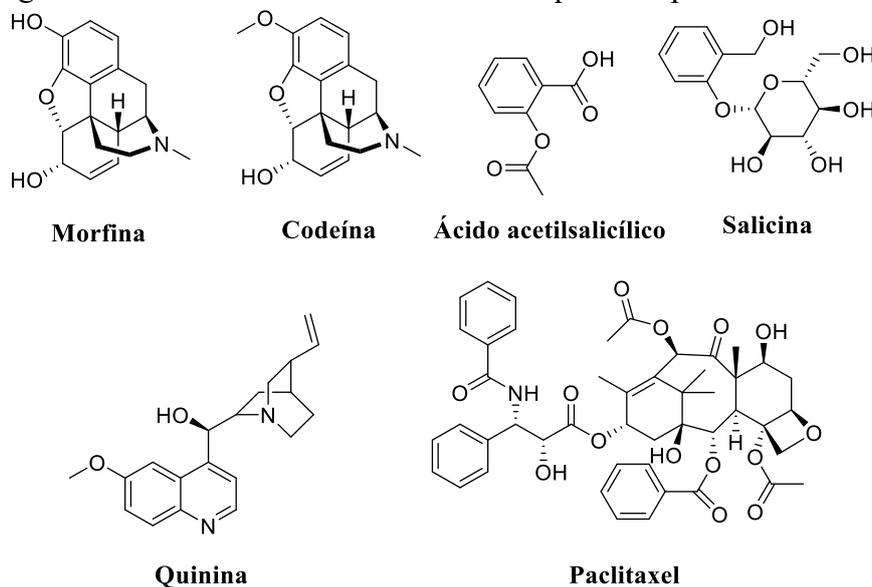
Com o intuito de obter novas soluções, estudos vêm sendo conduzidos na área de química de produtos naturais, dedicando-se principalmente à caracterização estrutural, avaliação de propriedades biológicas de compostos produzidos pelo metabolismo especializado de organismos vivos. A evolução destes estudos tem contribuído significativamente para o alcance do desenvolvimento sustentável, uma vez que, por meio da investigação da flora e sua composição química, adquire-se novos conhecimentos que possibilitam a adoção de novas formas de tratamentos de doenças já conhecidas (Torssel, 1997; Yunes e Filho, 2001; Valli, Russo, Bolzani, 2018; Rodrigues, 2018).

O uso dos produtos naturais (PN) não é algo recente, essa prática vem sendo executada pela civilização desde a antiguidade, escritos antigos descreveram usos medicinais das plantas há 3000 anos a.C. Culturas indígenas africanas e americanas usavam e ainda utilizam ervas em rituais de cura, beneficiando-se do conhecimento das plantas medicinais. Alguns sistemas de medicina alternativa, como o Ayurveda, fazem uso das plantas medicinais e desempenham um papel importante na saúde de muitas pessoas (Ahmad Khan; Ahmad, 2019). A Organização Mundial da Saúde (OMS) define a medicina tradicional como o somatório de conhecimentos, habilidades, práticas baseadas em teorias, crenças e experiências indígenas de diferentes culturas que são utilizadas na manutenção da saúde, bem como na prevenção, melhora ou tratamento de doenças físicas e mentais (OMS, 2000).

Na área farmacêutica, as plantas e os seus extratos assumem suma importância, uma vez que o princípio ativo encontrado nestes servem como inspiração para o desenvolvimento de novos fármacos. Entre os exemplos de fármacos obtidos a partir de PNs estão a morfina e a codeína isoladas do ópio de *Papaver somniferum*. A morfina foi

o primeiro fármaco utilizado no mundo e continua sendo o mais usado como analgésico para tratar dores intensas. A codeína é um analgésico menos potente e atua como supressor da tosse (Brook; Bennett; Desai, 2017; Chopra; Dhingra, 2021). O ácido acetilsalicílico (Aspirina®), é o fármaco mais utilizado no mundo e foi sintetizado inspirado na estrutura da salicina, um produto natural isolado das cascas da árvore *Salix alba* conhecida como salgueiro. Outros exemplos incluem o antimalárico quinina, isolada das cascas de *Cinchona* spp. e fármacos anticâncer como o paclitaxel (Taxol®), isolado de *Taxus brevifolia* (Gallego-Jara *et al.*, 2020). A Figura 1 apresenta as estruturas dos fármacos obtidos a partir de PN.

Figura 1 - Estruturas de fármacos obtidos a partir de produtos naturais



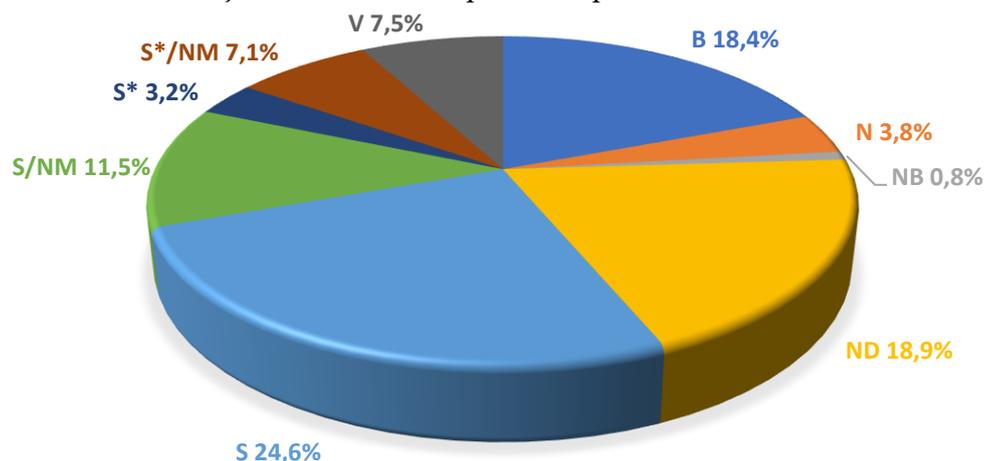
Fonte: a autora.

As plantas e os seus extratos podem ainda ser utilizados para elaboração de medicamentos à base de extratos vegetais, conhecidos como medicamentos fitoterápicos (Schenkel; Gosmann; Petrovick, 2001). Essa categoria de medicamentos passa por testes de validação, efeitos farmacológicos e análises toxicológicas, além de serem registrados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), garantindo assim maior segurança para aqueles que optam pelo seu uso. Os medicamentos fitoterápicos foram adotados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) como opção de tratamento aprovada pelo Ministério da Saúde do Brasil em 2006 (Ferreira *et al.*, 2014).

O avanço nas pesquisas em PNs é de grande relevância para o desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que eles foram as bases para a obtenção da maioria dos primeiros medicamentos e continuam desempenhando um papel importante. Nesse contexto, a revisão de Newman e Cragg (2020), analisa a origem dos fármacos aprovados

pela Food and Drug Administration (FDA) no período de 01/1981 a 09/2019. Ao considerar somente moléculas pequenas, tirando assim as vacinas e macromoléculas biológicas, a porcentagem de puramente sintéticos é de 33,3% e a de fármacos com alguma ligação à química de produtos naturais representa os outros 66,7%, mostrando assim a importância da química de PNs (Figura 2).

Figura 2 - Classificação dos fármacos aprovados pela FDA entre 01/1981 a 09/2019



Nota: S: sintético, ND: derivado de produto natural (normalmente com modificação sintética), NB: produto natural botânico (mistura definida), N: produto natural inalterado, B: macromolécula biológica, V: vacina, S*/NM: feito por síntese total com grupo farmacofórico de produto natural (imitadores de produto natural), S*: feito por síntese total com o grupo farmacofórico de produto natural, S/NM: fármaco totalmente sintético (imitadores de produto natural). Fonte: adaptado de Newman e Cragg (2020).

Apesar do sucesso dessas moléculas, no final dos anos 80 e início da década de 1990, muitas empresas farmacêuticas diminuíram a triagem de PNs para descoberta de novos fármacos. Esse fato foi devido à concorrência entre as indústrias na descoberta de novas classes de fármacos, que passaram a priorizar ensaios rápidos e de alta produtividade. A triagem de PN foi descartada devido às dificuldades em trabalhar com esses produtos, como acesso, complexidade química e indisponibilidade de ferramentas analíticas nesse período (LAM, 2007, HARVEY, 2008, KHAN, 2018). Nesse período, a produção de semissintéticos e sintéticos foi considerada vantajosa sobre o isolamento de PNs, pois normalmente o isolamento conduz a rendimentos baixos, existem restrições geográficas das plantas e riscos de extinção (Süntar, 2019; Atanasov *et al.*, 2021). De fato, o isolamento e caracterização de compostos bioativos não são processos triviais, pois envolvem diversas etapas. Entre elas, a escolha da planta, a extração dos PNs com solventes de diferentes polaridades, o fracionamento dos extratos brutos, avaliação da atividade biológica, uso de técnicas robustas para purificação e caracterização dos compostos isolados (Süntar, 2019; Atanasov *et al.*, 2021).

Entretanto, houve um notável renascimento do interesse pelos PNs ao longo das últimas décadas, impulsionado pelo avanço das técnicas analíticas, estratégias tecnológicas de metabolômica e ensaios biológicos em larga escala, o que garante a identificação de um número cada vez maior de PNs (Chopra; Dhingra, 2021; Desmet; Morreel; Dauwe, 2021). Técnicas como espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), espectrometria de massas de alta resolução (EM) associadas a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia gasosa (CG), permitem o uso simultâneo e vantajoso das técnicas para determinação estrutural de PNs de interesse (Atanasov *et al.*, 2021; Najmi *et al.*, 2022).

A integração dessas tecnologias tem contribuído para o desenvolvimento da pesquisa em PNs, possibilitando a compreensão da complexidade desses compostos. Como resultado, observa-se uma aceleração na descoberta de novos compostos, oferecendo perspectivas promissoras para o avanço na produção de novos medicamentos (Silva, 2023).

De acordo com o panorama apresentado, o Brasil se destaca como um vasto campo de estudo para a pesquisa em compostos bioativos, devido a sua rica diversidade de espécies vegetais, oferecendo uma ampla quantidade de plantas a serem investigadas. O país detém a maior biodiversidade do mundo, abrigando 20% do total de espécies. Com vasto território, cerca de 8,5 milhões km², apresenta diversas zonas climáticas, originando grande variabilidade ecológica e genética, com diferentes biomas continentais: Amazônia, Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Pantanal, Pampa e Bioma Marinho (Ministério do Meio Ambiente - MMA, 2023).

Dentre os biomas apresentados, podemos ressaltar o Cerrado, considerado uma das regiões de maior biodiversidade do mundo (MMA, 2023). É a segunda maior formação vegetal do país ocupando 23,3% do território nacional, ficando atrás apenas da Floresta Amazônica, concentrando-se principalmente no Planalto Central Brasileiro (Cerrado, 2022, Ribeiro & Walter, 1998). Ao lado da Mata Atlântica, é considerado um dos “hotspots” mundiais, ou seja, um dos biomas mais ricos e ameaçados do mundo (MMA, 2023). Até 2010, devido à expansão de atividades agropecuárias na região, aliada à exploração predatória de seu material lenhoso, cerca de 50% de sua área original de aproximadamente 203 milhões de hectares foi desmatada (Garcez *et al.*, 2016). Reforçando a preocupação com a preservação ambiental e a importância dos estudos das mais diversas espécies.

Dessa maneira, devemos ficar atentos aos impactos causados pela sociedade à natureza, sendo este o assunto da 15ª Conferência de Diversidade Biológica das Nações Unidas, também conhecida como COP15, ocorrida em dezembro de 2022 no Canadá. Neste evento, um acordo para proteger a biodiversidade foi anunciado. Os países participantes do encontro concordaram em preservar um terço da natureza do planeta até 2030 e estabeleceram metas para a proteção de ecossistemas vitais, como florestas tropicais e pântanos, além dos direitos dos povos indígenas (Nações Unidas Brasil, 2023; The Nature Conservancy, 2023; Global Biodiversity Outlook 5, 2020).

De acordo com o exposto, este trabalho foi conduzido com o intuito de contribuir com os estudos na área de química de produtos naturais, tendo como objetivo investigar, pela primeira vez, a composição química das folhas da espécie *Miconia ibaguensis* (Bonpl.) Triana (Figura 3), bem como avaliar seu potencial biológico nas ações antifúngica, antibacteriana, antidiabética e antioxidante.

Figura 3 - *Miconia ibaguensis* (Bonpl.) Triana



Fonte: a autora

Essa espécie está inserida no bioma Cerrado e pertence ao gênero *Miconia*, cujas pesquisas têm apontado o potencial biológico do gênero, incluindo atividades como antimicrobiana, anti-inflamatória, antitumoral, antiparasitária, entre outras. Em relação aos estudos químicos do gênero *Miconia*, já foram relatados o isolamento de diversas classes de compostos bioativos, como ácidos fenólicos, flavonoides, terpenoides e taninos elágicos (Cunha; Cruz; Menezes, 2019; Silva *et al.*, 2022; Gandhi *et al.*, 2023). Esse trabalho contribui para o conhecimento do potencial farmacológico do gênero *Miconia*, além de promover a valorização e o conhecimento da biodiversidade no bioma Cerrado.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Metabolismo especializado

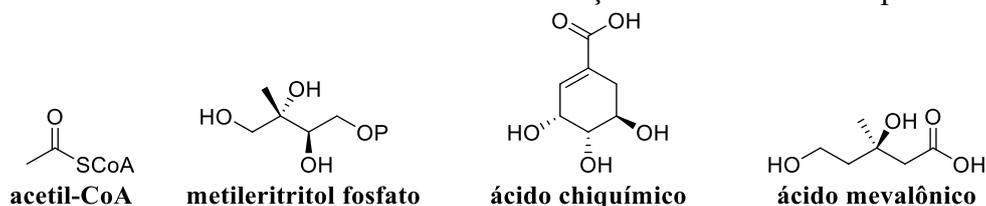
Metabolismo é definido como o conjunto de reações químicas que ocorrem em um organismo, visando suprir as necessidades energéticas e estruturais do ser vivo. No caso das plantas, grande parte do carbono, nitrogênio e energia assimilados é utilizada para a produção de moléculas, tais como aminoácidos, nucleotídeos, açúcares e lipídios, conhecidos como metabólitos primários. Estes metabólitos desempenham uma função essencial para o crescimento e a vida da planta, sendo este conjunto de processos denominado metabolismo primário (Garcia; Carril, 2009; Simões *et al.*, 2017).

Outro metabolismo que ocorre nas plantas é o denominado metabolismo especializado, que, ao contrário do metabolismo primário, tem como função a produção de compostos com funções ecológicas específicas, auxiliando na proteção das plantas contra agentes externos. Estes compostos atuam como defesa contra estresses abióticos e na interação da planta com outros organismos. Muitos desses metabólitos garantem pigmentação às flores, desempenhando papel essencial na reprodução ao atrair insetos polinizadores. Além disso, outros compostos têm função de proteção contra predadores, atuando como repelentes, pois possuem a capacidade de conferir à planta sabores amargos, tornando-os indigestos ou venenosos. (Garcia; Carril, 2009).

Ao contrário dos metabólitos primários, os especializados são específicos de determinada espécie ou grupo e são resultado de anos da evolução das plantas, expressando sua individualidade, podendo ser fonte de estudos taxonômicos (Dewick, 2009; Kabera *et al.*, 2014; Pott, Osorio, Vallarino, 2019).

Apesar da imensa diversidade química, os produtos naturais vegetais são formados a partir de apenas alguns blocos de construção biossintéticos chamados intermediários, que são: a acetil coenzima A (acetil-CoA), o ácido chiquímico, o ácido mevalônico e o metileritritol fosfato (Figura 4). Estes intermediários formam, respectivamente, as quatro principais vias metabólicas: a via do acetato, do chiquimato, do mevalonato e do metileritritol fosfato (Garcia; Carril, 2009; Simões *et al.*, 2017).

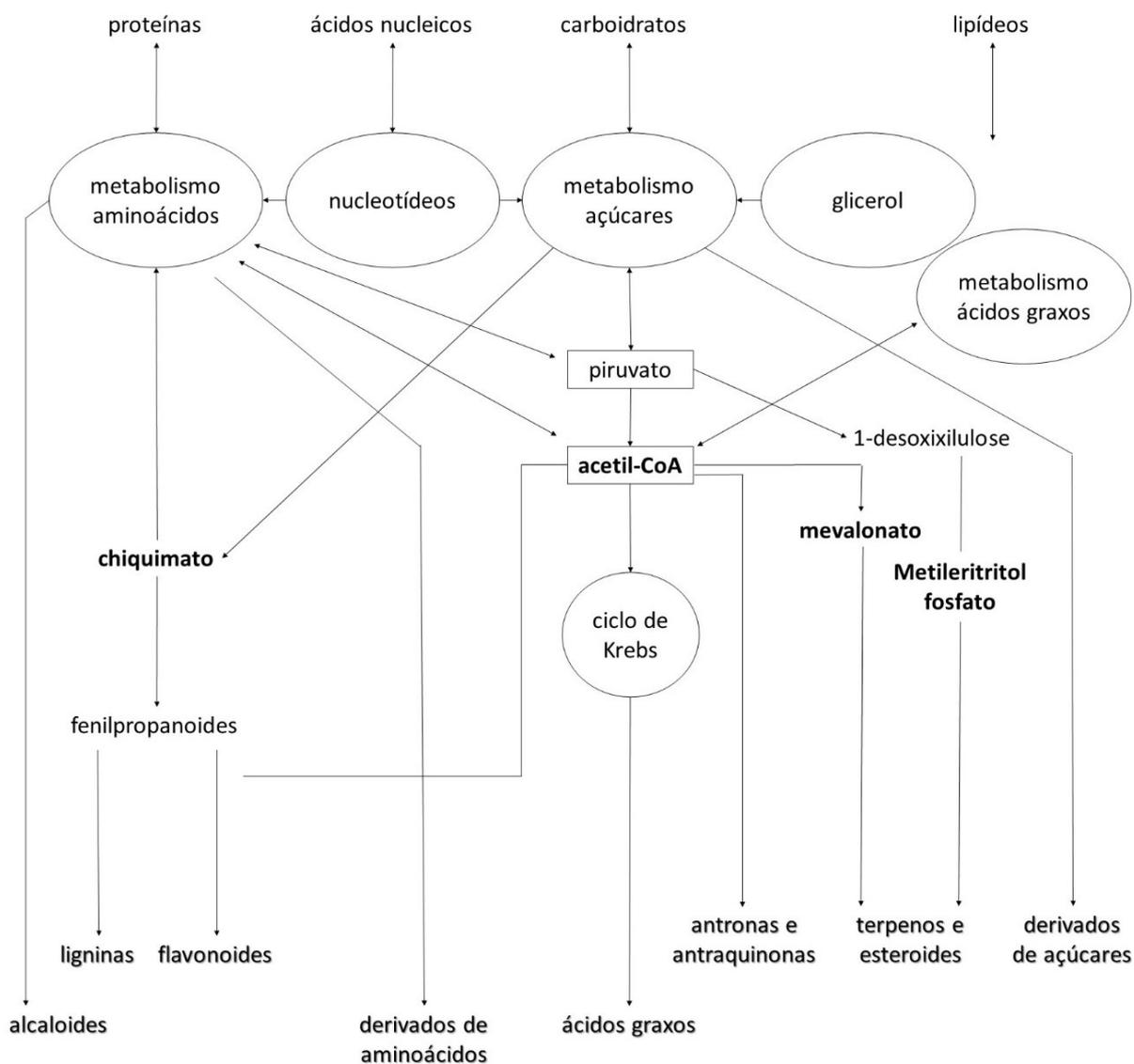
Figura 4 - Estruturas dos intermediários na formação dos metabólitos especializados



Fonte: a autora.

Conforme o esquema apresentado na Figura 5, é possível observar que os metabólitos primários, como proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos e lipídeos, passam por uma variedade de transformações e combinações biossintéticas, resultando na produção de intermediários. Estes, por sua vez, dão origem a inúmeras classes de produtos naturais vegetais, abrangendo policetídeos aromáticos, como fenóis e quinonas; terpenos e esteroides; fenilpropanoides, como ligninas e compostos fenólicos; além de alcaloides (Simões *et al.*, 2017). A seguir, será detalhada cada uma dessas classes de produtos naturais, explorando os alcaloides, compostos fenólicos e terpenos.

Figura 5 - Esquema de relações biossintéticas para produção de metabólitos especializados



Fonte: adaptado de Simões *et al.* (2017).

2.1.1. Alcaloides

Os alcaloides são bases orgânicas nitrogenadas encontradas principalmente nas plantas, e em menor grau, em microrganismos marinhos, fungos e animais. Esses compostos são classificados de acordo com o aminoácido que fornece o átomo de nitrogênio e a porção fundamental do esqueleto do alcaloide. Por isso, em suas estruturas, estão presentes um ou mais átomos de nitrogênio, geralmente como aminas primárias, secundárias ou terciárias, conferindo basicidade à molécula. Essa característica facilita o isolamento e purificação, uma vez que sais solúveis em água podem ser formados na presença de ácidos minerais (Dewick, 2009; Garcia; Carril, 2009)

A produção de alcaloides por uma planta demanda um alto custo energético, conferindo a essa produção um papel fisiológico de grande relevância. Uma das principais funções dos alcaloides é a defesa química das plantas contra os predadores. Eles interagem com diferentes alvos moleculares, comprometendo o metabolismo e a função celular dos predadores, podendo levar ao efeito tóxico desejado. Alguns desses alvos incluem receptores de dopamina e receptores adrenérgicos, que também representam um potencial terapêutico dos alcaloides (Simões *et al.*, 2017).

Quando utilizada pelos seres humanos, os alcaloides geram respostas fisiológicas devido a sua interação com diversos tipos de neurotransmissores. Em doses elevadas, podem apresentar alta toxicidade, porém, em doses baixas possuem considerável valor terapêutico, atuando como relaxantes musculares, tranquilizantes ou analgésicos (Simões *et al.*, 2017; Garcia; Carril, 2009). Na Tabela 1 são apresentadas algumas aplicações de alcaloides.

Tabela 1 - Aplicações terapêuticas de alcaloides (continua)

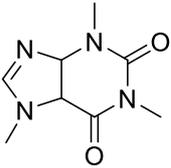
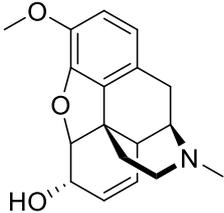
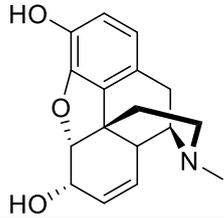
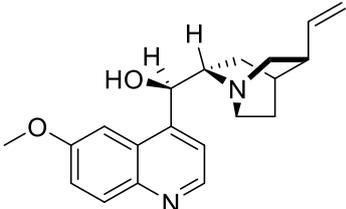
Molécula	Estrutura	Planta	Aplicação medicinal	Referência
Cafeína		<i>Coffea arabica</i>	Estimulante do sistema nervoso central	Garcia; Carril, 2009
Codeína		<i>Papaver somniferum</i>	Analgésico e antitussígeno	Buchanan, Gruissem, Jones, 2015

Tabela 1 – Aplicações terapêuticas de alcaloides

Molécula	Estrutura	Planta	Aplicação medicinal	Referência
Morfina	 The chemical structure of morphine is shown, featuring a complex pentacyclic ring system with two hydroxyl groups (HO) and a nitrogen atom.	<i>Papaver somniferum</i>	Analgésico	Dias, Urban, Roessner, 2012
Quinina	 The chemical structure of quinine is shown, consisting of a quinoline ring system with a methoxy group (O) and a quinuclidine ring system.	<i>Cinchona officinalis</i>	Tratamento da malária	Dias, Urban, Roessner, 2012

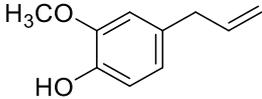
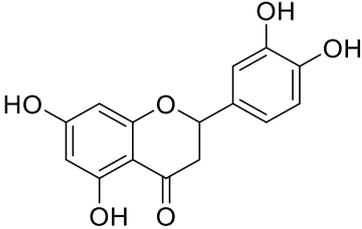
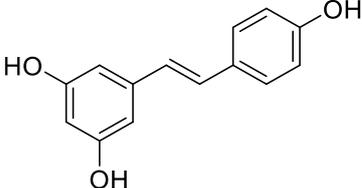
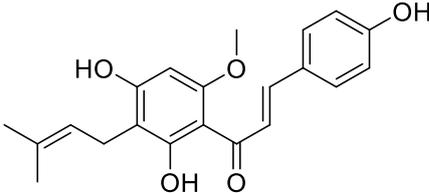
Fonte: a autora.

2.1.2. Compostos fenólicos

Compostos fenólicos são uma classe de compostos que possuem em comum a presença do grupo fenol, caracterizado por um grupo hidroxila ligada a um anel benzênico em sua estrutura (Garcia; Carril, 2009). Essa classe é quimicamente heterogênea, sendo alguns desses compostos solúveis apenas em solventes orgânicos, enquanto outros, cuja estrutura apresenta ácidos carboxílicos e glicosídeos, são solúveis em água. Existem ainda compostos fenólicos que se apresentam como grandes polímeros insolúveis (De La Rosa *et al.*, 2019; Rispaill *et al.*, 2005).

A diversidade química dos compostos fenólicos confere a eles uma variedade de funções nos vegetais. Exemplos incluem taninos, ligninas, flavonoides e alguns compostos fenólicos simples, que desempenham papéis defensivos contra herbívoros e patógenos. Além disso, a lignina fortalece mecanicamente as paredes celulares e muitos pigmentos compostos de flavonoides são atrativos importantes para polinizadores e dispersores de sementes. Outros compostos fenólicos simples afetam o crescimento de plantas vizinhas e, portanto, têm atividade alelopática (Borges, Amorim, 2020; Özeker, 1999). Os taninos, em particular, são reconhecidos pela função de inibir o ataque de herbívoros, tornando frutos, folhas, sementes e outras partes das plantas impalatáveis a uma variedade de animais em altas concentrações (Monteiro *et al.*, 2005). A Tabela 2 apresenta alguns exemplos de compostos fenólicos e suas aplicações terapêuticas.

Tabela 2 - Aplicações terapêuticas de compostos fenólicos

Molécula	Estrutura	Planta	Aplicação medicinal	Referência
Eugenol		Óleos essenciais de cravo	Aromatizante e bactericida	Buchanan, Gruissem, Jones, 2015
Luteolina		<i>Mentha crispata</i>	Antioxidante	Buchanan, Gruissem, Jones, 2015
Resveratrol		Cascas de uvas	Melhora a condição cardíaca	Buchanan, Gruissem, Jones, 2015
Xanthohumol		<i>Humulus lupulus</i>	Anticâncer	Buchanan, Gruissem, Jones, 2015

Fonte: a autora.

Os flavonoides, uma classe de compostos fenólicos, possuem ampla aplicação na medicina, especialmente como fármacos, estando associados a atividades biológicas antivirais, antimicrobianas e anticancerígenas (Dewick, 2009; Kabera *et al.*, 2014; Buchanan, Gruissem, Jones, 2015). No contexto da atividade antifúngica, os compostos fenólicos e flavonoides atuam sobre a célula fúngica através dos mecanismos de rompimento da membrana celular, ação sobre enzimas hidrolíticas e disfunção das mitocôndrias fúngicas, levando a desestabilização e subsequente destruição celular (Razzaghiabaneh; Rai, 2013). Estudos realizados com os compostos fenólicos eugenol e carvacrol mostraram atividade antifúngica contra fungo *Candida albicans* (Chami *et al.*, 2005).

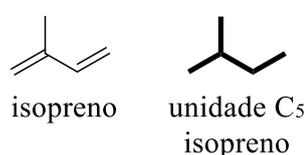
Além disso, quando os flavonoides são utilizados em combinação com antibióticos, observa-se um aumento da atividade do fármaco contra bactérias. Em um estudo realizado com objetivo de mensurar o efeito da combinação flavonoide-fármaco, foi percebida uma redução da concentração inibitória mínima (CIM) para ação do antibiótico, sendo a quercetina considerada mais eficaz dentre os flavonoides testados

(Amin *et al.*, 2015). Isso se deve à capacidade dos compostos fenólicos de desestruturar a membrana citoplasmática, resultando em perda de sua integridade e posterior morte celular. Portanto, os compostos fenólicos, incluindo os flavonoides, podem ser considerados como facilitadores da entrada do antibiótico no citoplasma da célula, requerendo menores doses de antibiótico para ação contra a bactéria (Cowan, 1999).

2.1.3. Terpenos

Os terpenos constituem uma classe ampla e estruturalmente diversa de produtos naturais, tendo em comum entre eles uma unidade C₅ de isopreno (Figura 6) (Dewick, 2009).

Figura 6 - Unidade estrutural do terpeno



Fonte: a autora.

Os terpenos são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno que os compõe: hemiterpenos (C₅), monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀), triterpenos e esteroides (C₃₀) e tetraterpenos ou caratenoides (C₄₀) (Verpoorte *et al.*, 2000; Dewick, 2009).

Quando os terpenos passam por reações de oxigenação, hidrogenação ou desidrogenação, formam os terpenóides. Estes se diferenciam em sua estrutura pela presença de grupos funcionais oxigenados (Ninkuu *et al.*, 2021).

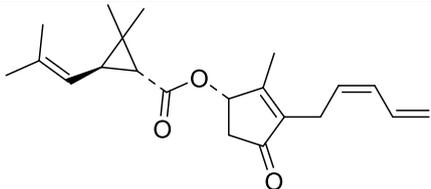
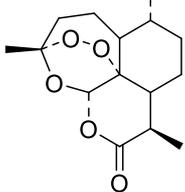
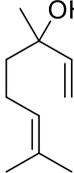
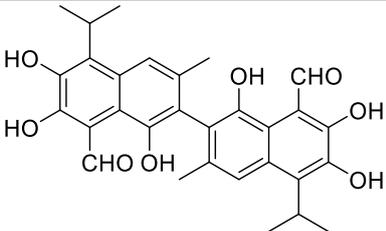
Nas plantas, esses compostos desempenham diversas funções, por exemplo os terpenos menores e voláteis, como monoterpenos e sesquiterpenos, que estão associados a interações com o ambiente em que a planta se encontra. Além disso, eles atuam na regulação de possíveis estresses abióticos e na proteção contra microrganismos ou herbívoros, além de participarem de interações de mutualismo, como atrair polinizadores (Buchanan, Gruissem, Jones, 2015; Dewick, 2009; Kabera *et al.*, 2014).

Os carotenoides, por sua vez, desempenham um papel crucial junto com as clorofilas na fotossíntese, atuando como pigmentos acessórios coletores de luz. Servindo também como protetores importantes para plantas e algas contra danos foto-oxidativos. Certos herbicidas, denominados herbicidas branqueadores, agem inibindo a biossíntese

de carotenoides, resultando na foto-oxidação e subsequente morte da planta desprotegida (Buchanan, Gruissem, Jones, 2015; Dewick, 2009).

Tendo em vista esta variedade de compostos, é evidente que muitos terpenos possuem importante valor fisiológico e comercial significativo. Muitos deles são utilizados como fragrâncias, pigmentos, inseticidas, entre outros. Alguns terpenos possuem importância nutricional, como as vitaminas A, D, E e K, e outros encontram aplicações no âmbito farmacêutico (Buchanan, Gruissem, Jones, 2015). A Tabela 3 apresenta alguns exemplos de terpenos utilizados pela sociedade.

Tabela 3 - Aplicação comercial de terpenos

Molécula	Estrutura	Planta	Aplicação comercial	Referência
Piretrina		<i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i>	Inseticida	Dewick, 2009
Artemisinina		<i>Artemisia annua</i>	Antimalárico	Dewick, 2009
Linalol		Óleos essenciais de algumas espécies (<i>Lavandula angustifolia</i>)	Bactericida	Dewick, 2009
Gossypol		Sementes de algodão (<i>Gossypium spp.</i>)	Efeito contraceptivo	Dewick, 2009

Fonte: a autora.

A complexidade estrutural das classes de produtos naturais, como alcaloides, compostos fenólicos e terpenos, se manifesta em uma ampla variedade de atividades biológicas. Essas classes de produtos naturais não apenas desempenham um papel significativo na ecologia das plantas, mas também exercem impactos notáveis na saúde humana, estabelecendo conexões intrincadas entre sua estrutura química e suas diversas atividades biológicas.

2.2. Atividades biológicas

2.2.1. Atividade antifúngica

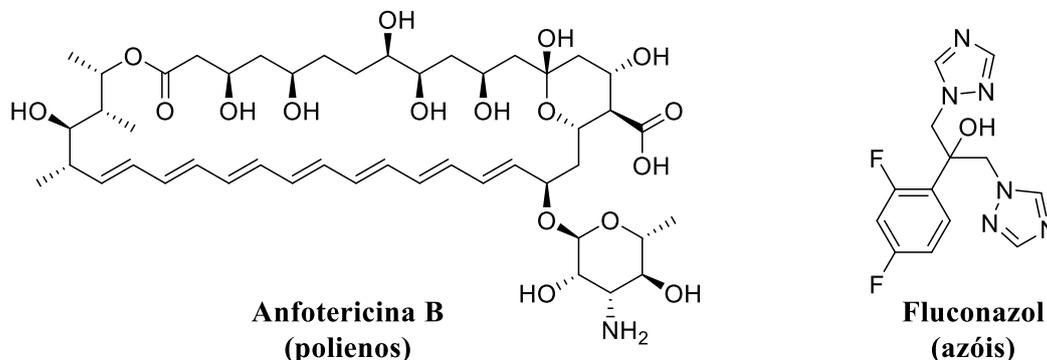
Fungos são patógenos responsáveis por infecções que resultam em doenças como pé de atleta, micose, candidíase oral e vaginal, classificadas como infecções superficiais. Além disso, esses microrganismos podem ocasionar infecções invasivas, apresentando maiores riscos para a saúde e uma elevada taxa de mortalidade, uma vez que desencadeiam condições como meningite e pneumonia. O gênero *Candida* ocupa a posição de segunda maior causa de infecções fúngicas globalmente, sendo a *C. albicans* considerada o patógeno mais prevalente. Esta espécie frequentemente coloniza regiões da pele, trato respiratório, trato gastrointestinal e aparelho geniturinário, emergindo como o agente predominante em casos de infecções fúngicas invasivas (Spampinato; Leonardi, 2013, Yapar, 2014, Brown *et al.*, 2012, White *et al.*, 2014).

Segundo a Gaffi (Fundação de Ação Global para Infecções Fúngicas), as infecções fúngicas cutâneas representam a doença mais comum na população, superando até mesmo a ocorrência de dores de cabeça e de dente. Anualmente, mais de 300 milhões de pessoas são afetadas por infecções fúngicas, com uma incidência mais elevada em pacientes imunocomprometidos, como aqueles diagnosticados com AIDS, em pacientes submetidos à quimioterapia ou transplantes de órgãos, podendo, ainda, ser observadas em indivíduos saudáveis (Pianalto; Alspaugh, 2016). Além disso, um relatório divulgado em 2021 destacou um aumento significativo no número de casos de infecções fúngicas, em paralelo aos casos de COVID-19, tanto na população em geral quanto entre os profissionais da saúde. (Gaffi, 2023).

Sendo assim, devido ao fato de infecções fúngicas serem consideradas um problema de saúde global, o tratamento destas infecções precisa ser potente e eficaz. Atualmente, os medicamentos antifúngicos disponíveis que demonstraram eficácia estão divididos em quatro classes, sendo elas: polienos: anfotericina B; azóis: fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol, isavuconazol; equinocandinas: caspofungina, micafungina, anidulafungina; antimetabólito: fluorocitosina. No entanto, estes medicamentos apresentam limitações e advertências, como a toxicidade associada à utilização de alguns agentes antifúngicos. Além disso, o número de alvos sobre os quais essas drogas atuam ainda é limitado. Por exemplo, das quatro classes de medicamentos antifúngicos aprovados para o tratamento de infecções fúngicas invasivas, duas delas, polienos e azóis (Figura 7), têm como alvo o mesmo componente da membrana celular

fúngica, aumentando significativamente a oportunidade para os fungos desenvolverem resistência a um ou mais dos antifúngicos disponíveis (Pianalto; Alspaugh, 2016).

Figura 7 - Exemplos de medicamentos antifúngicos das classes polienos e azóis



Fonte: a autora.

Diversas espécies do Cerrado foram avaliadas contra *Candida* spp. e apresentaram potencial antifúngico (Oliveira *et al.*, 2018, Cunha *et al.*, 2017). Compostos fenólicos, flavonoides, cumarinas, quinonas, saponinas, chantonas, alcaloides, polipeptídeos e terpenos isolados de plantas tem mostrado atividade antifúngica contra diferentes espécies de fungos (Arif *et al.*, 2009). Dentre as espécies avaliadas, estão espécies da família Melastomastacea (Celotto *et al.*, 2003, Li *et al.*, 2001, Rodrigues *et al.*, 2008, Cunha *et al.*, 2019).

Nesse contexto, este estudo buscou avaliar a atividade antifúngica em face de diferentes espécies, como *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*, visando contribuir para a compreensão e aprimoramento dos tratamentos antifúngicos existentes.

2.2.2. Atividade antibacteriana

De acordo com a OMS (Organização Mundial da Saúde), as infecções bacterianas apresentam grande incidência na população, sendo responsável por patologias na cavidade bucal, como cáries e abscessos dentais. Além disso, estão associadas ao surgimento de doenças sistêmicas, tais como diabetes, doenças cardiovasculares e no intestino, pneumonia, Alzheimer, artrite reumatoide e parto prematuro (Pizzo *et al.*, 2010; Hamza *et al.*, 2021; Peng *et al.*, 2022). Os microrganismos presentes na cavidade oral influenciam o desenvolvimento de doenças sistêmicas por meio da resposta inflamatória desencadeada pela infecção oral ou pela colonização bacteriana nos tecidos ou órgãos do corpo (Peng *et al.*, 2022).

Assim como as infecções fúngicas, as infecções bacterianas também se destacam como um desafio significativo para a saúde global, uma vez que algumas bactérias são naturalmente resistentes a determinados antibióticos, enquanto outras desenvolvem resistência devido à capacidade de adquirir genes de outras bactérias ou por mutações em seus próprios genes. Essa situação se agrava pois, quanto mais frequentemente são usados antibióticos, mais provável é o desenvolvimento de bactérias resistentes. Esse é o motivo pelo qual os especialistas recomendam que os médicos prescrevam antibióticos somente quando necessário e pelo menor tempo possível. Percebe-se, então, que o uso preventivo ou de longa duração são alguns fatores que levam o aumento da resistência microbiana aos fármacos, reduzindo as opções de tratamento (OMS, 2023, Manual MSD, 2023).

O presente estudo buscou avaliar a atividade antibacteriana frente a bactérias anaeróbias e aeróbias, incluindo *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces naeshlundii* como anaeróbicas, e *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus sanguinis* como aeróbias.

2.2.3. Resistência antimicrobiana

Segundo a OMS (Organização Mundial da Saúde), conforme dados de 2019, a resistência antimicrobiana (RAM) está entre as 10 principais ameaças globais à saúde. O levantamento revela que a resistência aos antibióticos esteve associada a quase 5 milhões de mortes, sendo diretamente responsável por cerca de 1,27 milhão de óbitos no ano mencionado (Murray *et al.*, 2019). Adicionalmente, o Banco Mundial estima que até 3,8% do produto interno bruto (PIB) mundial poderá ser afetado pela RAM até 2050. Fazendo com que a resistência dos microrganismos aos antibióticos seja uma questão urgente de saúde pública global e problema socioeconômico (OMS, 2024).

A RAM é um fenômeno natural que ocorre quando os microrganismos são expostos a medicamentos. Os mais suscetíveis são mortos ou inibidos, enquanto aqueles que são naturalmente resistentes ou que adquiriram essa resistência, têm mais chances de sobreviver e multiplicar. Entre os fatores causadores estão o uso inapropriado e excessivo de antimicrobianos, além do controle inadequado de infecções que podem promover a disseminação de microrganismos. A RAM, além de causar mortes, resulta em internações mais longas e no uso de medicamentos mais caros (Prestinaci; Pezzotti; Pantosti, 2015).

De acordo com o panorama apresentado é de suma importância que o desenvolvimento científico ocorra de forma a atender a esta crescente demanda de novos medicamentos ou formas alternativas de tratamento. Nesse sentido, a descoberta de novos

extratos de plantas com atividade antimicrobiana é de grande valia, visto que há vários estudos científicos revelando promissores agentes naturais no combate a microrganismos patogênicos, devido à variedade química presente nos vegetais. Além do uso de diferentes espécies na medicina tradicional para tratamentos de infecções (Newman, Cragg, 2020, Zida *et al.*, 2016).

2.2.4. Diabetes

O número de pessoas com diabetes vem aumentando ao longo dos anos, conforme a 10ª edição do Diabetes Atlas disponibilizado pela Federação Internacional de Diabetes. Em 2021, a quantidade de pessoas com diabetes no mundo foi estimada em 537 milhões, e calcula-se que, até 2045, esse número chegue próximo a 800 milhões, significando um aumento de 46% no total de casos. Essa edição ainda confirma que o diabetes é uma das emergências de saúde com maior crescimento global do século 21. Esse aumento está relacionado ao envelhecimento da população e a adoção de estilos de vida não saudáveis, levando a quadros de obesidade (Aschner *et al.*, 2021).

O diabetes mellitus, mais comumente chamado de diabetes, é uma doença grave e crônica que ocorre quando o corpo não consegue produzir insulina suficiente ou não consegue utilizar de forma eficaz a insulina que produz. Essa condição pode causar danos a diversos órgãos do corpo, levando a incapacidades e complicações de saúde, como doenças cardiovasculares, danos nos nervos, danos aos rins e doenças oculares (afetando principalmente a retina). No entanto, se o controle da doença for adequado, essas complicações graves podem ser postergadas ou ainda totalmente impedidas (Diabetes Atlas, 2021; IDF, 2019).

O diabetes tipo 1 é a principal forma de diabetes na infância, embora possa ocorrer em qualquer idade. É desencadeado por um processo autoimune, no qual o sistema imunológico ataca as células pancreáticas responsáveis pela produção de insulina, resultando em uma baixa quantidade desse hormônio no corpo, sem possibilidade de prevenção. Indivíduos com diabetes tipo 1 dependem da administração de insulina para sobreviver, e com o tratamento diário, monitoramento regular da glicose sanguínea, conscientização e apoio, podem levar vidas saudáveis e retardar ou prevenir muitas complicações associadas ao diabetes (Diabetes Atlas, 2021; Atkinson *et al.*, 2014; Craig *et al.*, 2014).

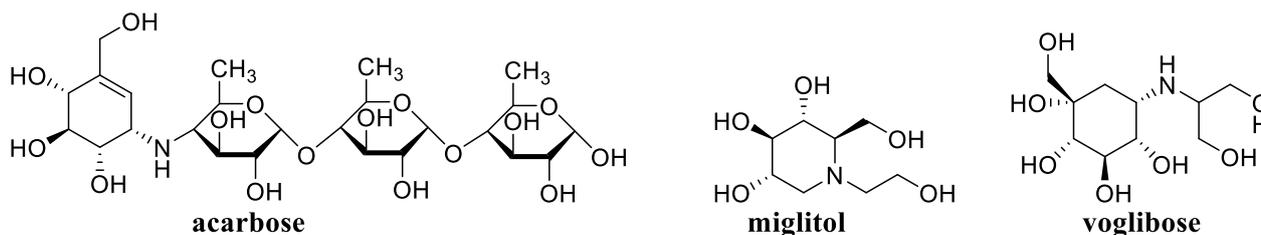
O diabetes tipo 2 é responsável pela grande maioria (mais de 90%) da diabetes em todo o mundo. No diabetes tipo 2, a hiperglicemia é o resultado, inicialmente, da

incapacidade de as células do corpo responderem plenamente à insulina, uma condição denominada resistência à insulina. Com o início da resistência à insulina, o hormônio é menos eficaz e, no devido tempo, provoca um aumento na produção de insulina. Com o tempo, a produção inadequada de insulina pode se desenvolver como resultado da falha das células beta pancreáticas em atender à demanda. Existem evidências de que o diabetes tipo 2 pode ser prevenido ou retardado, e há evidências de que a remissão do diabetes tipo 2 pode ser possível. Em nível global, a prevalência da diabetes tipo 2 é elevada e com tendência a crescimento em todas as regiões. Este aumento é impulsionado pelo envelhecimento da população, estilos de vida sedentários e pelo maior consumo de alimentos não saudáveis associados à obesidade (Diabetes Atlas, 2021; Basu *et al.*, 2013).

Uma das formas de tratamento para o diabetes tipo 2 é através do controle da hiperglicemia, sendo que a inibição da absorção da glicose no intestino é uma forma de controlar o nível de glicose no sangue (Subramanian; Asmawi; Sadikun, 2008, Thilagam *et al.*, 2012). Para isso, busca-se formas de interferir na absorção da glicose através da inibição da enzima α -amilase e α -glicosidase (Thilagam *et al.*, 2013; Hui *et al.*, 2020), uma vez que a α -amilase é responsável por catalisar a hidrólise da ligação glicosídica de polissacarídeos, como o amido, transformando-os em carboidratos menores (Souza, 2010; Deveci *et al.*, 2021). Já a α -glicosidase catalisa a hidrólise da ligação glicosídica de oligossacarídeos, transformando-os em monossacarídeos absorvíveis no final do processo de digestão (Yoshimizu *et al.*, 2008; Deveci *et al.*, 2021). Portanto, a inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase podem suprimir a digestão de carboidratos retardando a captação da glicose provendo a redução dos níveis de açúcar no sangue.

Alguns fármacos já foram utilizados a fim de inibir a ação dessas enzimas, como é o caso da acarbose, do miglitol e do voglibose (Figura 8). Entretanto, esses inibidores podem causar efeitos adversos, como hipoglicemia, problemas hepáticos, e distúrbios gastrointestinais (Krentz; Bailey, 2005, Tundis; Loizzo; Menichini, 2010).

Figura 8 - Fármacos para tratamento de diabetes como inibidores de enzimas digestivas



Fonte: a autora.

Diante do exposto, percebe-se então a necessidade de busca de substâncias alternativas para o tratamento do diabetes. Sendo a pesquisa dos produtos naturais uma proposta interessante, devido a quantidade de espécies relatadas na literatura com atividades inibitórias para essas enzimas (Justino *et al.*, 2021, Rios, Francini, Schinella, 2015; Hui *et al.*, 2020).

Muitos medicamentos fitoterápicos têm sido recomendados para o tratamento da diabetes atuando como inibidores enzimáticos, uma vez que a atividade inibitória da enzima α -amilase foi relatada por diferentes metabólitos especializados (ME), como flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, antocianinas, triterpenos, saponinas, fitosteróis e polissacarídeos (Tundis; Loizzo; Menichini, 2010, Di Stefano; Oliviero; Udenigwe, 2018). Como exemplo, pode ser citado o estudo conduzido por Souza *et al.*, 2012, em que se verificou que o extrato de espécies do Cerrado, no caso do estudo *Eugenia dysenterica*, *Stryphnodendron adstringens* e *Pouteria caimit*, apresentaram elevada inibição da enzima.

Outra maneira de tratar os pacientes acometidos pelo diabetes é por meio da inibição dos produtos de glicação avançada (AGEs – Advanced Glycation End-Products). Os AGEs são produtos formados por reações não enzimáticas e decorrem principalmente de quadros de hiperglicemia ou estresse oxidativo, sendo responsável pela degradação de células saudáveis e complicações do diabetes (Rabbani, Thornalley, 2018; Khan *et al.*, 2020; Lee, Yun, Ko, 2022). Eles são capazes de modificar as propriedades e as funções de diferentes estruturas biológicas, danificando células e tecidos. Dessa forma, atuam no processo de formação de radicais livres e glicação intracelular de proteínas, comprometendo a função celular, contribuindo para o surgimento e progressão das complicações do diabetes (Barbosa; Oliveira; Seara, 2008; Nenna *et al.*, 2015).

Algumas substâncias foram utilizadas a fim de inibir a formação dos AGEs, porém até o momento não existem fármacos específicos aprovados, por conta das reações adversas que estes medicamentos causam. Como é o caso da aminoguanidina, um fármaco com atividade antiglicante promissora, além de apresentar potencial no controle de algumas complicações do diabetes, entretanto, o seu uso está associado a efeitos colaterais como distúrbios gastrointestinais, disfunções hepáticas, anemia, dentre outros (Yamagishi, 2013; Ahmad *et al.*, 2014).

Nesse sentido, os compostos oriundos dos vegetais tem despertado o interesse de pesquisadores. Diversos compostos provenientes de fontes vegetais têm apresentado potencial atividade inibitória contra a formação de AGEs, além de apresentarem baixa

toxicidade. Dentre esses compostos destacam-se os polifenóis, polissacarídeos, terpenoides, vitaminas, alcaloides e peptídeos, que estão associados à redução dos níveis de glicose, e a diminuição da resistência à insulina (Bittar *et al.*, 2024, Torres *et al.*, 2018; Anwar *et al.*, 2021; Song *et al.*, 2021; Velichkova; Foubert; Pieters, 2021). Fazendo com que os inibidores de glicação presentes nas plantas sejam *Candidatos* promissores para o desenvolvimento de novas terapias contra o diabetes e suas complicações.

As espécies de *Miconia* são ricas em compostos polifenólicos e terpenoides; no entanto, foram encontrados poucos estudos relacionados à atividade antidiabética. Portanto, no presente trabalho, a *Miconia ibaguensis* foi avaliada pela primeira vez quanto à capacidade de inibição da enzima α -amilase e α -glicosidase e à inibição dos produtos de glicação avançada.

2.2.5. Estresse oxidativo e a atividade antioxidante

Estudos têm associado a progressão do diabetes ao estresse oxidativo, este sendo responsável por promover o aparecimento do diabetes, ou ainda por exacerbar as condições da doença (Asmat; Abad; Ismail, 2016; Ighodaro, 2018). O estresse oxidativo ocorre devido a um desequilíbrio entre a geração de radicais livres e a remoção deles através da atuação dos sistemas de defesa antioxidante. A produção de radicais livres é um subproduto do metabolismo de oxigênio, sendo a mitocôndria, por meio da cadeia transportadora de elétrons, a principal fonte geradora. O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir ou reduzir os danos causados pela ação prejudicial dos radicais livres (Johansen *et al.*, 2005; Barbosa *et al.*, 2010).

A geração de radicais livres constitui um processo contínuo e fisiológico, sendo responsável pelo cumprimento de funções biológicas relevantes. Durante os processos metabólicos, esses radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas. Sua produção, em proporções adequadas, possibilita a geração de ATP (energia), por meio da cadeia transportadora de elétrons, participação de mecanismos de defesa durante o processo de infecção, dentre outras atividades desempenhadas pelo corpo humano. Porém, a produção excessiva pode conduzir a danos oxidativos (Barbosa *et al.*, 2010).

Hábitos como exposição à radiação UV, consumo de alimentos processados ou com excesso de gordura e açúcar, consumo de bebidas alcoólicas, tabagismo, entre outros fatores, têm o potencial de promover a formação excessiva das espécies radiculares (Vatner *et al.*, 2020). No caso de pessoas com diabetes, o quadro de hiperglicemia

também contribui para a formação de espécies radicalares, uma vez que a glicose pode sofrer autooxidação (Johansen *et al.*, 2005).

O processo de estresse oxidativo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, através da geração excessiva de radicais livres ou baixa velocidade de remoção desses. Tal processo conduz à oxidação de biomoléculas, com conseqüente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático. Se esse processo se tornar crônico pode acarretar numerosas enfermidades, entre elas a aterosclerose, diabetes, obesidade, transtornos neurodegenerativos e câncer (Barbosa *et al.*, 2010).

O corpo humano possui formas de neutralizar essas espécies formadas, algumas endógenas, como enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, entre outras. Esse processo também pode ser feito por antioxidantes exógenos, adquiridos por meio da alimentação ou suplementação, como as vitaminas A, C e E, carotenoides e compostos fenólicos (Kang, Yang, 2020; Pisoschi *et al.*, 2020; Nanda, Madan, 2021). Os compostos fenólicos, como os flavonoides, são amplamente reconhecidos, principalmente por sua capacidade de reduzir a formação e eliminar radicais livres (Justino *et al.*, 2021, Quaresma *et al.*, 2020, Da Costa Silva *et al.*, 2019, Procházková; Boušová; Wilhelmová, 2011).

Dessa forma, torna-se crucial investigar plantas em busca de compostos que possam contribuir para o controle e tratamento do diabetes, bem como para o combate ao estresse oxidativo. Este próximo tópico abordará a relevância desses compostos em uma espécie específica.

2.3. Família Melastomataceae

A família Melastomataceae é considerada uma das 10 famílias botânicas mais ricas entre as angiospermas, compreendendo aproximadamente 5.900 espécies (Ulloa Ulloa *et al.* 2022). No Brasil, ela se distribui por todo o território nacional, sendo comum nos domínios da Amazônia, do Cerrado (incluindo as formações de campos rupestres) e da Mata Atlântica (Goldenberg *et al.*, 2012). A família Melastomataceae possui importância econômica devido à presença de árvores madeireiras, além de incluir plantas frutíferas comestíveis e espécies utilizadas como plantas corantes, sendo também cultivadas como ornamentais (Simpson, 2010).

O gênero *Miconia* Ruiz & Pavón é um dos mais representativos da família Melastomataceae, com mais de 1.050 espécies registradas desde o México até o Uruguai.

No Brasil, este gênero ocupa a quinta posição em relação a diversidade, representado por 282 espécies, sendo 101 endêmicas e 64 estão presentes no Cerrado (Goldenberg *et al.*, 2015, Goldenberg *et al.*, 2023). As espécies de *Miconia* são pioneiras e desempenham um papel importante para estrutura e função dos ecossistemas florestais e não florestais, além de representarem uma importante fonte de alimento para vários animais frugívoros (Messeder *et al.*, 2020).

2.3.1. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Miconia*

Estudos etnobotânicos relataram usos populares variados das espécies do gênero *Miconia*. *M. albicans* e *M. mirabilis*, espécies conhecidas popularmente como canela-de-velho e capa-de-Xangô, respectivamente, foram usadas devido suas propriedades anti-reumáticas (Stalcup M, 2000). Em 2001, foi realizado um levantamento junto às comunidades rurais no sul de Minas Gerais, e descobriu-se que a *M. rubiginosa*, conhecida localmente como “capiroquinha”, é utilizada no tratamento de infecções da garganta, de acordo com a medicina popular (Rodrigues & Carvalho, 2001). Na Tabela 4, são apresentados usos populares de outras espécies de *Miconia*.

Tabela 4 - Uso pela medicina popular de espécies de *Miconia*

Espécie	Nome popular	Uso pela medicina popular	Referências
<i>M. albicans</i>	“canela-de-velho”	febre, artrose, reumatismo, analgésico, anti-inflamatório	Stalcup, 2000; Ribeiro <i>et al.</i> , 2017
<i>M. rubiginosa</i>	“capiroquinha”	inflamação de garganta	Ferreira <i>et al.</i> , 2013; Rodrigues & Carvalho, 2001
<i>M. mirabilis</i>	“capa-de-Xangô”	reumatismo	Stalcup, 2000
<i>M. sellowiana</i>	Não citado	calmante, cicatrizante e anti-inflamatório	Ferreira <i>et al.</i> , 2020
<i>M. hyemalis</i>	“bota-branca”	calmante, anti-inflamatório e tratamento da malária	Bieski <i>et al.</i> , 2015; Ferreira <i>et al.</i> , 2020

Fonte: a autora.

Por meio de trabalhos de revisão encontra-se os resultados de alguns estudos conduzidos a fim de avaliar as atividades biológicas e fitoquímicas de extratos de *Miconia* e seus compostos isolados. Neles foram relatados que espécies deste gênero possuem várias atividades, incluindo antimicrobiana, tripanocida, antileishmania,

esquistossomicida, antimalárico, inseticida, antitumoral, antioxidante, antidiabético, efeitos analgésicos e antiinflamatórios (Cunha; Cruz; Menezes, 2019).

Em outro trabalho, conduzido por Silva *et al.* (2022), foram revisados estudos realizados com espécies de *Miconia*, destacando seus usos etnomedicinais e potencial farmacológico e fitoquímico, coletando informações através das principais plataformas de pesquisa científica (PubMed, Scopus e Web of Science). Dentre as atividades analisadas, a atividade antimicrobiana foi a mais frequentemente relatada nos últimos 21 anos, correspondendo a 26% das publicações, seguida das atividades anti-inflamatória e analgésica (15%), citotóxica (15%), antiparasitária (15%), antioxidante (15%), antimutagênico (4%) e 10% são referentes a outras atividades.

A revisão mais recente foi realizada por Gandhi *et al.* (2023), nela foram identificados e discutidos sistematicamente os registros na literatura sobre estudos *in vivo* e *in vitro* com foco nos potenciais terapêuticos e mecanismos moleculares relacionadas do gênero *Miconia*.

A Tabela 5 apresenta resultados das pesquisas realizadas em espécies do gênero *Miconia*.

Tabela 5 - Atividades biológicas observadas no gênero *Miconia* (continua)

Espécie	Parte da planta	Extrato/fração	Atividade avaliada	Referências
<i>M. affinis</i>	caules	acetato de etila	antifúngico, antioxidante, antidiabético, analgésico	Guldbrandsen <i>et al.</i> , 2015
<i>M. albicans</i>	folhas	hexânico e metanólico	antibacteriana, artrite e anti-inflamatório	Cunha; Cruz; Menezes, 2019
	folhas	acetato de etila	citotoxicidade e ansiolítico	Castro <i>et al.</i> , 2022
	frutos	metanólico	antioxidante, anti-inflamatório e citotoxicidade	Corrêa <i>et al.</i> , 2021
	folhas	etanólico	antiparasitário e anti-inflamatório	Quintans-Júnior <i>et al.</i> , 2020
<i>M. rubiginosa</i>	folhas	etanólico e hexânico	analgésico	Spessoto <i>et al.</i> , 2003
<i>M. fallax</i>	partes aéreas	etanólico	tripanocida, carcinogênico, antibacteriana	Cunha; Cruz; Menezes, 2019;

Tabela 5 - Atividades biológicas observadas no gênero *Miconia*

<i>M. chamissois</i>	flores	etanólico	antioxidante, antimicrobiano	Menezes Filho <i>et al.</i> , 2021
<i>M. albicans</i> , <i>M. rubiginosa</i>	partes aéreas	etanólico e hexânico	antimicrobiana	Celotto <i>et al.</i> , 2003
<i>M. ligustroides</i> <i>M. sellowiana</i>	partes aéreas	etanólico, hexânico e diclorometano	tripanocida	Cunha <i>et al.</i> , 2009

Fonte: a autora.

As atividades biológicas apresentadas pelas espécies de *Miconia* são provenientes dos metabólitos especializados (ME) encontrados nelas. Como já mencionado anteriormente em outro tópico deste trabalho, os ME são específicos de cada espécie e expressam sua individualidade e são responsáveis por características comportamentais das plantas (Dewick, 2009).

A composição química do gênero *Miconia* é bastante diversificada incluindo ácidos fenólicos, quinonas, fenilpropanoides, lignanas, taninos hidrolisáveis, triterpenoides, esteroides e flavonoides (Cunha; Cruz; Menezes, 2019; Silva *et al.*, 2022; Gandhi *et al.*, 2023).

Os compostos fenólicos constituem um grande grupo de ME produzidos pelas plantas, como mais de 8 mil estruturas diferentes identificadas (Borrelli; Trono, 2016). Esses compostos estão envolvidos em diversos processos fisiológicos como polinização, resistência a patógenos e predadores, proteção contra os raios UV e resistência ao estresse abiótico (Borrelli; Trono, 2016; Pratyusha, 2022). No gênero *Miconia*, os compostos fenólicos representam a maior classe de compostos isolados incluindo ácidos fenólicos, fenilpropanoides, flavonoides glicosilados, hidroquinonas, lignanas e taninos hidrolisáveis. Dentre as principais atividades biológicas avaliadas para os compostos fenólicos isolados de espécies de *Miconia*, incluem citotóxica, antimicrobiana, leishmanicida, antioxidante, antitumoral e antifúngica (Cunha; Cruz; Menezes, 2019; Silva *et al.*, 2022; Gandhi *et al.*, 2023).

Outra classe de ME bastante encontrada no gênero são os terpenos e terpenóides. As atividades biológicas avaliadas para os terpenóides isolados em *Miconia* incluem: atividade tripanocida, antifúngica, antibacteriana, antitumoral, antimicrobiana, quimiopreventiva, antimutagênica, antileishmaniana (Cunha; Cruz; Menezes, 2019; Silva *et al.*, 2022; Gandhi *et al.*, 2023). A Tabela 6 apresenta os compostos isolados em espécies de *Miconia*, juntamente com a atividade biológica relatadas pelos trabalhos, seguido da Figura 9 onde estão apresentadas as estruturas dos compostos.

Tabela 6 - Compostos isolados de espécies de *Miconia* (continua)

Espécie	Composto isolado	Referência
Compostos fenólicos		
<i>M. albicans</i>	quercetina (I)	Pieroni <i>et al.</i> , 2011
	quercetina-3-O-glicosídeo (II)	Pieroni <i>et al.</i> , 2011
	quercetina-3-O-(2"-galoil)- α -L-ramnopiranosídeo (III)	Lima <i>et al.</i> , 2018
	rutina (IV)	Pieroni <i>et al.</i> , 2011
<i>M. cabucu</i>	miricetina-3-O- β -xilopiranosil-(1 \rightarrow 2)-O- α -ramnopiranosídeo (V)	Rodrigues <i>et al.</i> , 2008; Lima <i>et al.</i> , 2018;
	canferol-3-O- β -(6"-cumaroil)-glicopiranosídeo (VI)	Rodrigues <i>et al.</i> , 2007; Rodrigues <i>et al.</i> , 2008;
	5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavona-(6-C-6")-5"- hidroxi-3""4""7""-trimetoxiflavona (VII)	Rodrigues <i>et al.</i> , 2007; Rodrigues <i>et al.</i> , 2008
<i>M. myriantha</i>	mateucinol-7-O- β -D-glicopiranosídeo (VIII)	Li <i>et al.</i> , 2001
	mateucinol-7-O-[4",6"-O-(S)-hexahidroxidifenoil]- β -D-glicopiranosídeo (IX)	Li <i>et al.</i> , 2001
<i>M. ferruginata</i>	5-hidroxi-7,4'-dimethoxi-8-metilflavona (X)	Cunha <i>et al.</i> , 2017
<i>M. rubiginosa</i>	quercetina-3-O- β -arabinofuranosídeo (XI)	Rodrigues <i>et al.</i> , 2008; Rodrigues <i>et al.</i> , 2011
	quercetina-3-O- α -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-O- β -galactopiranosídeo (XII)	Rodrigues <i>et al.</i> , 2011
	epicatequina (XIII)	Rodrigues <i>et al.</i> , 2008

Tabela 6 – Compostos isolados de espécies de *Miconia* (continua)

Triterpenos		
<i>M. albicans</i>		Cunha <i>et al.</i> , 2010;
<i>M. fallax</i>		Queiroz <i>et al.</i> , 2011;
<i>M. ligustroides</i>	ácido ursólico (XIV)	Pieroni <i>et al.</i> , 2011;
<i>M. sellowiana</i>		Lima <i>et al.</i> , 2018; Cunha
<i>M. ferruginata</i>		<i>et al.</i> , 2006; Macari <i>et</i>
<i>M. rubiginosa</i>		<i>al.</i> , 1990;
<i>M. ferruginata</i>		Cunha <i>et al.</i> , 2010;
<i>M. ligustroides</i>	ácido oleanólico (XV)	Queiroz <i>et al.</i> , 2011;
<i>M. fallax</i>		Lima <i>et al.</i> , 2018; Cunha
<i>M. albicans</i>		<i>et al.</i> , 2006; Macari <i>et</i>
<i>M. rubiginosa</i>		<i>al.</i> , 1990
<i>M. rubiginosa</i>	α -amirina acetato (XVI)	Pieroni <i>et al.</i> , 2011; Crevelin <i>et al.</i> , 2006
	ácido 2- α -hidroxiursólico (XVII)	Lima <i>et al.</i> , 2018;
<i>M. sellowiana</i>	ácido maslínico (XVIII)	Lima <i>et al.</i> , 2018; Cunha <i>et al.</i> , 2006
<i>M. albicans</i>	3-(E)-p-cumaroil- α -amirina (XIX)	Pieroni <i>et al.</i> , 2011

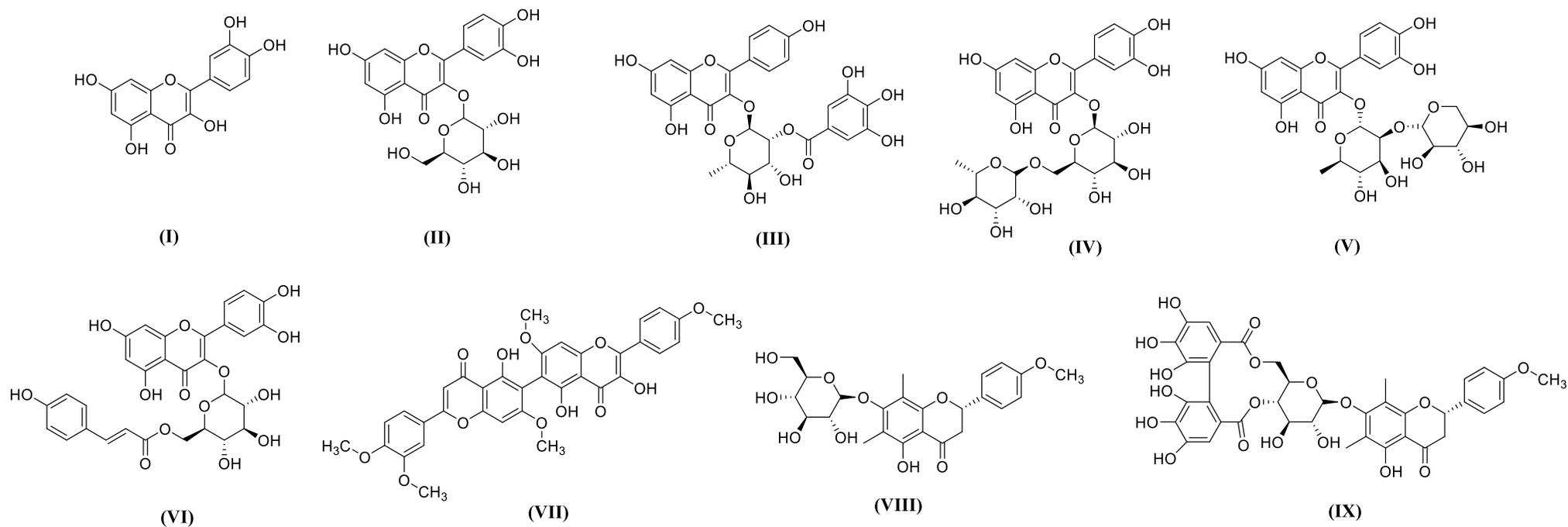
Tabela 6 – Compostos isolados de espécies de *Miconia* (continua)

Esteroides		
<i>M. albicans</i>		
<i>M. pepericarpa</i>		
<i>M. sellowiana</i>	β -sitosterol (XX)	Cunha <i>et al.</i> , 2017; Crevelin <i>et al.</i> , 2006
<i>M. rubiginosa</i>		
<i>M. ferruginata</i>		
<i>M. albicans</i>	3-O- β -D-glicopiranosilsterol (XXI)	Macari <i>et al.</i> , 1990
Outras classes		
<i>M. myriantha</i>		Li <i>et al.</i> , 2001;
<i>M. cabucu</i>	ácido gálico (XXII)	Rodrigues <i>et al.</i> , 2008;
<i>M. rubiginosa</i>		Rodrigues <i>et al.</i> , 2011; Rodrigues <i>et al.</i> , 2007
<i>M. myriantha</i>	ácido elágico (XXIII)	Li <i>et al.</i> , 2001
	ácido 3,3'-di-O-metil elágico-4-O- β -D-xilopiranosídeo (XXIV)	Li <i>et al.</i> , 2001
<i>M. albicans</i>	1-O-(E)-cafeoil-4,6-di-O-galoil- β -D-glicopiranosose (XXV)	Lima <i>et al.</i> , 2018
<i>M. affinis</i>	β -hidroxipropiovanillona (XXVI)	Gulbrandsen <i>et al.</i> , 2015
	ácido 3'-O-metil-3,4-O,O-metilenoelágico (XXVII)	Gulbrandsen <i>et al.</i> , 2015

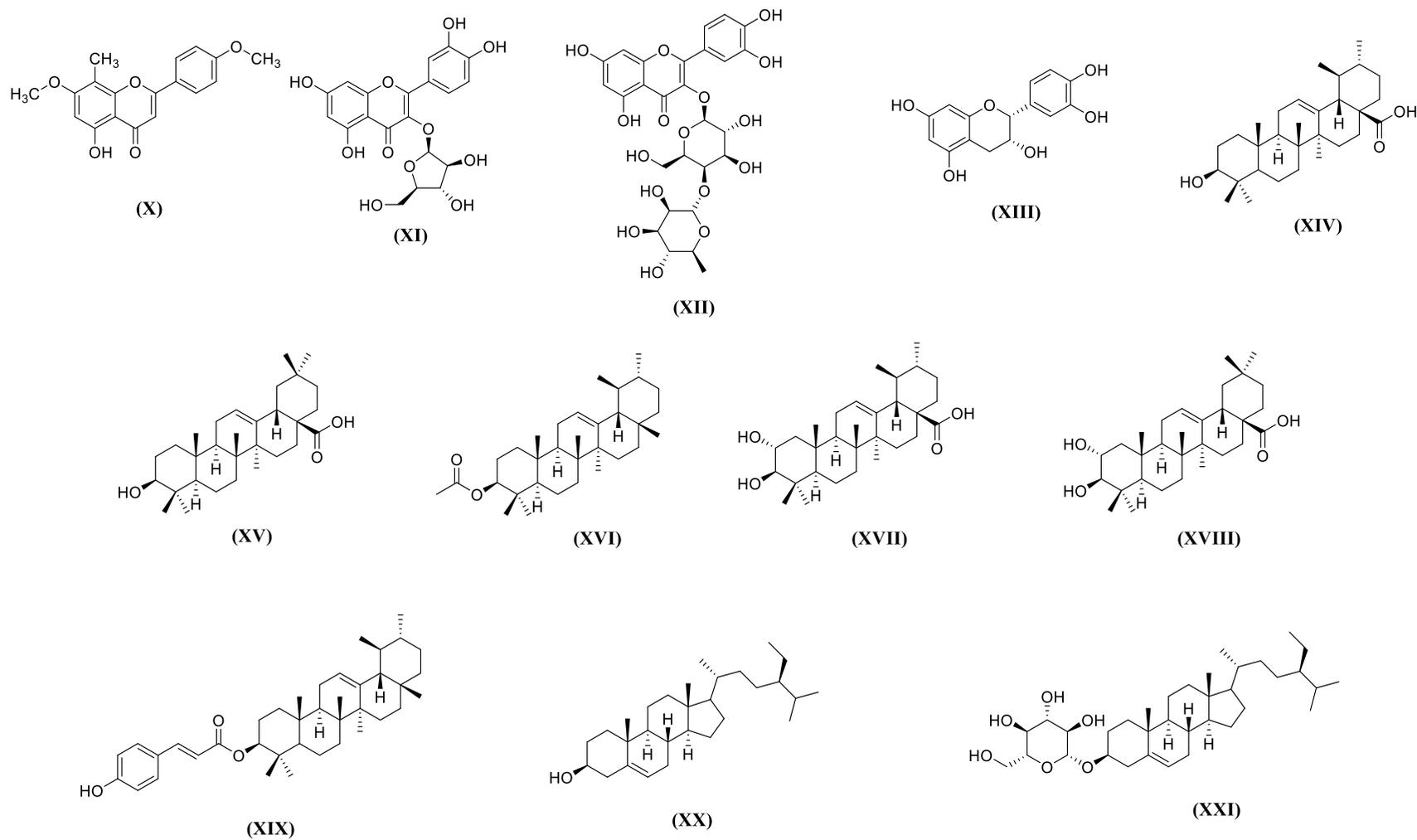
Tabela 6 – Compostos isolados de espécies de *Miconia*

<i>M. rubiginosa</i>	casuarictina (XXVIII)	Rodrigues <i>et al.</i> , 2011
	schizandrisídeo (XXIX)	Rodrigues <i>et al.</i> , 2011
<i>M. lepidota</i>		Gunatilaka <i>et al.</i> , 2001;
<i>M. willdenowii</i>	2-metoxi-6-pentil-1,4-benzoquinona (XXX)	Rosa W, 2015

Fonte: a autora.

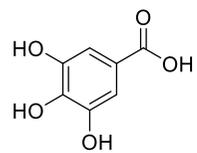
Figura 9 - Estrutura dos compostos isolados de espécies de *Miconia* (continua)

Fonte: a autora.

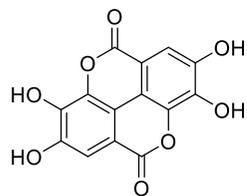
Figura 9 - Estrutura dos compostos isolados de espécies de *Miconia* (continua)

Fonte: a autora.

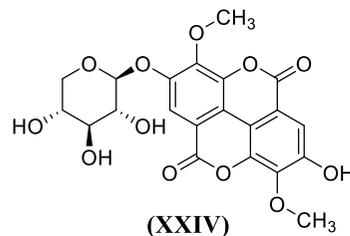
Figura 9 - Estrutura dos compostos isolados de espécies de *Miconia*



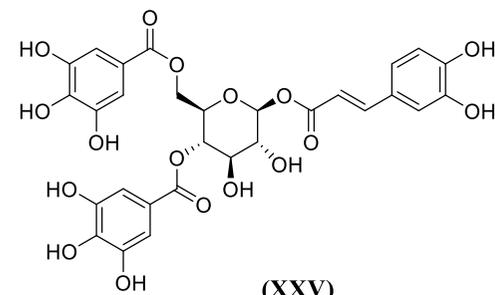
(XXII)



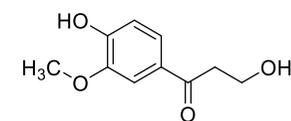
(XXIII)



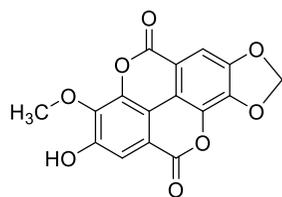
(XXIV)



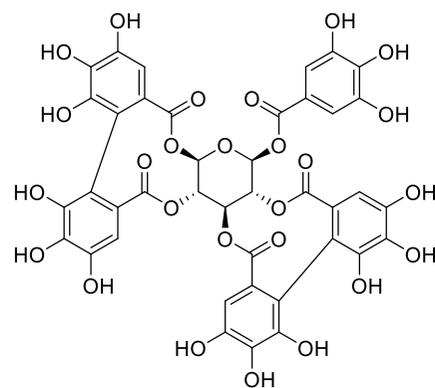
(XXV)



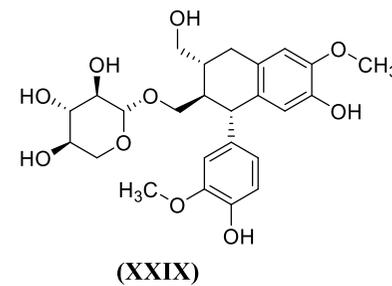
(XXVI)



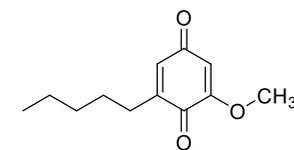
(XXVII)



(XXVIII)



(XXIX)



(XXX)

Fonte: a autora.

Em relação aos estudos realizados sobre a *M. ibaguensis*, o extrato da espécie apresentou atividade alelopática (Santos *et al.*, 2017), podendo também ser utilizada na restauração ecológica, cuja finalidade é iniciar ou acelerar a recuperação de um ecossistema que foi degradado pelas ações humanas (Sousa *et al.*, 2015). Segundo Souza Filho e Alves (2002), os flavonoides são os maiores responsáveis pelos fenômenos alelopáticos identificados nas espécies do gênero *Miconia*.

Por esse motivo, devido a variedade de atividades biológicas apresentadas pelo gênero *Miconia* e pela falta de estudos específicos a espécie *Miconia ibaguensis*, motivou-se este trabalho.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos gerais

Esse trabalho teve como objetivo geral estudar a composição química, bem como avaliar as atividades antimicrobiana, antioxidante e antidiabética dos extratos e frações das folhas de *Miconia ibaguensis*.

3.2. Objetivos específicos

- Realizar a identificação da planta, coletar e secar o material vegetal;
- Obter o extrato hexânico e etanólico por maceração das folhas;
- Fracionar o extrato etanólico através de extração líquido-líquido com solventes de polaridades diferentes;
- Avaliar a atividade antifúngica e antibacteriana dos extratos e frações pelo método micro diluição em caldo;
- Avaliar atividade antioxidante dos extratos e frações pelos métodos DPPH, FRAP e ORAC;
- Avaliar a atividade antidiabética dos extratos e frações através da inibição dos produtos de glicação avançada, e dos extratos através da inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase;
- Analisar por CLAE/EM o perfil metabólico dos extratos e frações.

4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.1. Instrumentos e reagentes

4.1.1. Instrumentos

- Banho de aquecimento FISATOM modelo 550;
- Balança analítica SHIMADZU modelo AUW220D;
- Balança de luz infravermelha para determinação de umidade Quimis modelo Kelt FD-600;
- Evaporador rotativo IKA modelo RV 10;
- Liofilizador TERRONI modelo LS3000;
- Incubadora B.O.D. Nova Ética modelo 411/FDP 155L;
- Lavadora ultrassônica modelo USC-750 Unique;
- Espectrofotômetro com leitor de microplaca (Molecular Devices, Menlo Park, CA, USA);
- Espectrômetro de fluorescência com leitor de microplaca (Perkin-Elmer LS 55, Massachusetts, USA);
- Espectrômetro (Genesys TM 10 S UV-Vis);
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência Agilent, modelo Infinity 1260, acoplado a um espectrômetro de massas de alta resolução do tipo Q-TOF (Quadropole Time of Flight) da marca Agilent, modelo 6520 B, com fonte de ionização por eletrospray (IES).

4.1.2. Reagentes

- Solventes utilizados para extrações em cromatografias: hexano, etanol, acetato de etila, *n*-butanol, diclorometano e metanol das marcas Synth, Vetec, Merck e Neon. Sendo os solventes hexano, etanol e acetato de etila destilados para obtenção de maior grau de pureza;
- Anidrido acético, ácido sulfúrico, ácido fórmico, ácido hexacloroplátinico ácido acético das marcas Synth, Merck e Vetec;
- Metanol HPLC da Honeywell e J. T. Baker;
- Reagentes químicos: nitrato de bismuto (Isofar), iodeto de potássio (Chemicals), ácido hexacloroplátinico (Vetec), cloreto de potássio (KCl) (Mallinckrodt), acetato de sódio trihidratado (ECIBRA). Polietilenoglicol 400 (PEG-400), cloreto de alumínio e sulfato cérico pentahidratado foram da Vetec. Radical 2,2-difenil-

1-picril-hidrazina DPPH, difenilboriloxietilamina (NP), 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ), 2,2'-azobis-(2-amidinopropano) di-hidrocloreto (AAPH), fluoresceína, α -(2-cloro-4-nitrofenil)- β -1,4-galactopiranosilmaltosídeo (Gal-G2- α -CNP), 2-(N-morfolino)-etanossulfônico (MES), cloreto de cálcio (CaCl₂), tiocianato de potássio (KSCN), cloreto de sódio (NaCl), cloreto férrico (FeCl₃), fosfato dissódico (Na₂HPO₄), fosfato monossódico (NaH₂PO₄), 4-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo (p-NPG), fração enriquecida de α -glicosidase (f-AG), albumina bovina (BSA), azida de sódio e D-(-)-frutose foram da Sigma-Aldrich;

- Padrões: quercetina, ácido ascórbico, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (TROLOX), acarbose e cloridrato de aminoguanidina da Sigma-Aldrich.

4.2. Coleta e preparo do material vegetal

A espécie *Miconia ibaguensis* foi coletada na mata do Campus Glória-UFU (Dados de GPS: 18°57'24,60" S 48°12'28,83" W), sendo identificada pela Prof. Dra. Rosana Romero, e uma exsiccata foi depositada no Herbário-UFU com número HUFU00063210. O projeto foi registrado no sistema nacional de gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional associado (SisGen) com número do cadastro A5FE856.

Após a coleta, as folhas foram transportadas para o laboratório do Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais (NuPpEn) no Instituto de Química da UFU e colocadas em uma incubadora com circulação de ar a 35 °C para secagem. O teor de umidade das folhas foi determinado pelo método gravimétrico, através de uma balança de luz infravermelha, que consiste em retirar uma amostra de 1,0 g das folhas e deixá-la a temperatura de 105 °C por 15 minutos. Uma vez verificado, por meio da amostra, que as folhas atingiram 5,4% de umidade, as folhas foram retiradas da incubadora e, em seguida, foram trituradas utilizando um multiprocessador.

As folhas secas (144,36 g) foram então submetidas ao processo de extração por maceração com hexano (300 mL), onde o material vegetal foi colocado em contato com solvente por 48 horas a temperatura ambiente. Após decorrido o tempo, o solvente foi filtrado e destilado utilizando um evaporador rotatório a pressão reduzida e banho a 40 °C. Este procedimento foi realizado cinco vezes, resultando no extrato hexânico (EH). O material vegetal remanescente foi submetido à extração com etanol (300 mL), o mesmo

procedimento foi repetido cinco vezes, sendo então obtido o extrato etanólico (EE). A Figura 10 ilustra o processo de maceração realizado para obtenção dos extratos.

Figura 10 - Processo de maceração para obtenção de EH e EE



Fonte: a autora.

Em seguida, o extrato etanólico (EE) foi submetido a extração líquido-líquido, solubilizando 5 g em 50 mL de metanol:água (3:2) que foi transferido a um funil de separação. Inicialmente, foi adicionado diclorometano (30 mL) à fração metanol:água, e o processo de extração foi realizado cinco vezes até obter a fração diclorometano (FD). O mesmo procedimento foi realizado para a obtenção das frações acetato de etila (FAE) e *n*-butanol (FB), utilizando os respectivos solventes, restando então a fração final aquosa (FA).

4.3. Prospecção fitoquímica

Os extratos e frações foram, então, submetidos a análise por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando reveladores para a detecção das principais classes de ME presentes nas amostras. Para isso, os extratos e frações foram solubilizados em metanol com concentração de 3 mg mL⁻¹. Foram utilizados sistemas de fases móveis para o desenvolvimento das placas cromatográficas. Fase móvel 1: hexano: acetato de etila: ácido fórmico (7:3:0,5 mL) – utilizada para o extrato hexânico, fase móvel 2: acetato de etila: ácido acético: ácido fórmico: água (10: 1,1: 1,1: 2,6 mL) – utilizada para o extrato etanólico e frações (exceto a aquosa), fase móvel 3: metanol (10 mL) – utilizada para fração aquosa. Os reveladores utilizados estão listados a seguir (Wagner; Bladt, 1996).

4.3.1. Reveladores para flavonoides

NP/PEG: foram preparadas duas soluções, uma solução 1% (m v⁻¹) de difenilboriloxietilamina (NP) e uma solução de 5% polietilenoglicol-4000 (PEG4000) em

etanol. Posteriormente foram misturados 10 mL de solução de NP e 8 mL da solução de PEG4000, o revelador foi borrifado sobre a placa e o aparecimento de manchas coloridas sob a luz ultravioleta indica a presença de flavonoides.

Cloreto de alumínio: foi preparada uma solução contendo AlCl_3 1% (m v^{-1}) em metanol. A placa CCD foi borrifada com o revelador e observada na câmara de luz UV.

4.3.2. Reveladores para alcaloides

Iodocloroplatinado: foram preparadas duas soluções, uma solução 5% (m v^{-1}) de ácido hexacloroplatínico em água e uma solução de 10% (m v^{-1}) de iodeto de potássio em água. A seguir foi misturado 1,0 mL da solução de ácido hexacloroplatínico e 9,0 mL da solução de iodeto de potássio, juntamente com 10 mL de água destilada. O revelador é borrifado sobre a placa e o aparecimento de manchas marrons indica a presença de alcaloides.

Dragendorff: foram preparadas duas soluções, denominadas A e B. A solução A foi preparada dissolvendo 0,85 g de nitrato de bismuto em 10 mL de ácido acético e em seguida foi adicionado 40 mL de água destilada sob aquecimento. A solução B foi preparada dissolvendo 8,0 g de iodeto de potássio em 30 mL de água destilada. As duas soluções foram misturadas em proporções iguais para o preparo de uma solução estoque; dessa solução estoque foi retirado 1,0 mL e adicionado 2,0 mL de ácido acético glacial e 10 mL de água destilada. O revelador é borrifado sobre a placa de CCD e o aparecimento de manchas de cor laranja indica a presença de alcaloides.

4.3.3. Reveladores para antraquinonas, antronas e cumarinas

KOH: foi preparada uma solução de hidróxido de potássio 5% (m v^{-1}) em etanol. O revelador é aplicado sobre a placa de CCD, o aparecimento de manchas vermelhas indica a presença de antraquinonas. Já a presença de antronas ou cumarinas é evidenciada com o auxílio de luz UV, onde o aparecimento de manchas amarelas indica a presença de antronas e azuis a de cumarinas.

4.3.4. Reveladores universais (Terpenos, esteroides, saponinas, açúcares, fenóis, taninos, flavonoides)

Liberman-Burchard: foram adicionados 5,0 mL de ácido sulfúrico e 5,0 mL de anidrido acético em 50 mL de etanol absoluto, a solução foi preparada sob banho de gelo. O revelador é borrifado sobre a placa de CCD e a placa é aquecida por 5 a 10 minutos,

com temperatura de 100 °C. O aparecimento de manchas coloridas indica a presença de compostos das classes citadas.

Sulfato cérico: foi dissolvido 2,1 g de $Ce(SO_4)_2 \cdot 5H_2O$ em 15 mL de ácido sulfúrico concentrado e depois foram adicionados 800 mL de água destilada (CHAVES, 1997). A solução é aplicada sobre a placa de CCD e o aparecimento de manchas marrons indica a presença de compostos das classes citadas.

Vanilina sulfúrica: foram preparadas duas soluções, uma solução 1% ($m v^{-1}$) de vanilina em etanol (solução A) e uma solução 5% ($v v^{-1}$) ácido sulfúrico em etanol (solução B). A solução A é borrifada na placa seguida da solução B, a placa é aquecida por 5 a 10 minutos, com temperatura de 100 °C; o aparecimento de manchas coloridas indica a presença de compostos das classes citadas.

4.4. Avaliação da atividade antifúngica

As análises antifúngicas foram realizadas no Laboratório de Ensaio Antimicrobianos na Universidade Federal de Uberlândia (LEA-UFU), pela doutoranda Mariana Brentini Santiago, com a colaboração do professor Dr. Carlos Henrique Gomes Martins. A atividade antifúngica foi determinada pelo método da microdiluição em caldo, de acordo com o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Clsi, 2008).

4.4.1. *Microrganismos avaliados*

As cepas utilizadas foram provenientes da American Type Culture Collection (ATCC): *Candida glabrata* (ATCC 15126), *Candida albicans* (ATCC 28366), *Candida tropicalis* (ATCC 13803).

4.4.2. *Preparo das amostras, do inóculo e dos controles*

Os extratos e frações foram solubilizados em DMSO na concentração de 192000 $\mu g mL^{-1}$ (solução inicial). Em seguida, as amostras foram diluídas com caldo RPMI e ácido morfolunapropanosulfônido (MOPS) até a concentração das amostras no poço atingirem 12000 $\mu g mL^{-1}$.

Para preparo dos inóculos, as leveduras foram cultivadas em placas de petri contendo ágar Schaedler por 24 h à 37 °C. Com auxílio de alça platina esterilizada, colônias de leveduras foram transferidas para tubos com 2,0 mL de NaCl (0,85 %). O inóculo foi preparado usando o espectrofotômetro a 530 nm e comparado com a escala

de McFarland tubo de 0,5 para obter o valor de 6×10^6 UFC mL⁻¹. Em seguida, foram realizadas diluições em caldo RPMI até que o inóculo atingisse $1,2 \times 10^5$ UFC mL⁻¹.

Para controle e validação da técnica, foram utilizados o controle positivo anfotericina B nas concentrações de 0,031 – 16 µg mL⁻¹ e as cepas de referência *Candida parapsilosis* (ATCC 25285) (Faixa de CIM = 0,25 – 1 µg mL⁻¹) e *Candida krusei* (ATCC 29741) (Faixa de CIM = 0,25 – 2 µg mL⁻¹). Também foram realizados o controle de esterilidade do meio de cultura (caldo RPMI), do inóculo, dos controles, das amostras e do solvente DMSO (5 a 1%).

4.4.3. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

Os procedimentos foram realizados em capela de fluxo laminar e os materiais utilizados foram esterilizados. Em placas estéreis de 96 poços, foram adicionados 100 µL do inóculo, o volume final em cada poço foi de 200 µL. A concentração das amostras nos poços variou de 3000 a 1,46 µg mL⁻¹.

As microplacas foram incubadas a 37 °C por 48 h em. Após o período de incubação, foram adicionados em cada poço 30 µL de solução aquosa de resazurina a 0,02% m v⁻¹ para determinar a CIM.

4.5. Determinação da atividade antibacteriana

As análises antibacterianas foram realizadas no mesmo local da atividade antifúngica com os mesmos colaboradores. A atividade antibacteriana foi determinada pelo método da microdiluição em caldo, de acordo com o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para os microrganismos aeróbios (Clsi, 2012a) e para os microrganismos anaeróbios (Clsi, 2012b).

4.5.1. Microrganismos avaliados

As cepas utilizadas foram provenientes da American Type Culture Collection (ATCC). Sendo testados os seguintes microrganismos aeróbios: *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus mitis* (ATCC 49456), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ATCC 43717) e *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), e os anaeróbios: *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586), *Actinomyces naeslundii* (ATCC 19039).

4.5.2. Preparo das amostras, do inóculo e dos controles

Os extratos e frações foram solubilizados em DMSO na concentração de 8000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (solução estoque). Para os microrganismos aeróbios, em cada poço da microplaca foram acrescentados 125 μL da solução estoque e 1875 μL de caldo triptona de soja (TSB), resultando no poço uma solução com concentração 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para os microrganismos anaeróbios, foram adicionados em cada poço 162,5 μL da solução estoque e 2437,5 μL de caldo Schaedler suplementado, resultando no poço uma solução de concentração 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Para o preparo dos inóculos, as culturas dos microrganismos aeróbios foram crescidas em meio ágar triptona e soja enriquecido com 5% de sangue de carneiro durante 24h e transferidas para uma solução salina. Para microrganismos anaeróbios, foram crescidas em ágar Schaedler por 72 h. Os inóculos foram ajustados a 530 nm em espectrofotômetro comparando com a escala de Mc Farland tubo de 0,5 para obter uma concentração celular de $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC mL^{-1}). Em seguida foram realizadas diluições em caldo RPMI até que o inóculo atingisse $1,2 \times 10^3$ UFC mL^{-1} .

Para controle e validação da técnica, foram utilizados o controle positivo metronidazol nas concentrações de 0,0115 a 5,9 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e as cepas de referência *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) (Faixa de CIM = 0,25 – 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *Bacteroides thetaiotaomicron* (ATCC 29741) (Faixa de CIM = 0,5 – 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Também foram realizados o controle de esterilidade dos caldos TSB e Schaedler, do inóculo, dos controles, das amostras e do solvente DMSO (5 a 1%).

4.5.3. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

Os procedimentos foram realizados em capela de fluxo laminar e os materiais utilizados foram esterilizados. Em placas estéreis de 96 poços, foram adicionados o inóculo, o caldo triptoma de soja para bactérias aeróbias e caldo Schaedler para bactérias anaeróbias e as soluções das amostras. O volume final em cada poço foi de 100 μL e 200 μL para os microrganismos aeróbios e anaeróbios, respectivamente. A concentração das amostras nos poços variou de 400 a 0,195 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

As placas com as bactérias aeróbias foram seladas com parafilme e incubadas a 36 °C por 24h em microaerofilia. As placas com bactérias anaeróbias foram incubadas por 48 a 72h em câmara de anaerobiose a 36 °C. Após o período de incubação, foram

adicionados em cada poço 30 μL de solução aquosa de resazurina a 0,01% m v⁻¹ para determinação da CIM.

4.6. Atividade antidiabética

As análises de inibição da enzima α -amilase e α -glicosidase foram realizadas apenas com os extratos, no LaBiBi-UFU, com auxílio dos alunos: Me. Vinícius Prado Bittar, M.a. Ana Luiza Silva Borges e o pós-doutorando Dr. Allisson Benatti Justino e supervisão do prof. Dr. Foued Salmen Espindola.

4.6.1. Inibição da enzima α -amilase

Os extratos foram avaliados em relação a capacidade de inibir a atividade da α -amilase pelo método cinético modificado, utilizando o substrato α -(2-cloro-4-nitrofenil)- β -1,4-galactopiranosilmaltosídeo (Gal-G2- α -CNP) e uma fração de saliva enriquecida da enzima α -amilase (f-As) (Santos *et al.*, 2012; Gouveia *et al.*, 2013).

A enzima f-As foi preparada a partir de saliva humana coletada pelo método de cuspe, e armazenada a -20 °C por 48 h (parecer do comitê de ética n.º 407.597). Em seguida a saliva foi descongelada e centrifugada a 12000 xg por 1 min a 20 °C. O sobrenadante foi fracionado por coluna de troca iônica em uma coluna de Q-Sepharose utilizando como fase móvel um tampão contendo 50 mmol L⁻¹ de Tris-HCl (pH 8,0), 10 mmol L⁻¹ de EDTA e 10 mmol L⁻¹ de EGTA. O volume de exclusão da coluna de Q-Sepharose foi dialisado em tampão de bicarbonato de amônio (50 mmol L⁻¹, pH 7,0), liofilizado e solubilizado em 50 mmol L⁻¹ de tampão ácido 2-(N-morfolino)-etanossulfônico (MES) contendo 5 mmol L⁻¹ de cloreto de cálcio 140 mmol L⁻¹ de tiocianato de potássio e 300 mmol L⁻¹ de cloreto de sódio (pH 6,0).

As amostras dos extratos, em concentração de 10 mg mL⁻¹, foram solubilizadas em etanol. Foi retirada uma alíquota de 5 μL de solução para incubação juntamente com 45 μL da f-As em período de 30 min a 37 °C. A reação foi iniciada pela adição de 8 μL das amostras com a saliva, acrescido de 300 μL do substrato GAL-G2- α CNP em concentração de 12 mmol L⁻¹.

Os valores de absorbâncias foram medidos utilizando o espectrofotômetro em comprimento de onda de 407 nm, durante 3 min, com intervalo de 1 min a 37 °C. O controle foi realizado substituindo os extratos e frações por tampão MES. Para controle positivo foi utilizada a acarbose.

Todos os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado foi apresentado como porcentagem de inibição da α -amilase, calculado através da Equação 1. As Equações 2 e 3 determinam a atividade enzimática em U mL⁻¹ e %, respectivamente, e foram utilizadas no cálculo da inibição (Equação 1).

$$\text{Inibição da } \alpha \text{ - amilase (\%)} = 100 - (\text{Atividade da } \alpha \text{ - amilase em \%}) \quad (\text{Equação1})$$

$$\text{Atividade da } \alpha \text{ - amilase } \frac{U}{ml} = \frac{\frac{\Delta Abs}{min} \cdot V_f \cdot F_d}{\xi \cdot V_s \cdot I} \quad (\text{Equação2})$$

$$\text{Atividade da } \alpha \text{ - amilase (\%)} = \frac{A_{amostra}}{A_{controle}} \times 100 \quad (\text{Equação3})$$

Onde:

- $\frac{\Delta Abs}{min} = \frac{Abs3 - Abs1}{2}$ ou seja, a variação de absorvância por minuto é dada pela diferença da absorvância medida em 3 minutos pela absorvância em 1 minuto;
- V_f é o volume total da reação (308 μ L);
- V_s é o volume de amostra (extratos e enzima α -amilase, 8 μ L);
- F_d é o fator de diluição da saliva (50);
- ξ é o coeficiente de absorvância do Gal-G2- α -CNP;
- I é o comprimento do percurso da luz (0,97);
- $A_{amostra}$ é a atividade da α -amilase na presença dos extratos;
- $A_{controle}$ é a atividade da α -amilase;

O valor de IC₅₀, que é a concentração de amostra necessária para inibir 50% atividade enzimática, foi calculado apenas para as amostras que apresentaram inibição maior que 70%, utilizando o extrato, na concentração de 10 mg mL⁻¹. A determinação de IC₅₀ foi realizada por análise de regressão não-linear através do software GraphPad PRISM versão 6 a partir dos resultados de percentual de inibição obtidos.

4.6.2. Inibição da enzima α -glicosidase

A capacidade de inibição α -glicosidase dos extratos foi analisada utilizando o método modificado com o substrato 4-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo (p-NPG) e uma fração enriquecida da enzima α -glicosidase (f-AG) (Sigma Aldrich I-1630) (Toma *et al.*, 2014).

Para o preparo da f-AG, 0,1g de pó cetônico de intestino de rato foi homogeneizado em 3 mL de tampão fosfato de potássio (0,1 M; pH 6,8). O

homogeneizado foi centrifugado a 12000 xg por 30 min e o sobrenadante (f-AG) foi utilizado no ensaio. As amostras dos extratos na concentração de 10 mg mL⁻¹ foram solubilizadas em etanol e 15 µL foram incubadas com 30 µL de glutathione reduzida (GSH) (1,5 mM) e 75 µL de f-AG durante 20 min a 37 °C. A reação foi iniciada pela adição de 50 µL da mistura com 220 µL do substrato p-NPG (4 mmol L⁻¹) em tampão fosfato de potássio (0,1 M; pH 6,8) e os valores de absorbâncias foram medidos a 405 nm, durante 30 min, com intervalo de 5 min, a 37 °C.

O controle foi realizado substituindo os extratos por tampão fosfato de potássio. A acarbose foi utilizada como controle positivo. Todos os ensaios foram realizados em duplicata, o resultado é dado em porcentagem de inibição da α-glicosidase, calculado através da Equação 4.

$$\text{Inibição da } \alpha \text{ - glicosidase} = \left(\frac{ASC_{\text{controle}} - ASC_{\text{amostra}}}{ASC_{\text{controle}}} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

- ASC_{controle} é área sob a curva na ausência dos extratos;
- ASC_{amostra} é área sob a curva na presença dos extratos.

4.6.3. Inibição dos produtos de glicação avançada

A capacidade de inibição dos produtos de glicação avançada das amostras foi feita avaliando a capacidade dos extratos e frações em inibir a glicação da frutose com a albumina sérica bovina (BSA). O procedimento, adaptado segundo a metodologia de Sri Harsha e Scarafoni (2014) e Justino *et al.*, (2018), foi realizado através da precipitação da proteína.

A proteína, albumina sérica bovina (BSA), na concentração de 100 mg mL⁻¹, foi diluída em tampão fosfato de sódio, concentração 200 mmol L⁻¹, pH 7,4, contendo 0,02% de azida de sódio como conservante. Como agente glicante foi utilizada a frutose, onde 1250 mM de frutose foram solubilizados em tampão fosfato de sódio. Como controle positivo foi utilizada a aminoguanidina, concentração de 100 mM, e a quercetina, na concentração de 1 mg mL⁻¹.

Os tubos foram preparados adicionando 200 µL da BSA, 400 µL de frutose, 200 µL dos extratos, frações ou controles positivos e por fim, 1200 µL do tampão fosfato. Para a amostra branco foi preparado em tubo contendo apenas tampão e o controle foi preparado

adicionando 200 μL de BSA e 400 μL do agente glicante e 1400 μL do tampão fosfato. Em seguida a mistura foi incubada a 37 $^{\circ}\text{C}$, as leituras foram realizadas após 3 e 7 dias de incubação. Para cada leitura, foram retiradas uma alíquota de 500 μL de cada amostra separada em outro tubo e adicionado 500 μL de ácido tricloroacético 20% (m v^{-1}). Em seguida foram centrifugados a 10000 xg por 10 min, o sobrenadante foi descartado e o pellet foi ressuspendido em 600 μL de tampão fosfato. Posteriormente foram pipetados 200 μL de cada amostra em duplicata nas placas de 96 poços para realizar a leitura.

A fluorescência específica da BSA quando se liga a frutose foi mensurada em 350_{ex}/420_{em} nm. A porcentagem de inibição dos AGEs foi calculada através da Equação 5.

$$\text{Inibição}_{AGEs}(\%) = 100 - \left[\frac{\text{IF controle} - \text{IF amostras}}{\text{IF controle}} \right] \times 100 \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

- IF controle é a intensidade de fluorescência na ausência de extratos, frações e padrões.
- IF amostras a intensidade de fluorescência na presença dos extratos e frações ou controle positivo.

Utilizando o mesmo experimento, foram realizadas outras leituras referentes ao processo de glicoxidação da proteína conforme descrito por Pawlukianiec *et al.* (2020). Dessa forma, os biomarcadores de produtos de glicoxidação: N-formil-quinurenina e quinurenina foram detectados medindo a intensidade da fluorescência das amostras em 325_{ex}/434_{em}, 365_{ex}/480_{em}, respectivamente. O percentual de inibição da glicoxidação foi calculado pela Equação 5.

4.7. Determinação da atividade antioxidante

As análises antioxidantes foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular na Universidade Federal de Uberlândia (LaBiBi-UFU), auxiliadas pelos alunos: Me. Vinícius Prado Bittar, M.a. Ana Luiza Silva Borges e o pós-doutorando Dr. Allisson Benatti Justino, com a colaboração do professor Dr. Foued Salmen Espindola.

A determinação da atividade antioxidante dos extratos e frações foi avaliada por três métodos diferentes, sendo eles o método do sequestro do DPPH, o segundo método

foi da capacidade de redução do ferro (FRAP) e o terceiro é o método do sequestro do radical de oxigênio ORAC

4.7.1. Método do sequestro do DPPH

O método de sequestro do DPPH consiste na eliminação de radicais livres 2,2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH), e se deu de acordo com a procedimento de Justino *et al.* (2020). Onde os extratos hexânico e etanólico, em concentração de 10 mg mL⁻¹, e as frações, em concentração de 1 mg mL⁻¹, foram solubilizados em etanol. Da amostra preparada foi retirado uma alíquota de 75 µL dos extratos e frações e incubados em microplacas de 96 poços, adicionados 225 µL de solução metanólica do DPPH de concentração 0,06 mmol L⁻¹ a 30° C, no abrigo de luz, por período de 30 min.

A redução da absorbância da mistura é medida utilizando o espectrofotômetro em comprimento de onda de 517 nm. O controle foi realizado substituindo os extratos e frações por etanol e a amostra branca foi realizado substituindo a solução do DPPH por metanol. Como controle positivo foram utilizados quercetina e ácido ascórbico. O cálculo da porcentagem de atividade antioxidante que corresponde a porcentagem dos radicais DPPH eliminados, foi realizado de acordo com a Equação 6, onde *Abs* refere-se a absorbância.

$$\text{Atividade antioxidante} = \left(\frac{Abs_{controle} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})}{Abs_{controle}} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 6})$$

O ensaio foi realizado em duplicata, para as amostras que apresentaram percentual de inibição maior que 70% foram realizadas as diluições com diferentes concentrações dos extratos e frações para calcular a concentração inibitória necessária para sequestrar 50% do DPPH, do inglês “Inhibitory Concentration” (IC50). O cálculo foi realizado por análise de regressão não-linear através do software GraphPad PRISM versão 6 a partir dos resultados de percentual de inibição obtidos.

4.7.2. Método da capacidade de redução do ferro FRAP

Já o método da capacidade de redução do ferro, do inglês “Ferric Reducing Antioxidant Power” (FRAP), avalia o potencial antioxidante dos extratos e partições por meio da capacidade antioxidante de redução férrica.

As amostras foram solubilizadas em etanol, sendo o extrato hexânico na concentração de 10 mg mL⁻¹, o extrato etanólico, as frações e os controles na

concentração de 1 mg mL^{-1} . Foi retirada então uma alíquota de $10 \text{ }\mu\text{L}$ que foram aplicados nos poços juntamente com $250 \text{ }\mu\text{L}$ do reagente FRAP, que contém tampão acetato de sódio ($0,3 \text{ mol L}^{-1}$; pH 3,6), solução ácida de TPTZ, na concentração de 10 mmol L^{-1} , solução aquosa de cloreto férrico, na concentração de 20 mmol L^{-1} , na proporção de 10:1:1, respectivamente. A essa mistura foi adicionado $25 \text{ }\mu\text{L}$ de tampão acetato de sódio ($0,3 \text{ mol L}^{-1}$), e a placa foi incubada durante 6 min a $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Os valores de absorbâncias foram medidos em espectrofotômetro a 593 nm e a capacidade antioxidante foi determinada por meio de uma curva analítica construída com ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox) em diferentes concentrações $20 - 1000 \text{ }\mu\text{M}$.

As análises foram feitas em duplicata, o ácido ascórbico e a quercetina foram usados como controles e os resultados foram expressos como μmol equivalente de Trolox por grama de amostra ($\mu\text{mol E}_{\text{trolox}}/\text{g}_{\text{amostra}}$).

4.7.3. Método do sequestro do radical de oxigênio ORAC

Por fim, o método da capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC), do inglês Oxygen radical absorbance capacity, se baseia na inibição da oxidação induzida pelo radical peroxil, iniciada pela decomposição térmica do composto 2,2'-azobis-(2-amidinopropano) di-hidroclorato (AAPH). O ensaio foi realizado segundo a metodologia de Prior *et al.* (2003), modificado conforme descrito por Justino (2020). A fluoresceína é usada como sonda fluorescente, e a perda da fluorescência foi avaliada ao longo do tempo, na ausência e presença de compostos antioxidantes.

Os extratos, na concentração de $100 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$, e frações, na concentração de $30 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$, foram solubilizados em etanol. Todos os reagentes utilizados no ensaio foram preparados em tampão fosfato (75 mmol L^{-1} , pH 7,0). Inicialmente, $25 \text{ }\mu\text{L}$ dos extratos e partições foram adicionados a $150 \text{ }\mu\text{L}$ de fluoresceína ($8,5 \times 10^{-5} \text{ mmol L}^{-1}$) e incubados a temperatura ambiente por 15 min. Em seguida foram adicionados $30 \text{ }\mu\text{L}$ da solução de AAPH (153 mmol L^{-1}) para iniciar a reação. A intensidade da fluorescência foi medida a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ em um espectrofluorímetro, com excitação (ex) a 485 nm e emissão (em) a 528 nm e foi verificada a cada 1:30 s durante 90 min.

A perda da fluorescência foi medida calculando a área sobre a curva de decaimento da fluorescência da amostra pelo tempo, comparada com uma amostra sem antioxidante. A capacidade antioxidante foi determinada a partir da curva analítica construída com diferentes concentrações do de Trolox em diferentes concentrações $7,81 - 250 \text{ }\mu\text{M}$. O branco foi realizado substituindo os extratos e partições por tampão fosfato.

A quercetina e o ácido ascórbico foram utilizados como controles positivos. Todas as análises foram realizadas em duplicata e os resultados foram expressos em μmol equivalente de Trolox por grama de amostra ($\mu\text{mol E}_{\text{trolox}}/\text{g}_{\text{amostra}}$).

4.8. Análise estatística

Os ensaios antioxidante e enzimáticos foram realizados em duplicata e os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. A diferença entre os dados obtidos, foi avaliada pelo método da Análise de Variância (ANOVA) e pós-teste de comparação múltipla de Bonferroni. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o GraphPad Prism versão 6.0. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

4.9. Análise por Espectrometria de Massas

Os resultados promissores das análises biológicas do EE e das frações FD, FAE e FB neste estudo, juntamente com a ausência de trabalhos na literatura que identifiquem os compostos químicos presentes nos extratos desta espécie, motivaram a realização de uma análise de espectrometria de massas (EM) no extrato e nas frações. O objetivo foi explorar e anotar a composição química das folhas.

As análises de cromatografia líquida de alta eficiência hifenado ao espectrômetro de massas (CLAE-ESI-EM/EM), foram realizadas no Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia (IBTEC-UFU). As amostras foram solubilizadas em metanol HPLC (5 mg mL^{-1}) e filtradas em filtros de seringa com membrana de politetrafluoretileno (PTFE) $0,45 \mu\text{m}$ e injetadas no cromatógrafo líquido (marca Agilent modelo Infinity 1260) acoplado a um espectrômetro de massas de alta resolução tipo Q-TOF da marca Agilent modelo 6520 B, com fonte de ionização por electrospray (IES), utilizando coluna Agilent modelo Zorbax C18 ($100,0 \times 3,0 \text{ mm}$, $2,7 \mu\text{m}$). Os parâmetros cromatográficos para análise dos extratos e frações foram: fase móvel (A) composta por água acidificada com ácido fórmico ($0,1 \% \text{ v v}^{-1}$) e fase móvel (B) metanol com o gradiente iniciando em 10% de B (0 min), 98% de B (0 – 15 min); 100% de B (15 – 17 min), volume de injeção foi $0,4 \text{ mL min}^{-1}$. Os parâmetros de ionização foram: pressão do nebulizador de 58 psi, gás secante a 8 L min^{-1} a uma temperatura de $220 \text{ }^\circ\text{C}$ e no capilar foi aplicado uma energia de 4,5 kVA.

Foram então obtidos espectros em alta resolução no modo negativo e os espectros de massas sequencial (EM/EM) em diferentes energias de colisão. Com os valores de m/z (razão massa carga) obtidas nos espectros e seus respectivos espectros de fragmentação,

foi possível propor a estrutura para alguns compostos presentes no extrato e nas frações. As possíveis estruturas foram propostas comparando os valores de m/z obtidos em alta resolução e os espectros de fragmentação com trabalhos encontrados na literatura, em bibliotecas online como o Metlin e bancos de dados (Chemspider, Pubchem e Massbank). Além disso, também foi levado em consideração a equivalência de insaturações, regra do nitrogênio e o erro em ppm do m/z em alta resolução (Equação 7), com valores de erro aceitos entre 0 a ± 5 ppm. Para o cálculo do erro, a massa teórica considerada foi baseada nos valores obtidos pelo software ChemDraw[®].

$$E_{ppm} = \left(\frac{\text{massa experimental} - \text{massa exata}}{\text{massa exata}} \right) \times 10^6 \quad (\text{Equação 7})$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Obtenção dos extratos e frações por extração líquido-líquido

A preparação dos extratos é de suma importância para a realização do estudo da química de produtos naturais, devido à variabilidade de compostos químicos presentes na planta. Para isso, no presente trabalho, foi utilizada a técnica de maceração. Inicialmente, o solvente hexano foi utilizado para a extração de substâncias com caráter apolar, como clorofilas, resultando no extrato hexânico (EH). Em seguida, o etanol foi utilizado devido à sua capacidade de extração de diferentes metabólitos, resultando no extrato etanólico (EE) (Medeiros, Kanis, 2010). A Tabela 7 mostra a porcentagem (%) de extração dos extratos preparados.

Tabela 7 – Porcentagem de extração dos extratos das folhas da *Miconia ibaguensis*

Massa das folhas secas (g)	Extrato	Massa do extrato obtido (g)	(%) de extração
144,36	Hexânico	1,42	0,98
	Etanólico	6,83	4,73

Fonte: a autora.

Estudos têm demonstrado que a eficiência da extração de metabólitos de plantas é influenciada pela polaridade dos solventes empregados. Solventes de menor polaridade, como o diclorometano, tendem a extrair compostos lipofílicos, como alcaloides e terpenos, enquanto solventes de maior polaridade, como o etanol e o acetato de etila, têm

maior afinidade com compostos mais hidrofílicos, como flavonoides e compostos fenólicos (Justino *et al.* 2021).

Diante disso, após a preparação dos extratos, foi realizado o fracionamento do EE por meio da extração líquido-líquido. Nesta etapa, foram utilizados solventes de diferentes polaridades, visto que a eficiência na extração de ME de plantas depende principalmente da solubilidade destes nos solventes empregados (Gnoatto *et al.*, 2007; Simões *et al.*, 2003, Nawaz *et al.*, 2020). A porcentagem de extração das frações obtidas a partir de 5,0 g do EE que passaram por filtragem estão na Tabela 8.

Tabela 8 - Porcentagem de extração das frações obtidas por extração líquido-líquido

Fração	Massa obtida na Fração (g)	(%) de extração
Diclorometano (FD)	1,33	26,6
Acetato de etila (FAE)	0,56	11,2
<i>n</i> -Butanol (FB)	1,38	27,7
Água (FA)	0,14	2,8
Total	3,41	68,2
Material particulado no filtro	1,59	31,8

Fonte: a autora.

A fração FB foi a que apresentou maior rendimento, sugerindo que a planta pode conter uma grande quantidade de metabólitos de caráter polar. Esses compostos podem incluir flavonoides, glicosídeos e outros compostos fenólicos.

No entanto, podemos perceber que a FD também apresentou um rendimento significativo, sugerindo a presença de compostos de menor polaridade que foram extraídos com este primeiro solvente. Esses compostos podem incluir triterpenos, esteroides e outros metabólitos que possuem características lipofílicas e hidrofílicas.

5.2. Prospecção fitoquímica

A análise fitoquímica permite a identificação das possíveis classes de metabólitos nos extratos e frações, facilitando as análises posteriores, especialmente aquelas relacionadas à separação cromatográfica de metabólitos. Os resultados detalhados dessa análise estão disponibilizados na Tabela 9.

Tabela 9 - Prospecção fitoquímica dos extratos e frações de *Miconia ibaguensis*

Amostra	Flavonoides		Alcaloides		Antraquinonas, antronas, cumarinas	Terpenos, esteroides, saponinas, açúcares, fenóis, taninos, flavonoides		
	NP/ PEG	AlCl ₃	Iodocloro- platinado	Dragen- dorff	KOH	Liebermann Buchard	Sulfato Cérico	Vanilina Sulfúrica
EH	+	+	-	-	-	+	+	+
EE	+	+	-	-	-	+	+	+
FD	-	-	-	-	-	+	+	+
FAE	+	+	-	-	-	+	+	-
FB	+	+	-	-	-	+	-	+
FA	+	+	-	-	-	+	+	-

Nota: (-) não identificado, (+) identificado. EH: extrato hexânico; EE: extrato etanólico; FD: fração diclorometano; FAE: fração acetato de etila; FB: fração butanol; FA: fração aquosa.

Fonte: a autora.

Conforme mostrado na Tabela 9, nenhum extrato ou fração indicou a presença de alcaloides para os reveladores Iodocloroplatinado e Dragendorff.

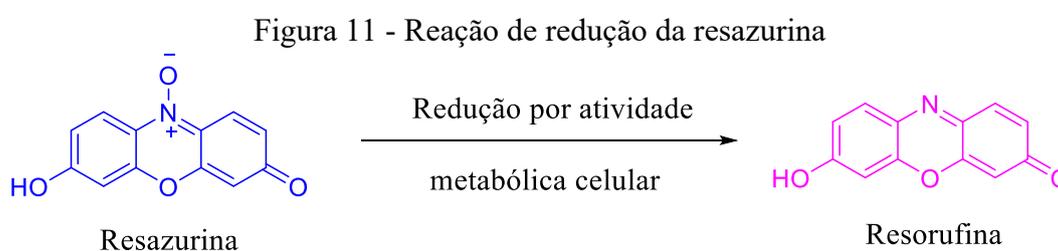
Por outro lado, os extratos e frações apresentaram forte intensidade quando revelados com NP/PEG e cloreto de alumínio, podendo indicar a presença de flavonoides nas amostras. As manchas observadas tiveram variadas coloração, incluído tons de azul e laranja, sugerindo a presença de mais de uma classe de flavonoides. Apenas a FD não apresentou resultados para este indicador, o que pode ser justificada pela característica de menor polaridade do solvente, que não condiz com a presença de flavonoides. Os demais extratos e frações foram revelados ao serem expostas na câmara de UV em 365 nm.

Também foi verificado o positivo na avaliação com reveladores universais Liebermann-Buchard, sulfato cérico e vanilina sulfúrica, podendo haver algum metabólito da classe dos terpenos, esteroides, saponinas, açúcares, fenóis, taninos ou flavonoides nas amostras. A vanilina sulfúrica levou a formação de manchas azuladas para os extratos EH, EE e para as frações FD e FB ocorreram manchas rosas e azuladas. Já para o revelador Liebermann-Burchard foram verificadas manchas marrons na CCD para todos os extratos de frações, e com sulfato cérico foram percebidas manchas amareladas.

5.3. Atividade antifúngica

Os resultados das análises dos extratos e frações foram expressos pelo valor de Concentração Inibitória Mínima (CIM), que corresponde a menor concentração de amostra necessária para inibir o crescimento microbiano.

No método que expressa o valor de CIM é utilizada a resazurina como agente revelador para facilitar a leitura da viabilidade dos microrganismos (Castilho *et al.*, 2015). A resazurina é um corante redox que apresenta mudança de coloração na presença de atividade metabólica celular. Como pode ser observado na Figura 11, a resazurina, na forma oxidada, não é fluorescente e apresenta coloração azul, quando é reduzida para resorufina, a forma fluorescente, apresenta coloração rosa (Fai; Grant, 2009, Vega *et al.*, 2012, Elshikh *et al.*, 2016).



Fonte: adaptado de Van Rensburg *et al.*, 2021.

Foram realizados testes dos extratos e frações contra espécies de *Candida* spp., que representam a segunda maior causa de infecções fúngicas globalmente (Gaffi, 2023, Brown *et al.*, 2012). Os resultados de CIM para os extratos, frações e a anfotericina B (utilizada como controle positivo) estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Valores de CIM dos extratos e frações de *M. ibaguensis* para *Candida* spp.

Amostras	CIM $\mu\text{g mL}^{-1}$		
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida glabrata</i>
	ATCC 28366	ATCC 13803	ATCC 15126
EH	>3000	>3000	>3000
EE	5,86	23,44	1,46
FD	7,81	15,62	1,95
FAE	1,95	3,90	1,95
FB	7,81	15,62	0,97
FA	7,81	31,25	0,97

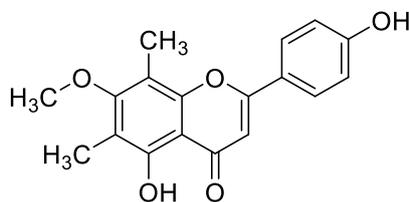
Nota: controle para leveduras Anfotericina B: *Candida krusei* ATCC 6258 – CIM: 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$; *Candida parapsilosis* ATCC 22019 – CIM: 0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Fonte: a autora.

É possível observar que a FAE apresentou os melhores resultados de CIM, sendo a espécie *C. glabrata* a menos resistente. Segundo Kuete (2010), a atividade dos extratos de vegetais pode ser considerada significativa quando o valor da CIM é inferior a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$; moderada quando a CIM está entre 100 e $625 \mu\text{g mL}^{-1}$; e fraca quando CIM é superior a $625 \mu\text{g mL}^{-1}$. Sendo assim, pode-se considerar que o EE e as frações apresentaram resultados significativos contra as três espécies analisadas, enquanto o EH apresentou atividade fraca para todas as espécies testadas.

Algumas espécies de *Miconia* já foram avaliadas contra diferentes tipos de *Candida*. Como exemplo, podemos citar a *M. albicans* cujo extrato etanólico apresentou atividade antifúngica contra *C. albicans*. A atividade antimicrobiana do extrato foi determinada pelo método de difusão em poços em placas com dupla camada de ágar (Celotto *et al.*, 2003).

Já no estudo de Tracana *et al.* (2010), foi avaliada a atividade antimicrobiana do extrato de acetato de etila das folhas de *M. ioneura*, assim como da flavona denominada sideroxilin (4H-1-benzopirano-4-ona-5-hidroxi-2-(4-hidroxifenil)-7-metoxi-6,8-dimetil) isolada desse extrato (Figura 12). Ambos foram testados em relação à atividade antifúngica contra diversas cepas de *Candida*, e a atividade mais potente do extrato e da flavona foi observada contra *C. krusei*, com uma CIM de $0,031 \mu\text{g mL}^{-1}$, seguida por *C. guilliermondii*, com CIM de $0,201 \mu\text{g mL}^{-1}$, e *C. albicans*, com CIM de $0,245 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os autores destacam que a flavona é a principal responsável pela atividade biológica apresentada pelo extrato de acetato de etila, pois a atividade antifúngica observada pelos dois é muito semelhante.

Figura 12 - Flavona isolada do extrato de acetato de etila da *M. ioneura*



Sideroxilin

Fonte: a autora.

A espécie *M. ibaguensis* foi avaliada pela primeira vez e apresentou um potencial antifúngico relevante. Sendo essa uma espécie promissora de compostos anti-*Candida*.

5.4. Atividade antibacteriana

Assim como já mencionado para os fungos, a necessidade de obter novas formas de tratar infecções por bactérias é de suma importância no panorama de saúde global. Os extratos e frações foram testadas para as espécies de bactérias descritas na Tabela 11.

Tabela 11 - Valores de CIM dos extratos e frações de *M. ibaguensis* para bactérias

Bactérias aeróbias (CIM $\mu\text{g mL}^{-1}$)	Amostras						
	EH	EE	FD	FAE	FB	FA	Clorexidina
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	400	200	>400	>400	>400	>400	0,230
<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456	>400	>400	>400	>400	>400	>400	0,230
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC 43717	>400	>400	>400	>400	>400	>400	0,922
<i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556	200	100	25	25	25	50	0,461
Bactérias anaeróbias							
(CIM $\mu\text{g mL}^{-1}$)							
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	100	100	200	400	>400	>400	-
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	400	400	200	25	50	200	-
<i>Actinomyces naeslundii</i> ATCC 19039	400	400	400	>400	>400	>400	-

Nota: controle para bactérias anaeróbias Metronidazol: *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 – CIM: 1,475 $\mu\text{g mL}^{-1}$; *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC 29741 – CIM: 1,475 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

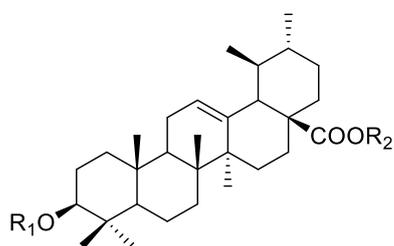
Fonte: a autora.

Novamente, levando em consideração a faixa de valores considerada como atividade significativa, moderada ou fraca, de acordo com a metodologia de Kuete (2010), podemos observar que as espécies menos resistentes às frações das folhas de *M. ibaguensis* são *S. sanguinis* e *F. nucleatum*. Foi observado que o EH e o EE não apresentaram resultados significativos quanto à atividade antibacteriana. No entanto, após a extração líquido-líquido realizada para obtenção das frações, os compostos com

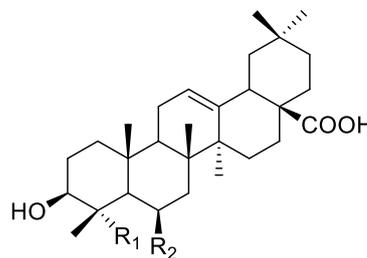
possível potencial antibacteriano foram concentrados, sendo as frações FAE e FB, as que apresentaram resultados mais significantes.

Em estudos conduzidos a fim de avaliar o potencial antibacteriano de algumas espécies do gênero *Miconia*. Foi observado que ácidos triterpênicos isolados das espécies *M. fallax*, *M. albicans*, *M. stenostachya* e *M. sellowiana*, juntamente com uma mistura desses triterpenos, foram avaliados contra bactérias do gênero *Streptococcus* que são potencialmente responsáveis pela formação de cárie dentária em humanos. Todos os ácidos triterpenos analisados, incluindo o ácido ursólico, oleanólico, gipsogênico e sumaresinólico, apresentaram atividade contra todas as bactérias testadas, sendo que os ácidos ursólico e oleanólico apresentaram o efeito antibacteriano mais intenso, com valores de CIM variando de 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$, revelando-se agentes antiplaca e anticárie promissores (Cunha *et al.*, 2007). A Figura 13 apresenta as estruturas químicas dos ácidos triterpênicos e derivados semissintéticos A, B e C avaliados quanto à atividade antibacteriana.

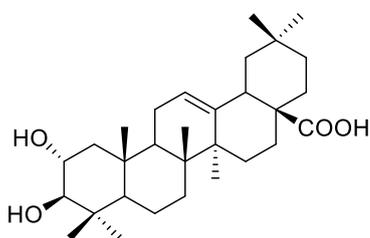
Figura 13 - Estruturas químicas dos ácidos triterpênicos e derivados semissintéticos avaliadas quanto à atividade antibacteriana



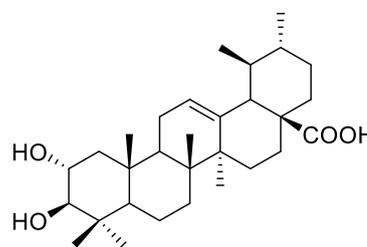
$R_1=H$; $R_2=H$ (**Ácido ursólico**)
 $R_1=COCH_3$; $R_2=H$ (**Derivado A**)
 $R_1=H$; $R_2=CH_3$ (**Derivado B**)
 $R_1=H$; $R_2=K$ (**Derivado C**)



$R_1=H$; $R_2=H$ (**Ácido oleanólico**)
 $R_1=CH_3$; $R_2=OH$ (**Ácido sumaresinólico**)
 $R_1=COOH$; $R_2=H$ (**Ácido gipsogênico**)



Ácido maslínico

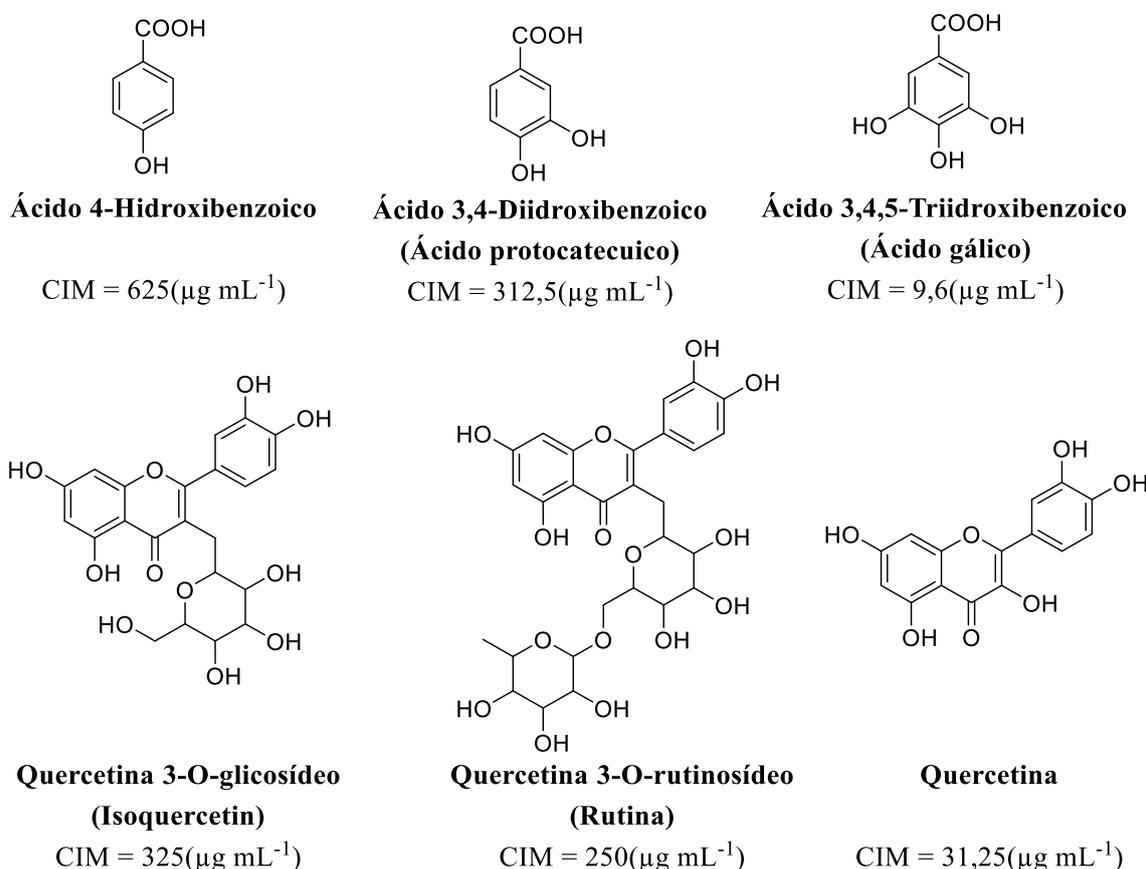


Ácido 2 α -hidroxiursólico

Fonte: adaptado de Cunha *et al.* (2007).

Assim como no trabalho de Shahzad *et al.* (2015), diversos compostos fenólicos foram avaliados contra a bactéria *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, causadora de periodontite, apresentando valores de CIM entre 2,4 e $> 2500 \mu\text{g mL}^{-1}$. Em relação a estrutura-atividade, foi constatado o aumento da atividade antimicrobiana com o aumento do número de grupos OH ligado ao anel aromático, e a posição desse grupo também refletiu nos valores de CIM (Figura 14). Outro fator de relevância é a ausência de açúcares ligados a moléculas, onde foi verificado que a quercetina, sem grupo glicosídeo, apresentou CIM inferior ($31,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) a molécula de isoquercetina ($325 \mu\text{g mL}^{-1}$) que possui o açúcar em sua estrutura.

Figura 14 - Estruturas de compostos fenólicos e valores de CIM



Fonte: adaptado de Shahzad *et al.* (2015).

Considerando os resultados obtidos nas avaliações da atividade antifúngica e antibacteriana dos extratos e frações de *Miconia ibaguensis*, evidencia-se um potencial promissor dessa planta como fonte de compostos antimicrobianos. Os testes realizados contra espécies de *Candida spp.* e bactérias indicaram que as frações FAE e FB

apresentaram resultados significativos, sugerindo a presença de compostos com potencial antibacteriano.

Esses resultados estão alinhados com estudos anteriores que investigaram outras espécies do gênero *Miconia* e destacaram suas propriedades antimicrobianas. Por exemplo, em estudos com *M. albicans*, *M. ioneura* e outros compostos fenólicos, observou-se atividade antifúngica contra diversas cepas de *Candida*, evidenciando o potencial antimicrobiano dessa planta.

Os resultados também estão em concordância com a necessidade global de buscar novas formas de tratamento para infecções fúngicas e bacterianas, especialmente diante do desafio crescente da resistência antimicrobiana. A resistência a medicamentos convencionais torna essencial explorar fontes naturais, como plantas medicinais, em busca de compostos alternativos e inovadores.

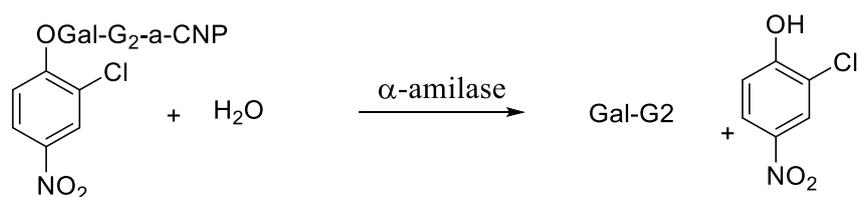
Portanto, os resultados sugerem que as espécies do gênero *Miconia*, bem como a espécie *M. ibaguensis*, podem conter compostos bioativos com potencial antimicrobiano, o que motiva a continuidade das investigações para identificação e caracterização desses compostos. Essa abordagem pode contribuir não apenas para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, mas também para a valorização da biodiversidade e conservação dessas espécies vegetais.

5.5. Atividade antidiabética

5.5.1. Inibição da enzima α -amilase e α -glicosidase

No ensaio de inibição da α -amilase foi utilizado como substrato o oligossacarídeo Gal-G2- α -CNP de coloração branca que é hidrolisado em 2-cloro-4-nitrofenol (CNP) de coloração amarela e galactopiranosilmaltosídeo (Gal-G2) (Figura 15). Assim, é possível verificar a inibição da enzima na ausência da liberação desse composto colorido através da medida da absorbância.

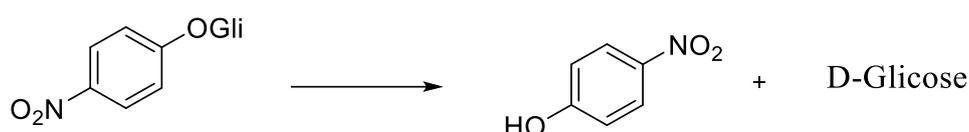
Figura 15 - Reação do substrato Gal-G2- α -CNP catalisada pela enzima α -amilase



Fonte: adaptado de Zhang *et al.* (2022).

Já para a enzima α -glicosidase foi utilizado o método modificado utilizando como substrato o 4-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo (p-NPG) e uma fração enriquecida de α -glicosidase. A enzima α -glicosidase ao entrar em contato com o substrato o hidrolisa em 4-nitrofenol e α -D-glicose (Figura 16). O 4-nitrofenol é um composto amarelado, assim a inibição da enzima pode ser monitorada pela ausência deste composto através da absorbância.

Figura 16 - Reação entre a enzima α -glicosidase e o substrato p-NPG



Fonte: adaptado de Eertmans *et al.* (2014).

A Tabela 12 apresenta dos resultados das análises de inibição da enzima α -amilase e α -glicosidase dos extratos de *M. ibaguensis*. As amostras que apresentaram percentual de inibição $> 80\%$ foram avaliadas para determinar os valores de IC_{50} .

Tabela 12 - Inibição da enzima α -amilase e α -glicosidase das amostras de *M. ibaguensis*

Amostras	α -amilase ¹		α -glicosidase ²
	% de inibição	IC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	% de inibição
EH	$0,00 \pm 0,00^a$	–	$0,00 \pm 0,00^b$
EE	$91,22 \pm 0,00^b$	$8,42 \pm 0,05^a$	$0,00 \pm 0,00^b$
Acarbose ³	$96,35 \pm 0,75^b$	$0,12 \pm 0,01^a$	$77,58 \pm 3,73^a$

Nota: Concentração das amostras: ¹EH e EE ($26 \mu\text{g mL}^{-1}$). ²EH e EE ($231,4 \mu\text{g mL}^{-1}$). ³Acarbose ($2,6 \mu\text{g mL}^{-1}$); – : não obtido. Letras diferentes na mesma coluna apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Fonte: a autora.

Em relação à atividade de α -amilase, o extrato hexânico não apresentou inibição da enzima, não sendo possível calcular o valor de IC_{50} , uma vez que não alcançou os 80% de inibição. Já o extrato etanólico apresentou elevado percentual de inibição, com baixa diferença estatística em relação ao controle utilizado acarbose, sendo um resultado promissor em relação à análise.

Já em relação a atividade de α -glicosidase, os extratos não apresentaram inibição da enzima. Na metodologia utilizada para o experimento de inibição da α -glicosidase utiliza-se uma fração enriquecida da enzima, mas existem outras enzimas na composição. Dessa forma, o próprio controle positivo apresenta um percentual de inibição mais baixo para a α -glicosidase.

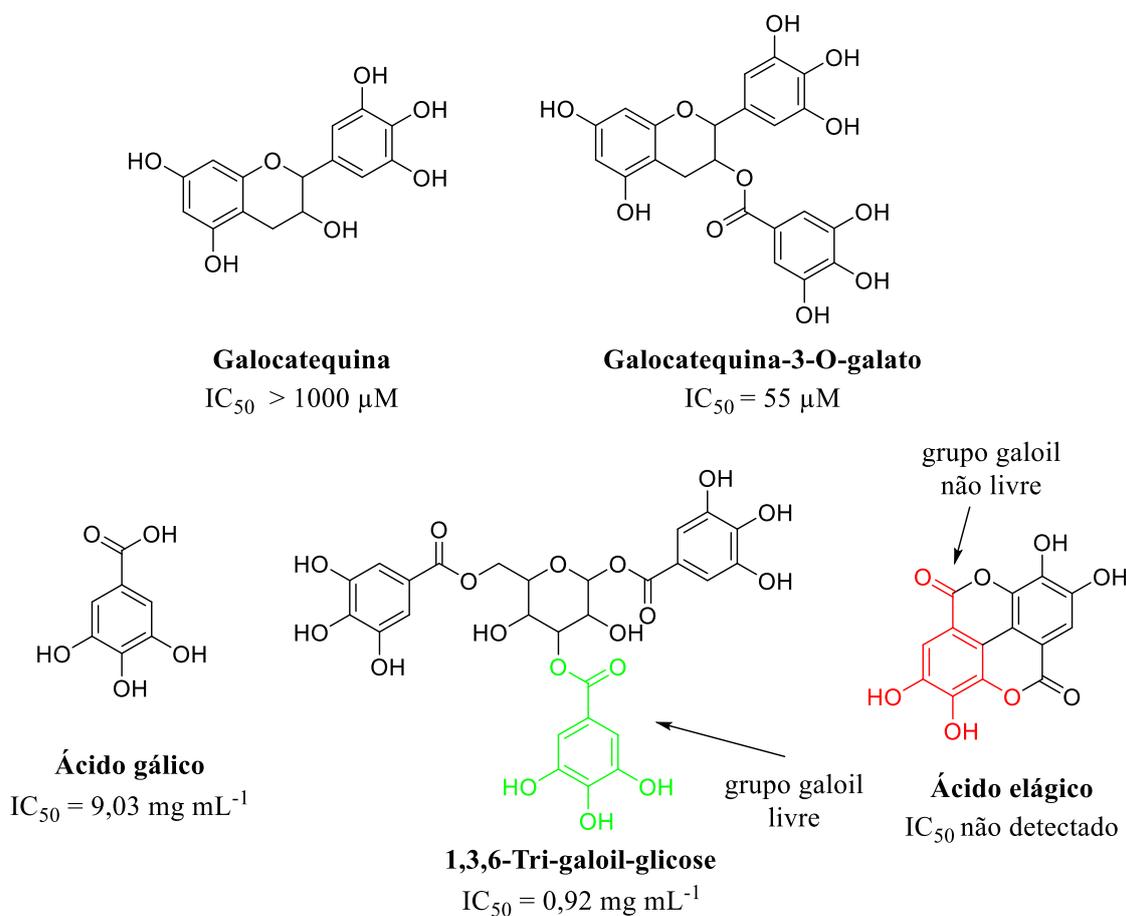
Na literatura existem poucos estudos sobre o potencial antidiabético de espécies de *Miconia*, sobretudo em relação a atividade de inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase.

No trabalho conduzido por Ortíz-Martínez *et al.* (2016), o extrato etanólico das partes aéreas de espécie de *Miconia* foi avaliado em relação a inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase, apresentando valores de $IC_{50} = 28,23 \pm 23,15$ e $1,95 \pm 0,15 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, esses resultados foram melhores que o controle positivo acarbose.

Já no trabalho conduzido por Gomes *et al.* (2021), o extrato aquoso das folhas de *M. chamissois* apresentou percentual de inibição da α -amilase de $87,11 \pm 0,32 \%$ e o valor de IC_{50} de $15,06 \pm 1,02 \mu\text{g mL}^{-1}$, próximo IC_{50} da acarbose de $9,20 \pm 1,29 \mu\text{g mL}^{-1}$. O perfil fitoquímico da espécie indicou a presença de compostos fenólicos como flavonoides incluindo rutina, isoquercitrina e derivados da vitexina.

A presença do grupo galoil tem sido atribuído a uma melhoria na inibição enzimática (Sun; Warren; Gidley, 2019). Nesse sentido, os compostos fenólicos que apresentam galoil ao invés de hidrogênio, nas posições C-3 demonstraram aumentar a inibição da α -amilase de catequinas, devido as ligações de hidrogênio adicionais entre os grupos hidroxila presentes no galoil com os resíduos catalíticos da α -amilase (Xiao *et al.*, 2013; Sun; Wang; Miao, 2020). O mesmo critério se aplica aos taninos hidrolisáveis, quando o grupo galoil está livre (ligado apenas ao éster), percebeu-se uma inibição mais forte da α -amilase. Isso se deve pois o galoil livre, pode entrar no sítio catalítico interagindo de forma não covalente com os resíduos catalíticos. Dessa forma, tanto a quantidade de grupos galoil quanto a flexibilidade molecular, são importantes para a inibição da α -amilase por compostos fenólicos com grupo galoil (Figura 17) (Xiao *et al.*, 2013; Sun; Wang; Miao, 2020).

Figura 17 - Critérios estruturais que potencializam a inibição da α -amilase por compostos fenólicos



Fonte: adaptado de Sun *et al.* (2020), Cao *et al.* (2020).

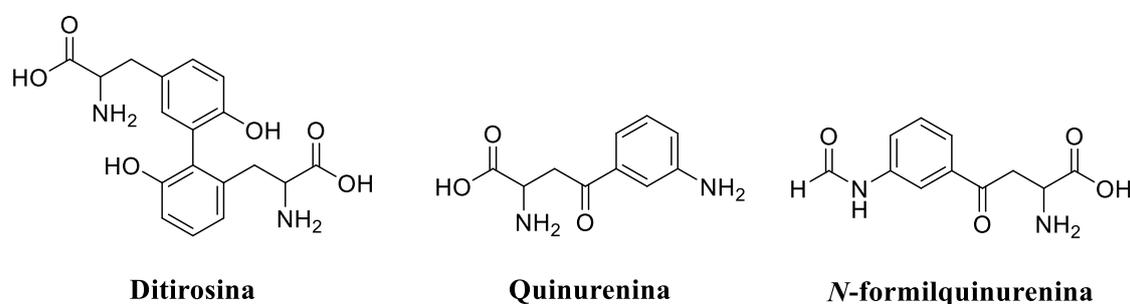
Dessa forma, pode-se inferir que a atividade de inibição da α -amilase pela *M. ibaguensis* pode estar relacionada a presença dos compostos fenólicos acrescidos de grupos galoil, visto que o extrato etanólico da espécie apresenta compostos bioativos inibidores das hidrolases. Além disso, este estudo é inédito em relação a atividade de inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase.

5.5.2. Inibição dos produtos de glicação avançada

Para os ensaios de inibição dos AGEs, foi utilizada a albumina sérica bovina (BSA) devido a sua considerável similaridade com a albumina do soro humano. A frutose foi utilizada como agente glicante, uma vez que é sintetizada no corpo humano em órgãos como as lentes oculares e em nervos periféricos. Além disso, é 8 a 10 vezes mais reativa que a glicose na formação dos AGEs (Gugliucci, 2017).

Utilizando o mesmo experimento de inibição da glicação frutose-BSA, foi possível determinar os níveis de inibição da glicoxidação. Alguns AGEs são formados por uma combinação de glicação e oxidação, sendo referidos coletivamente como glicoxidação (Pawlukianiec *et al.*, 2020). Os adutos de oxidação de proteínas constituem um subconjunto de AGEs e, em concentrações adequadas, podem atuar como biomarcadores viáveis do processo de glicoxidação, incluindo ditirosina, quinurenina e N-formilquinurenina apresentados na Figura 18. No ensaio de inibição da frutose-BSA, não foram determinados os percentuais de inibição da ditirosina devido a interferências nos valores de fluorescência em seu comprimento de onda.

Figura 18 - Estrutura dos biomarcadores formados através da glicoxidação de proteínas



Fonte: a autora.

Neste trabalho, foi avaliada a capacidade de inibição da glicação frutose-BSA, bem como a formação dos produtos de glicoxidação (quinurenina, N-formilquinurenina,) pelos extratos e frações da *M. ibaguensis*. Os valores foram expressos em percentual de inibição da glicoxidação em 3 e 7 dias, como controle positivo foi utilizada a aminoguanidina, representada como NH-G, e a quercetina como padrão de produto natural, conforme apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Percentual de inibição da glicosidação BSA-frutose das amostras de *M. ibaguensis*

Amostras	Percentual de inibição (%)		Percentual de inibição (%)		Percentual de inibição (%)	
	BSA-frutose		BSA-frutose/quinurenina		BSA-frutose/ <i>N</i> -formilquinurenina	
	D3	D7	D3	D7	D3	D7
EH	40,70 ± 2,63 ^a	47,68 ± 2,38 ^a	36,44 ± 0,40 ^{a,c,d}	60,29 ± 2,57 ^a	35,16 ± 1,18 ^a	50,90 ± 3,15 ^a
EE	77,96 ± 4,27 ^b	83,54 ± 0,03 ^b	76,91 ± 4,47 ^{b,e}	79,87 ± 0,98 ^b	75,12 ± 2,31 ^{b,c,d}	80,09 ± 1,22 ^{b,c}
FD	78,39 ± 0,27 ^{b,c}	85,85 ± 0,50 ^b	49,49 ± 2,01 ^{d,e}	77,95 ± 0,53 ^b	67,51 ± 0,68 ^b	83,55 ± 1,02 ^{c,e}
FAE	86,43 ± 1,32 ^{b,c}	86,66 ± 0,37 ^{c,d}	78,87 ± 7,37 ^b	93,00 ± 1,79 ^c	86,15 ± 0,04 ^{c,e}	86,36 ± 1,26 ^{c,e}
FB	84,84 ± 0,63 ^{c,d}	83,70 ± 1,58 ^c	88,70 ± 4,13 ^b	81,89 ± 0,92 ^{b,c}	82,22 ± 0,67 ^{c,d,e}	81,87 ± 0,04 ^b
FA	34,72 ± 5,56 ^a	42,11 ± 2,76 ^a	17,95 ± 7,13 ^c	37,96 ± 4,89 ^d	27,38 ± 4,93 ^a	40,91 ± 3,63 ^d
NH-G	85,05 ± 2,34 ^{c,d}	94,29 ± 3,33 ^{d,e}	52,92 ± 1,86 ^{d,e}	75,26 ± 0,79 ^b	76,65 ± 2,57 ^d	87,96 ± 0,43 ^{b,e}
Quercetina	89,76 ± 1,99 ^d	96,60 ± 2,97 ^e	58,88 ± 5,27 ^e	75,10 ± 6,41 ^b	86,85 ± 1,64 ^e	90,55 ± 2,75 ^e

Nota: NH-G: aminoguanidina (10 mM). Quercetina (100,00 µg mL⁻¹). Concentração das amostras 100,00 µg mL⁻¹. Letras diferentes na mesma coluna apresentaram diferença estatística significativa (p<0,05).

Fonte: a autora.

Observa-se que os controles positivos apresentaram valores de inibição muito próximos. Os maiores percentuais de inibição foram em 7 dias da glicação da frutose-BSA, seguido da glicoxidação frutose-BSA/N-formilquinurenina e frutose-BSA/quinurenina. As menores inibições da aminoguanidina ($52,92 \pm 1,86\%$) e a quercetina ($58,88 \pm 5,27\%$), foram no dia 3 frente a glicoxidação da frutose-BSA/quinurenina. As maiores inibições da aminoguanidina ($94,29 \pm 3,33\%$) e da quercetina ($96,60 \pm 2,97\%$), foram no dia 7 frente a glicação da frutose-BSA.

Os EH apresentou inibição considerável ($>50\%$) apenas no dia 7 frente a glicoxidação da frutose-BSA/quinurenina ($60,29 \pm 2,57\%$). Para as demais glicoxidações os resultados aumentaram com o passar dos dias (do dia 3 para o dia 7), porém foram menores que o controle positivo.

Em relação ao EE, no geral os resultados foram melhores em relação ao EH, sendo a maior inibição expressa no dia 7 da glicação frutose-BSA ($83,54 \pm 0,03\%$). Mantendo o padrão de aumento de inibição com o passar dos dias.

Em relação as frações, a FAE foi a que apresentou os melhores resultados em todos os dias e todos os métodos de glicação. Sendo o melhor resultado obtido no dia 7 da glicação BSA-frutose/quinurenina ($93,00 \pm 1,79\%$), mais alto inclusive que o controle positivo que se manteve por volta da 75% de inibição. Nos demais dias, essa fração também teve seus resultados bastante próximos aos controles. A FB também apresentou resultados consideráveis, bastante próximos aos obtidos pela FAE, sendo também alguns resultados melhores que os controles positivos em algumas condições de teste.

A fração que apresentou os menores resultados de inibição foi a FA, permanecendo com resultados abaixo de 50% para todas as condições de experimento.

Diante do exposto, pode-se inferir que o EE da *M. ibaguensis* apresentou atividade considerável de inibição dos AGEs, e que as frações acetato de etila e butanol apresentaram potente atividade de inibição da glicoxidação.

Nesse contexto, produtos naturais têm sido avaliados quanto ao potencial de inibição dos AGEs principalmente devido às propriedades antioxidantes muitas vezes apresentadas por esses compostos, uma vez que o estresse oxidativo está diretamente relacionado à formação dos AGEs. Além disso, normalmente se destacam por apresentarem menor toxicidade, pois como já mencionado, a aminoguanidina, utilizada anteriormente em ensaios clínicos, teve sua utilização descontinuada devido aos efeitos colaterais provocados.

Entre os produtos naturais inibidores da formação de AGEs estão os polifenóis, polissacarídeos, terpenos, vitaminas, alcaloides e peptídeos (Khan *et al.*, 2020; Song *et al.*, 2021).

O trabalho de Piwowar *et al.* (2019) avaliou a atividade de inibição dos produtos de glicoxidação de 16 compostos fenólicos. Os resultados mostraram que o grupo dos ácidos fenólicos foram melhores inibidores dos produtos de glicoxidação. Dentro do grupo dos elaginatinos, o ácido elágico foi mais ativo que as monolactonas. O grupo dos flavonoides foram os que apresentaram melhores atividades como inibidores da glicoxidação. O galotanino 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galoil- β -D-glucose apresentou inibição dos AGEs maior que 50% em diferentes concentrações no ensaio com BSA-frutose, superando o controle positivo aminoguanidina (Ma *et al.*, 2015).

O extrato da fruta de romã (*Punica granatum*) e seus compostos fenólicos, como a punicalagina, ácido elágico, ácido gálico, também apresentaram elevado percentual de inibição da glicação BSA-frutose em comparação com o controle aminoguanidina, após 21 dias de incubação (Liu *et al.*, 2014).

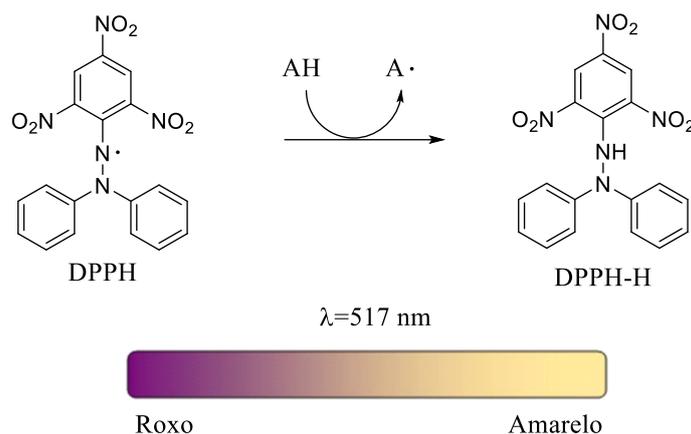
Diante do exposto, pode-se inferir que os resultados obtidos no experimento podem estar relacionados com a presença dos compostos fenólicos, visto que a atividade antiglicante de muitos extratos ricos nessa classe de compostos tem sido documentada na literatura. Em relação aos EH, que também apresentaram alguma inibição promissora, pode-se atribuir aos compostos não fenólicos, como terpenos e vitaminas, que demonstram ser ativos na inibição dos AGEs (Khan *et al.*, 2020; Song *et al.*, 2021; Velichkova; Foubert; Pieters, 2021). Essa diversidade de compostos bioativos nas diferentes frações destaca o potencial da *M. ibaguensis* como fonte de agentes inibidores de AGEs.

5.6. Determinação da atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante dos extratos e frações das folhas de *M. ibaguensis* foi realizada pelos seguintes métodos: DPPH, FRAP e ORAC.

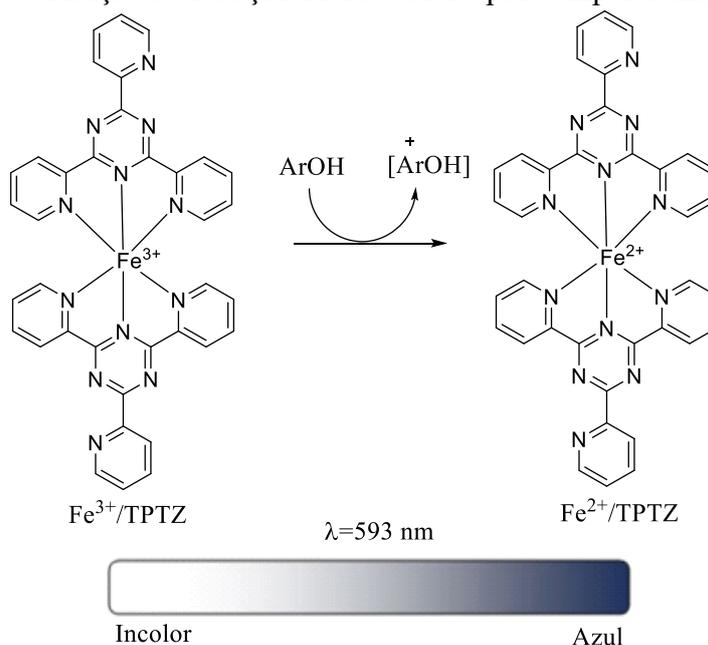
O método do DPPH consiste na reação do DPPH que é um radical estável e apresenta coloração roxa, com compostos antioxidantes presentes nas amostras, representado como AH na Figura 19. A reação é acompanhada pela formação do DPPH-H (2,2-difenil-1-picrilidrazina) de coloração amarela medida a 517 nm (Munteanu; Apetrei, 2021).

Figura 19 - Reação do DPPH ao composto antioxidante



Fonte: adaptado de Muntreanu; Apetrei (2021).

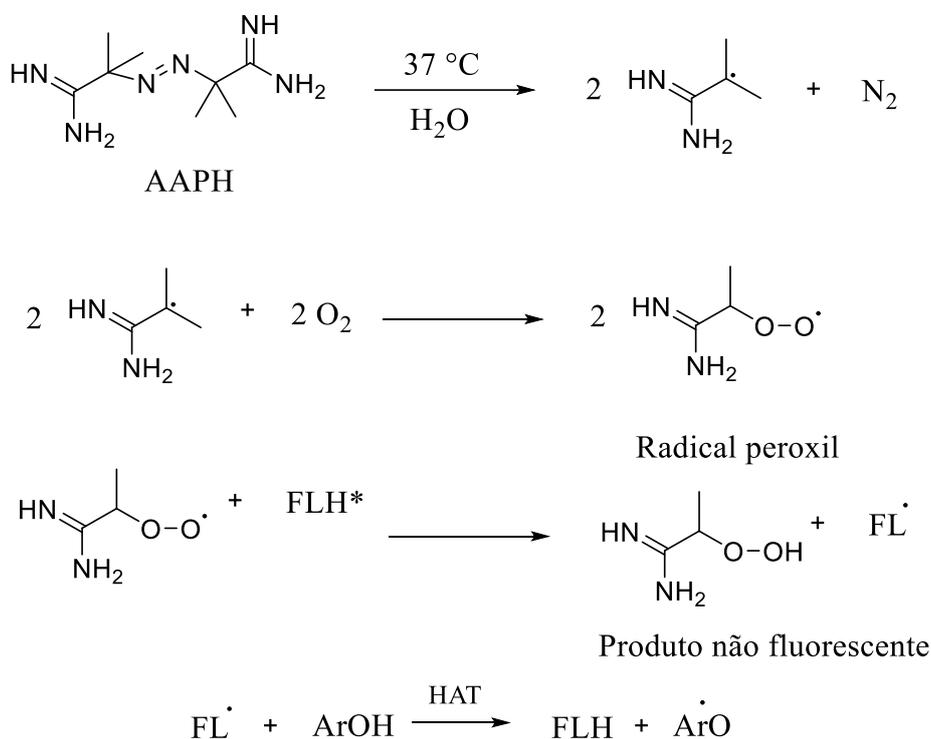
No método FRAP, os compostos antioxidantes promovem a redução do complexo de íons férrico (Fe^{3+}) a íons ferroso Fe^{2+} sendo este último quelado pela 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ) formando um complexo azul ($\text{Fe}^{2+}/\text{TPTZ}$), sendo determinado em 593 nm (Benzie; Strain, 1996), conforme pode ser observado na Figura 20, onde o composto antioxidante é representado por ArOH. A TPTZ é usada como ligante e a reação ocorre em meio ácido para manter a solubilidade do ferro. O mecanismo da reação ocorre através de transferência de um elétron para o íon férrico no complexo $\text{Fe}^{3+}/\text{TPTZ}$ convertendo-o em $\text{Fe}^{2+}/\text{TPTZ}$ (Shahidi; Zhong, 2015).

Figura 20 - Reação de redução do Fe^{3+} a Fe^{2+} por composto antioxidante

Fonte: adaptado de Muntreanu; Apetrei (2021).

Já pelo método ORAC, a capacidade de absorção dos radicais de oxigênio é determinada pela perda da fluorescência do indicador fluoresceína quando reage com radical peroxil. Esse é gerado pela decomposição térmica do AAPH, que inicialmente produz um carbono radicalar, que reage com oxigênio atmosférico produzindo os radicais peroxil. Na presença dos compostos antioxidantes, a intensidade da perda da fluorescência da fluoresceína é inibida (Christodoulou *et al.*, 2022). A reação pode ser observada na Figura 21, onde ArOH representa o composto antioxidante.

Figura 21 - Reação do método ORAC



Fonte: adaptado de Christodoulou *et al.* (2022).

Para a atividade antioxidante pelo método do DPPH, inicialmente foi avaliado o percentual de sequestro do DPPH em uma concentração única, as amostras que apresentaram valores superiores a 70% de sequestro do DPPH foram avaliadas em diferentes concentrações para determinar o valor de IC₅₀. Já os resultados da atividade antioxidante pelos métodos ORAC e FRAP foram expressos em μmol equivalente de Trolox por grama de amostra. Os resultados da atividade antioxidante dos extratos e frações das folhas de *M. ibaguensis* são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Atividade antioxidante das amostras de *M. ibaguensis*

Amostras	DPPH ¹		FRAP ²	ORAC ³
	(%) sequestro	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	(µmol E _T /g _{amostra})	(µmol E _T /g _{amostra})
EH	41,09 ± 0,82 ^a	–	0,00 ± 0,00	1196,26 ± 99,18 ^{a,b}
EE	90,63 ± 0,78 ^b	4,83 ± 0,15 ^{a,b}	245,18 ± 17,72 ^a	1640,75 ± 127,41 ^{b,c}
FD	76,29 ± 0,78 ^c	7,83 ± 0,02 ^{a,b}	86,97 ± 6,65 ^b	2125,24 ± 552,54 ^d
FAE	94,85 ± 0,78 ^d	1,74 ± 0,07 ^{a,b}	654,01 ± 42,09 ^c	3698,88 ± 37,28 ^{b,c}
FB	95,22 ± 0,92 ^d	4,66 ± 0,14 ^{a,b}	317,23 ± 8,86 ^a	2181,53 ± 141,89 ^b
FA	89,25 ± 0,65 ^b	151,85 ± 4,55 ^c	71,30 ± 19,94 ^b	1462,12 ± 161,26 ^b
Quercetina	96,14 ± 0,26 ^{d,e}	0,75 ± 0,06 ^{a,b}	808,56 ± 1,43 ^d	2019,73 ± 22,80 ^b
AA	98,35 ± 0,00 ^e	2,14 ± 0,41 ^a	892,70 ± 1,58 ^e	3421,62 ± 68,05 ^a

Nota: ¹EH (2500 µg mL⁻¹), EE, frações e controles (250 µg mL⁻¹); ²(35 µg mL⁻¹); ³(3,65 µg mL⁻¹). AA: ácido ascórbico. Letras diferentes na mesma coluna apresentaram diferença estatística significativa (p<0,05).

Fonte: a autora.

O extrato hexânico não apresentou boa atividade antioxidante, mesmo tendo sido avaliado em uma concentração 10 vezes maior que as demais amostras (2500 µg mL⁻¹). Não sendo determinado, portanto o IC₅₀ desta amostra. O resultado foi confirmado pelos métodos FRAP e ORAC.

Os resultados das demais amostras revelaram boa atividade antioxidante. A fração acetato de etila (FAE) apresentou uma atividade de eliminação de radicais de 94,85%, que é semelhante à da fração *n*-butanol (FB), mas com um valor de IC₅₀ mais baixo (1,74 ± 0,07 µg/mL da FAE, contra 4,66 ± 0,14 da FB), tornando fração acetato de etila a amostra com a maior capacidade antioxidante no estudo. Este resultado também foi confirmado pelos ensaios FRAP e ORAC, com 654,01 µmol E_T/g_{amostra} e 3698,88 µmol E_T/g_{amostra} da FAE, seguidos pelo extrato etanólico (245,18 ± 17,72 E_T/g_{amostra} e 1640,75 ± 127,41 E_T/g_{amostra}) e fração *n*-butanol (317,23 ± 8,86 E_T/g_{amostra} e 2181,53 ± 141,89 E_T/g_{amostra}).

A fração aquosa apresentou um valor de IC₅₀ mais alto no método DPPH e valores equivalentes de Trolox mais baixos nos métodos FRAP e ORAC. Apesar dessas variações, as descobertas gerais ressaltam a eficácia das amostras na prevenção da oxidação induzida por diferentes métodos antioxidantes.

A atividade antioxidante de algumas espécies de *Miconia* foi reportada na literatura. No trabalho de Lima *et al.*, (2020) o extrato metanólico das folhas de *M.*

albicans apresentou $IC_{50} = 49,45 \mu\text{g mL}^{-1}$ no método DPPH e a fração n-butanol apresentou $IC_{50} = 7,72 \mu\text{g mL}^{-1}$. Neste trabalho, o potencial antioxidante apresentado por *M. albicans* foi atribuído à presença dos compostos fenólicos, uma vez que o extrato apresentou elevado teor de fenóis totais e flavonoides como a rutina e quercetina.

No trabalho de Corrêa *et al.* (2021), o extrato metanólico dos frutos de *M. albicans* foi avaliado por três métodos antioxidantes. O DPPH apresentou $IC_{50} = 1,3 \pm 0,65 \text{ mg mL}^{-1}$ e o FRAP $8,15 \pm 0,30 \text{ mmol equivalente Fe}^{2+}$ por g de extrato. No extrato metanólico dos frutos foram identificados a presença de flavonoides, glicosídeos, ácidos orgânicos taninos e triterpenos e ácidos graxos.

A atividade antioxidante dos extratos das folhas de *M. prasina* foi avaliada por quatro métodos. No método DPPH os extratos acetato de etila e metanólico apresentaram $IC_{50} = 34,04$ e $7,94 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. No método FRAP os extratos hexânicos, acetato de etila e metanol apresentaram 2,66; 3,35 e 15,86 $\mu\text{mol equivalente Fe}^{2+}$ por mg de extrato, respectivamente. A presença de compostos fenólicos, cumarinas e flavonoides foi quantificada nos extratos apresentando elevados teores (Oliveira, 2017).

Em vários estudos apresentados, a atividade antioxidante foi relacionada a presença de compostos fenólicos, flavonoides, taninos e terpenos, classes de ME cujo gênero *Miconia* possui em grande representatividade. Dessa forma, pode-se inferir que os tais ME contribuíram para os resultados antioxidante promissores apresentando pela *M. ibaguensis*.

Além disso, estudos têm relacionado a capacidade antioxidante de compostos fenólicos com a capacidade de inibir a formação de AGEs, visto que esses compostos têm a capacidade de capturar os intermediários de AGEs, principalmente os mais comuns em humanos. Eles conseguem se ligar nesses intermediários com mais facilidade que a lisina e arginina, que são os aminoácidos que mais comumente reagem no processo de glicação (Khan *et al.*, 2020). Fazendo com que os resultados obtidos *in vitro* sejam promissores, uma vez que, tanto o EE como as frações tiveram ótima atividade antioxidante.

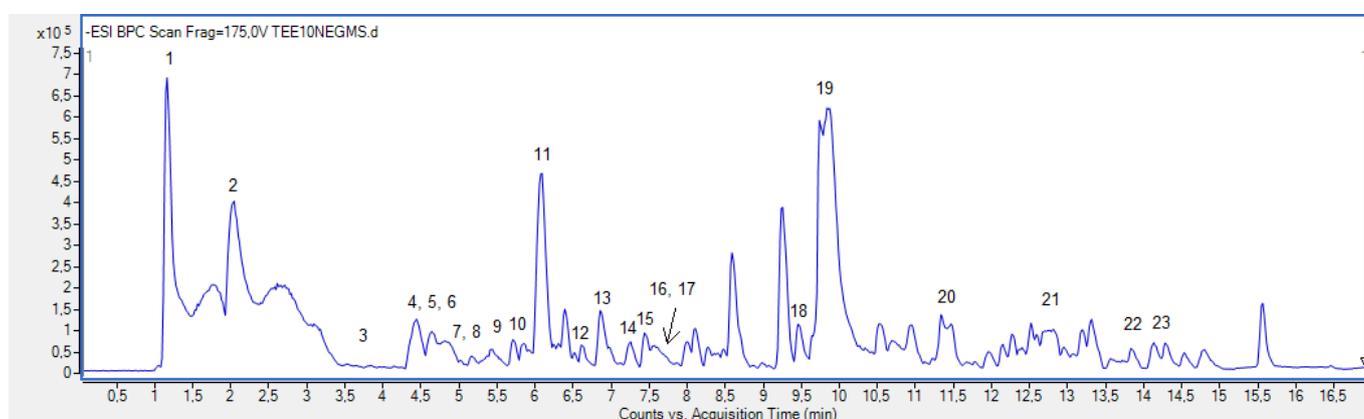
5.7. Anotação dos metabólitos especializados de *M. ibaguensis*

Foi proposta uma estratégia de anotação para os compostos presentes no extrato etanólico (EE) e nas frações das folhas de *M. ibaguensis*, por meio de espectrometria de massas. Não há relatos na literatura de um trabalho sobre a composição química dos extratos e frações das folhas da *M. ibaguensis*, o que torna este estudo importante e inédito. Os espectros foram obtidos no modo negativo, com os respectivos valores de

razão massa carga (m/z) e atribuição do erro em ppm para esses compostos, conforme a Equação 7. As Figuras 22, 23, 24, 25 e 26 mostram os cromatogramas obtidos em alta resolução para EE, FD, FAE, FB e FA, respectivamente, das folhas de *M. ibaguensis*, seguido da Tabela 15, que contém as anotações dos compostos. As estruturas dos compostos anotados estão representadas na Figura 27.

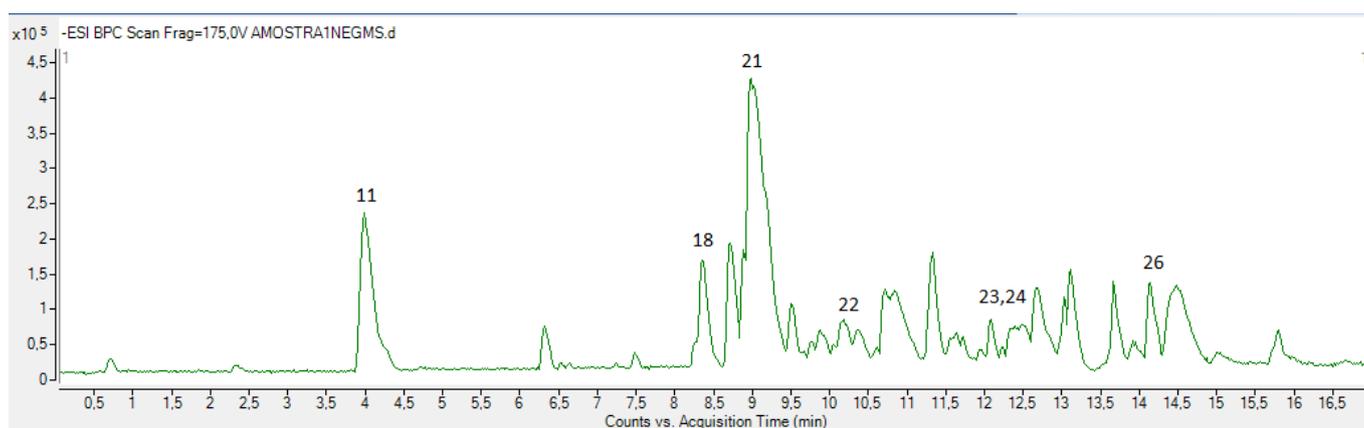
$$E_{ppm} = \left(\frac{\text{massa experimental} - \text{massa exata}}{\text{massa exata}} \right) \times 10^6 \quad (\text{Equação 7})$$

Figura 22 - Cromatograma de íons totais em alta resolução no modo negativo do EE de *M. ibaguensis*



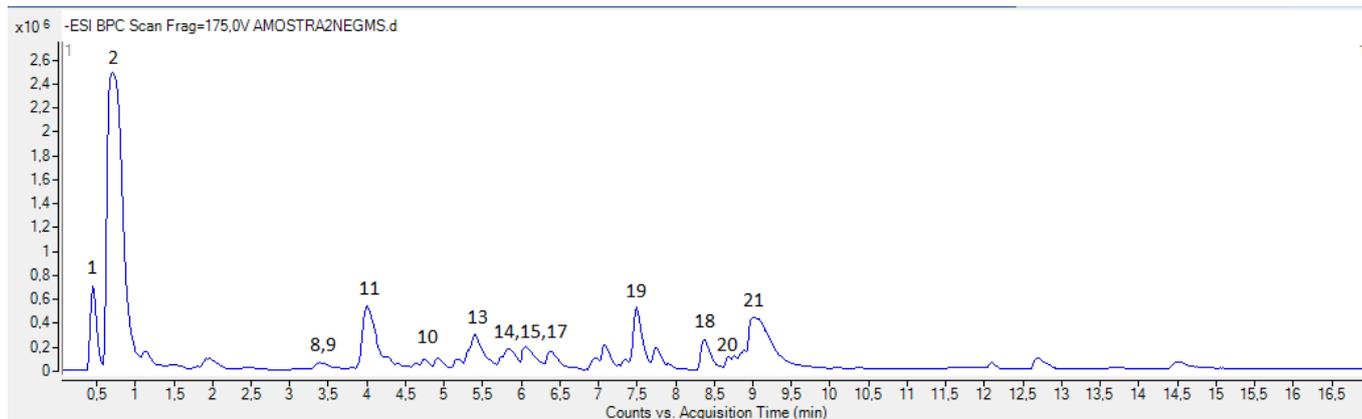
Fonte: a autora.

Figura 23 - Cromatograma de íons totais em alta resolução no modo negativo do FD de *M. ibaguensis*



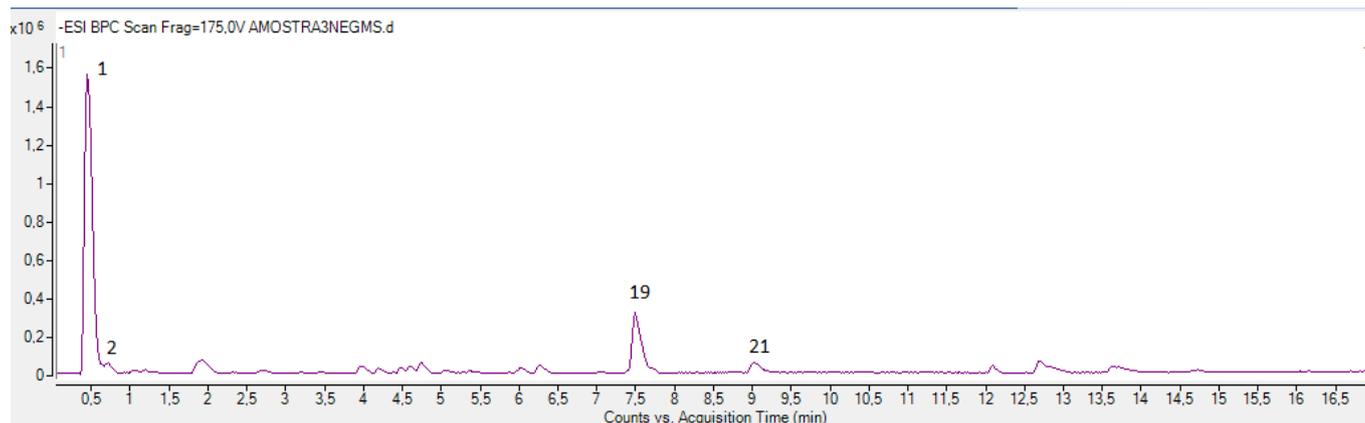
Fonte: a autora.

Figura 24 - Cromatograma de íons totais em alta resolução no modo negativo do FAE de *M. ibaguensis*



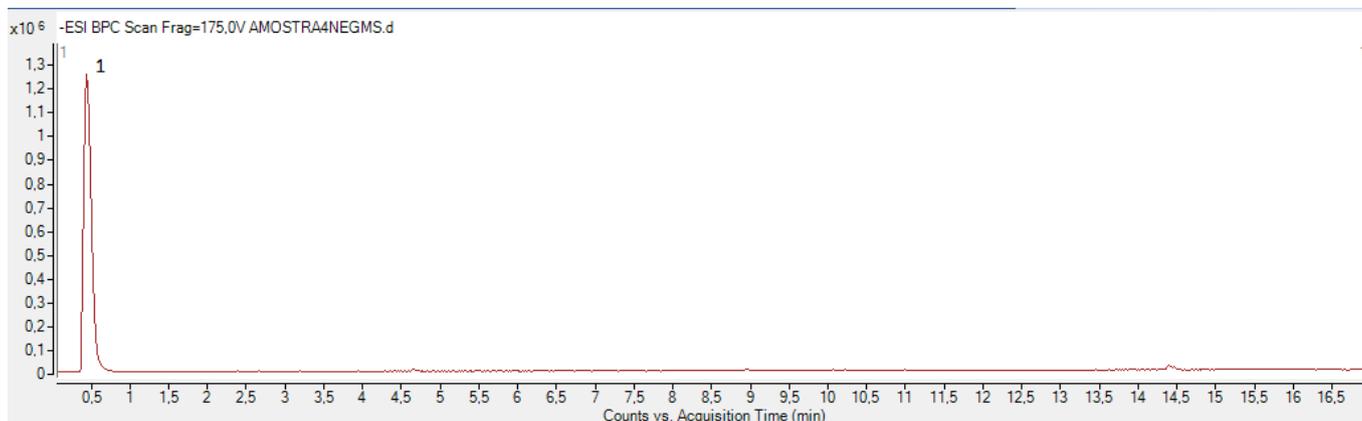
Fonte: a autora.

Figura 25 - Cromatograma de íons totais em alta resolução no modo negativo do FB de *M. ibaguensis*



Fonte: a autora.

Figura 26 - Cromatograma de íons totais em alta resolução no modo negativo do FA de *M. ibaguensis*



Fonte: a autora.

Tabela 15 - Anotação dos metabólitos especializados das amostras de *Miconia ibaguensis* (continua)

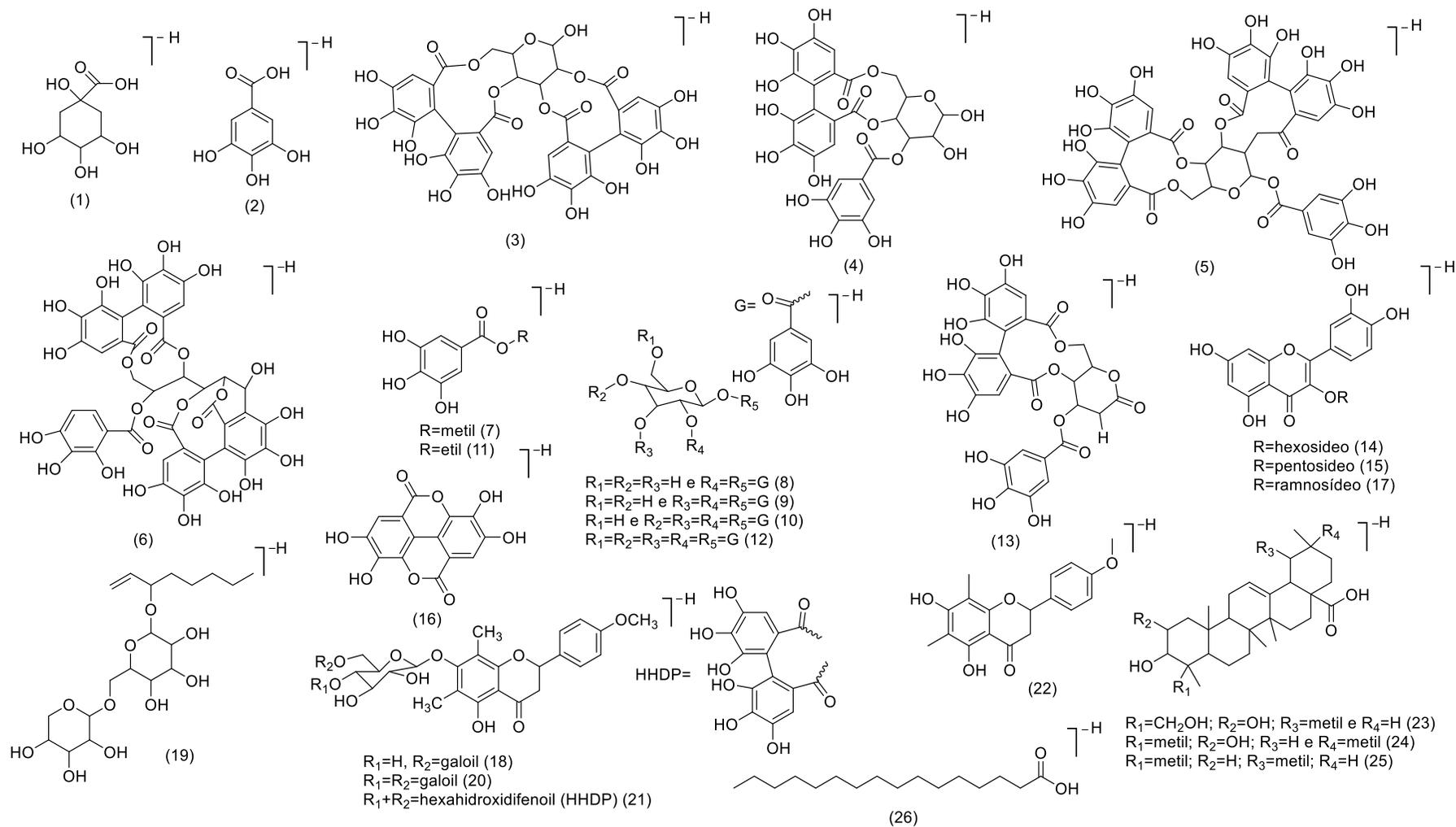
t_R (min)	$[M - H]^-$	Massa exata	Erro (ppm)	Fragmentos íons (m/z) MS/MS	Fórmula molecular	Tentativa de identificação	Amostra	Referência
1,16	191,0562	191,0561	0,52	20 eV: 173, 171, 127, 109, 93, 87, 85 , 59	C ₇ H ₁₂ O ₆	Ácido quínico (1)	EE, FAE, FB, FA	Gouveia, Castilho, 2010; Correa <i>et al.</i> , 2021
2,02	169,0137	169,0142	-2,95	10 eV: 125 , 97, 79, 69	C ₇ H ₆ O ₅	Ácido gálico (2)	EE, FAE, FB	Singh <i>et al.</i> , 2016; Mena <i>et al.</i> , 2012
3,70	783,0692	783,0686	0,77	30 eV: 300 , 481	C ₃₄ H ₂₄ O ₂₂	Pedunculagina (3)	EE	Chang <i>et al.</i> , 2019, Fracaseti <i>et al.</i> , 2013
4,40	633,0735	633,0733	0,32	30 eV: 300 , 275, 249, 169	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₈	HHDP-galoil-glicose (4)	EE	Quatrin, 2019
4,42	935,0788	935,0796	-0,85	30 eV: 633 , 275	C ₄₁ H ₂₈ O ₂₆	Casuarinina (5) ou Casuarictina (6)	EE	Singh <i>et al.</i> , 2016; Gatis-Carrazzoni <i>et al.</i> , 2018
	467,0367 ^a	467,0362	1,07	20 eV: 391, 300, 275, 169 , 125				
4,77	183,0297	183,0299	-1,09	10 eV: 168, 124 , 78	C ₈ H ₈ O ₅	Galato de metila (7)	EE	Correa <i>et al.</i> , 2021; Singh <i>et al.</i> , 2016
4,85	483,0794	483,0780	2,90	25 eV: 169, 271 , 313	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	Di-galoil-glicose (8)	EE, FAE	Mena <i>et al.</i> , 2012; Quatrin, 2019
5,42	635,0915	635,0890	3,93	25 eV: 169, 313, 465	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	Tri-galoil-glicose (9)	EE, FAE	Quatrin, 2019; Singh <i>et al.</i> , 2016
5,90	787,1008	787,0999	1,14	30 eV: 617 , 465, 635, 169	C ₃₄ H ₂₈ O ₂₂	Tetra-galoil-glicose (10)	EE, FAE	Quatrin, 2019; Singh <i>et al.</i> , 2016
6,07	197,0457	197,0455	1,01	15 eV: 169, 124 , 78	C ₉ H ₁₀ O ₅	Galato de etila (11)	EE, FD, FAE	Quintans-Júnior <i>et al.</i> , 2020; Singh <i>et al.</i> , 2016
6,57	939,1102	939,1109	-0,74	-	C ₄₁ H ₃₂ O ₂₆	Penta-galoil-glicose (12)	EE	Quatrin, 2019
	469,0529 ^a	469,0506	4,90	15 eV: 393, 300, 169				

^a[M - 2H]⁻

Tabela 15 - Anotação dos metabólitos especializados das amostras de *Miconia ibaguensis*

t_R (min)	$[M - H]^-$	Massa exata	Erro (ppm)	Fragmentos íons (m/z) MS/MS	Fórmula molecular	Tentativa de identificação	Amostra	Referência
6,85	615,1004	615,0992	2,11	30 eV: 463, 300	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	Desidro-galoil-HHDP-hexosídeo (13)	EE, FAE	Singh <i>et al.</i> , 2016, Mena <i>et al.</i> , 2012
7,22	463,0899	463,0882	3,67	25 eV: 301, 300, 255, 150	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	Quercetina-hexosídeo (14)	EE, FAE	Correa <i>et al.</i> , 2021; Quatrin, 2019
7,43	433,0783	433,0776	1,61	30 eV: 301, 300, 271, 255	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	Quercetina-pentosídeo (15)	EE, FAE	Quintans-Junior <i>et al.</i> , 2020
7,62	300,9985	300,9990	-1,66	30 eV: 283, 245, 229, 173, 145	C ₁₄ H ₆ O ₈	Ácido elágico (16)	EE, FA	Singh <i>et al.</i> , 2016
7,69	447,0952	447,0933	4,25	25 eV: 315, 301, 300, 285, 271	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁	Quercetina-ramnosídeo (17)	EE, FAE	Gomes <i>et al.</i> , 2020; Oliveira <i>et al.</i> , 2020
8,40	627,1738	627,1719	3,02	30 eV: 313, 169	C ₃₁ H ₃₂ O ₁₄	Mateucinol-7- <i>O</i> -[6''- <i>O</i> -galoil]- glicopiranosídeo (18)	EE, FD, FAE	Proposto a partir do composto (20)
8,58	467,2156	467,2134	4,70	10 eV: 421, 289	C ₁₉ H ₃₄ O ₁₀	Oct-1-en-3-il arabinopiranosil (1→6) glicopiranosídeo (19)	EE, FAE, FB	MassBank
9,45	779,1846	779,1829	2,18	30 eV: 465	C ₃₈ H ₃₆ O ₁₈	Mateucinol-7- <i>O</i> -[4'',6'' -di- <i>O</i> -galoil]- glicopiranosídeo (20)	EE, FAE	Li <i>et al.</i> , 2001
9,78	777,1667	777,1672	-0,64	30 eV: 463, 300, 275	C ₃₈ H ₃₄ O ₁₈	Mateucinol-7- <i>O</i> -[4'',6''- <i>O</i> - hexaidroxidifenoil]- glicopiranosídeo (21)	EE, FD, FAE, FB	Li <i>et al.</i> , 2001
10,17	313,1081	313,1081	0	30 eV: 271, 192, 179, 164, 150	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	Mateucinol (22)	EE, FD	Silva <i>et al.</i> , 2019
11,33	487,3438	487,3429	1,85	30 eV: 469	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	Ácido triidroxi-urs12en 28oico (23)	EE, FD	Sakna <i>et al.</i> , 2019
12,68	471,3493	471,3480	2,76	-	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	Ácido maslínico (24)	EE, FD	Correa <i>et al.</i> , 2021
13,54	455,3545	455,3531	3,07	-	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	Ácido ursólico (25)	EE	Sundaram <i>et al.</i> , 2012
14,31	255,2329	255,2324	1,96	-	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Ácido palmítico (26)	EE, FD	Gomes <i>et al.</i> , 2020

Figura 27 - Anotação dos metabólitos especializados presentes nas amostras de *Miconia ibaguensis*

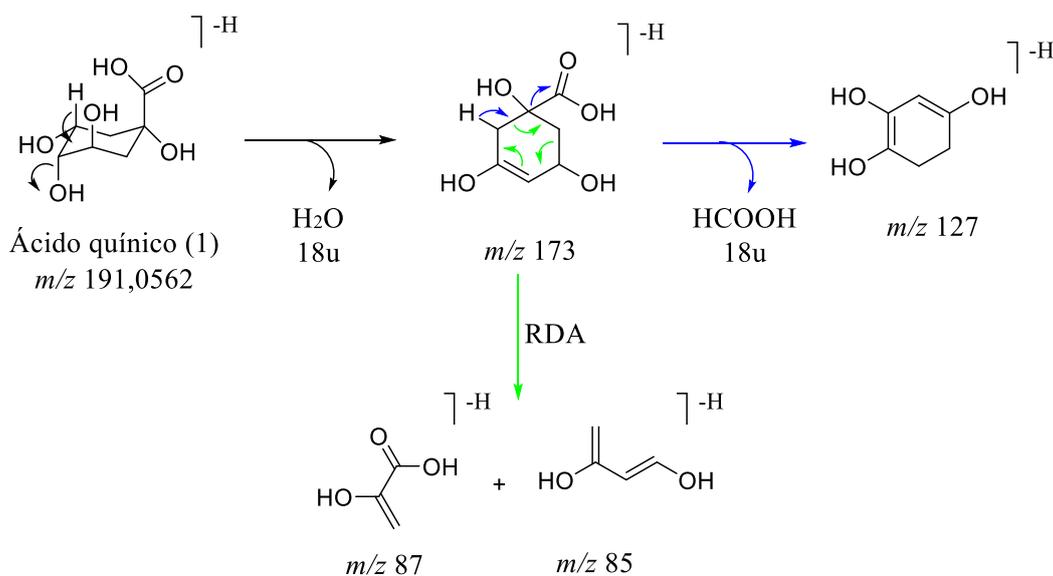


Fonte: a autora

Pela análise da Tabela 15, pode-se observar que o extrato e as frações de *M. ibaguensis* foram caracterizados pela presença de flavonoides, taninos hidrolisáveis, triterpenoides e ácidos fenólicos.

O composto (1) ($t_R = 1,16$ min; m/z 191,0562) foi anotado como ácido quínico, uma molécula comum entre as amostras analisadas. Além disso, já foi identificado na espécie *Miconia albicans* (Correa *et al.*, 2021). Em relação a sua fragmentação, algumas propostas foram encontradas na literatura. A pesquisa de Gouveia *et al.* (2010), propôs que os fragmentos m/z 173 $[M - H - H_2O]^-$ e m/z 127 $[M - H - H_2O - HCOOH]^-$ significam perdas sucessivas de água e ácido fórmico, respectivamente. Os íons fragmento m/z 85 e m/z 87, provenientes do m/z 173, são formados após uma clivagem por Retro-Diels Alder (RDA) (Figura 28).

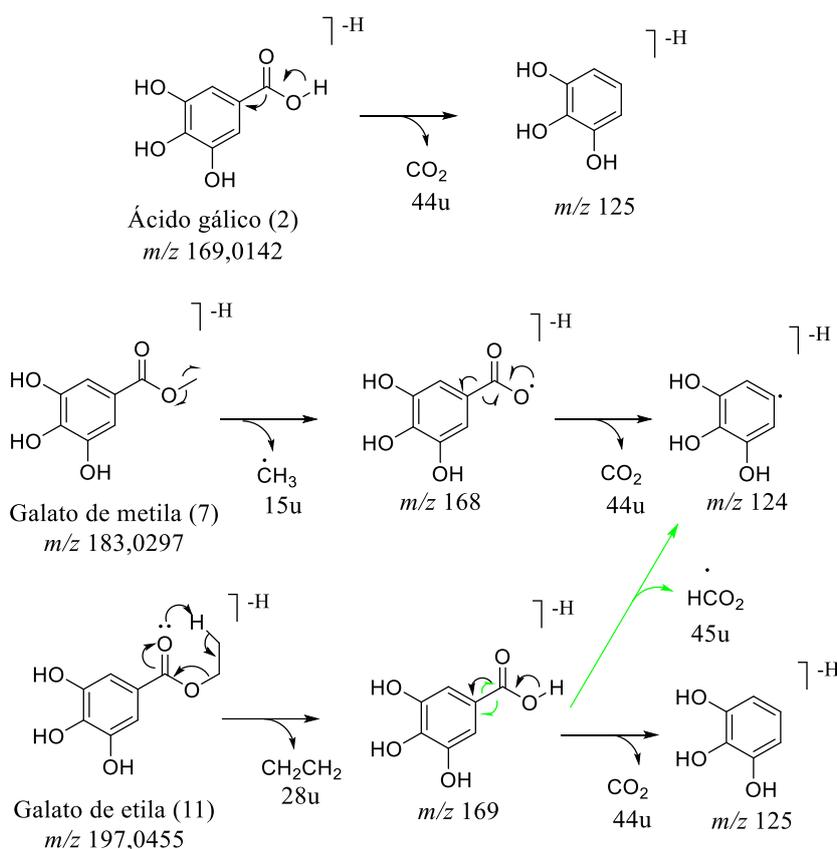
Figura 28 - Proposta de fragmentação do composto (1)



Fonte: a autora.

O composto (2) ($t_R = 2,02$ min; m/z 169,0137), assim como os compostos (7) ($t_R = 4,77$ min; m/z 183,0297) e (11) ($t_R = 6,07$ min; m/z 197,0457), foram anotados como ácidos fenólicos, sendo eles ácido gálico, galato de metila e galato de etila. O fragmento característico desses compostos é a eliminação de CO_2 (Santos *et al.*, 2018). No composto (2), essa perda corresponde ao m/z 125 $[M - H - CO_2]^-$; em (7), essa perda corresponde ao fragmento m/z 124, que ocorre após a eliminação da metila que ocorre a partir de uma cisão homolítica, gerando o fragmento m/z 168 $[M - H - \bullet CH_3]^-$ e no composto (11) ocorrem os fragmentos m/z 125 e m/z 124, a partir do fragmento m/z 169 $[M - H - CH_2CH_2]^-$ (Figura 29).

Figura 29 - Proposta de fragmentação para os compostos (2), (7) e (11)



Fonte: adaptado de Silva (2023).

Os flavonoides são uma classe de metabólitos especializados bastante representativa do gênero *Miconia*, conforme relatado no trabalho de revisão de Cunha, Cruz e Menezes (2019), correspondendo a 48% dos compostos isolados do gênero. Algumas moléculas dessa classe foram anotadas nas amostras da *Miconia ibaguensis*, sendo elas: (14), (15) e (17), propostos como quercetina-hexosídeo ($t_R = 7,22$ min; m/z 463,0899), quercetina-pentósídeo ($t_R = 7,43$ min; m/z 433,0783) e quercetina-ramnosídeo ($t_R = 7,69$ min; m/z 447,0952), respectivamente; e (18), (20), (21) e (22), propostos como mateucinol-7-*O*-[6''-*O*-galoil]-glicopiranosídeo ($t_R = 8,40$ min; m/z 627,1738), mateucinol-7-*O*-[4'',6''-di-*O*-galoil]-glicopiranosídeo ($t_R = 9,45$ min; m/z 779,1846), mateucinol-7-*O*-[4'',6''-*O*-hexaidroxidifenoil]-glicopiranosídeo ($t_R = 9,78$ min; m/z 777,1667) e mateucinol ($t_R = 10,17$ min; m/z 313,1081), respectivamente.

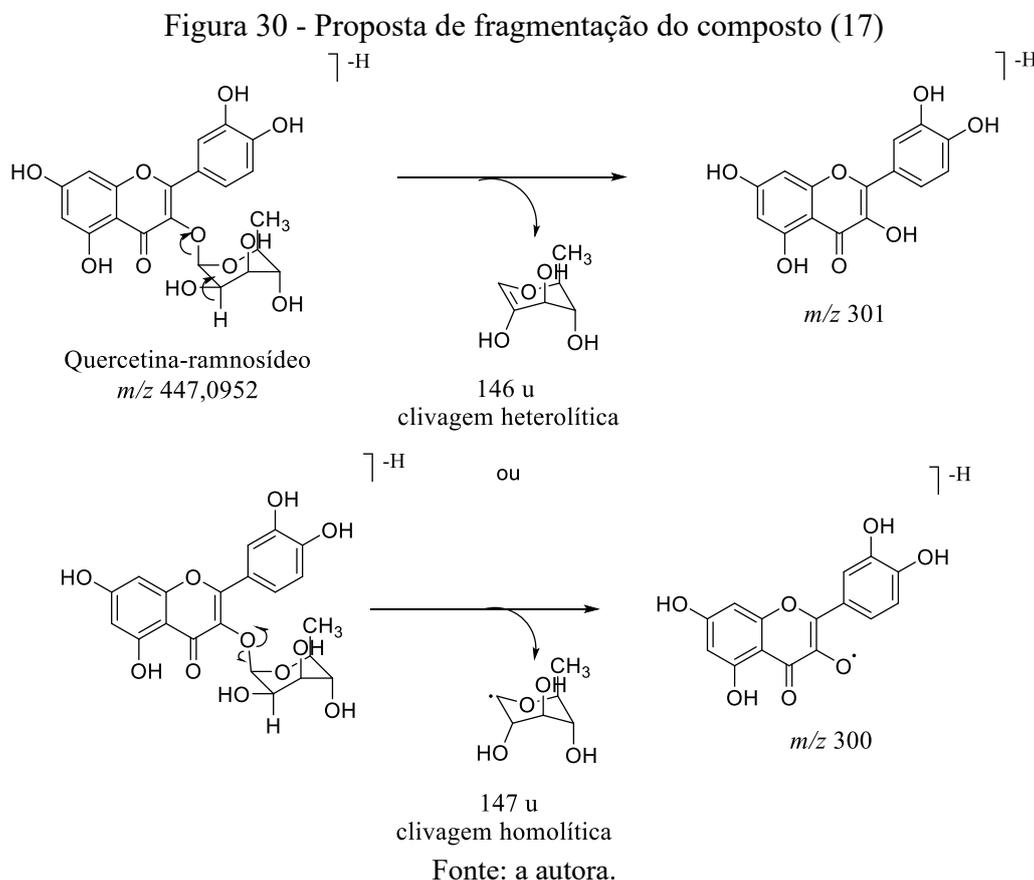
Os compostos (20) e (21) já foram relatadas na espécie *Miconia myriantha*, cujo trabalho teve como objetivo realizar o fracionamento guiado do extrato etanólico dos galhos e folhas da espécie, onde foram encontradas as moléculas mencionadas, bem com o ácido elágico (16) e ácido gálico (2). Neste trabalho também foi relatada a análise

antifúngica, onde as moléculas (20) e (16) apresentaram efeitos inibitórios contra a *Candida albicans* (Li *et al.*, 2001).

No trabalho de Rodrigues *et al.* (2008), foi avaliado o efeito do extrato metanólico das folhas de *Miconia cabucu*, *Miconia rubiginosa* e *Miconia stenostachya* na inibição do crescimento de algumas espécies de bactérias e contra o fungo *C. albicans*. Os resultados obtidos mostraram que os extratos metanólicos das folhas de *M. rubiginosa* e *M. stenostachya* apresentaram atividade antimicrobiana contra os microrganismos testados e o estudo fitoquímico desses extratos revelou a presença de flavonoides em sua composição, sugerindo que estes compostos podem ser responsáveis pela atividade antimicrobiana.

Já no trabalho de Lima *et al.* (2018), foi avaliado o extrato de acetato de etila de folhas de *Miconia albicans* por meio do perfil de inibição da proteína tirosina quinase 1B (PTP1B) para identificação de compostos antidiabéticos. Neste estudo, foram identificados cinco flavonoides e oito triterpenoides com potencial de inibir a proteína.

Em relação a proposta de fragmentação, os derivados de quercetina apresentam em comum os íons fragmentos m/z 300 e m/z 301 que correspondem a clivagem homolítica e heterolítica da molécula para eliminação da unidade ramnose (Figura 30).



Foram anotadas algumas moléculas da classe dos taninos hidrolisáveis. De acordo com Serrano *et al.* (2009), os taninos hidrolisáveis são poliésteres constituídos de uma unidade glicosídica e ácidos orgânicos. Quando o componente ácido é o ácido gálico, esses compostos são chamados de galotaninos. No entanto, se o grupo é o ácido hexaidroxidifênico (HHDP), os taninos hidrolisáveis são chamados elagitaninos, e têm a propriedade de formar ácido elágico quando hidrolisados por eliminação de água.

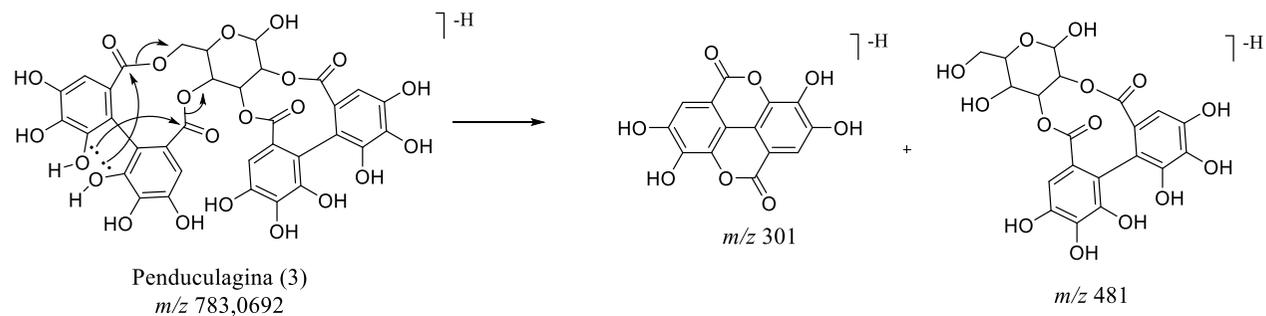
A maioria dos elagitaninos são ésteres mistos com HHDP e ácido gálico. Esses compostos têm sido descritos como possuidores de propriedades farmacológicas, tais como antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antiaterogênica e anticancerígena (Lipinska, Klewicka e Sojka, 2014).

Além da pedunculagina (3), representante da classe dos elagitaninos, outras moléculas dessa classe também foram anotadas, sendo os compostos (4) ($t_R = 4,40$ min; m/z 633,0735) proposto como HHDP-galoil-glicose; os isômeros (5) e (6) ($t_R = 4,42$ min; m/z 935,0788) propostos como casuarinina (5) ou casuarictina (6); (13) ($t_R = 6,85$ min; m/z 615,1004) proposto como desidrogaloil-HHDP-hexosídeo.

O composto (3) ($t_R = 3,70$ min; m/z 783,0692) foi anotado como sendo a pedunculagina, pertencente a classe dos elagitaninos. A proposta de fragmentação desta molécula vai depender de qual hidrogênio será retirado inicialmente (Figura 31). Se a desprotonação ocorrer do lado esquerdo conforme representado na Figura 30, o mecanismo inicia com o ataque nucleofílico das hidroxilas fenólicas às carbonilas dos ésteres, formando o fragmento m/z 301. Já, se a molécula for desprotonada no lado direito, resultará no fragmento m/z 481 (Lima, 2023). A pedunculagina (3) é formada a partir da casuarictina (5) através da perda de um grupo galoil.

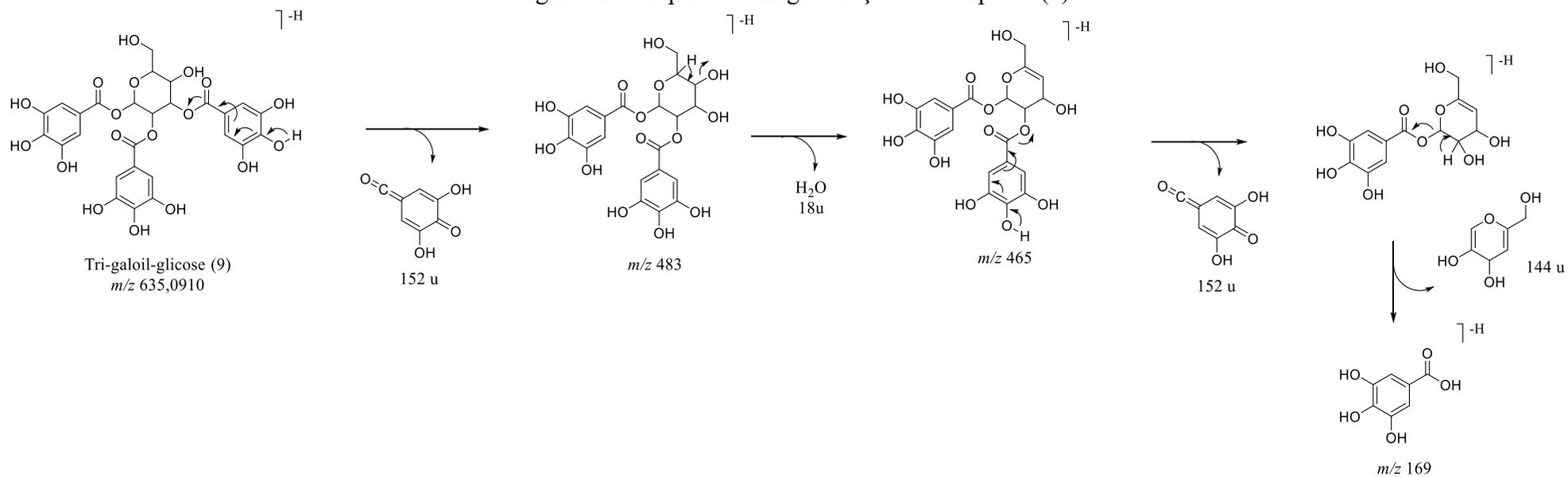
Já em relação aos galotaninos, cujo componente ácido é o ácido gálico, foram anotados os seguintes compostos: (8) ($t_R = 4,85$ min; m/z 483,0794) proposto como di-galoil-glicose; (9) ($t_R = 5,42$ min; m/z 635,0915) proposto como tri-galoil-glicose; (10) ($t_R = 5,90$ min; m/z 787,1008) proposto como tetra-galoil-glicose; e (12) ($t_R = 6,57$ min; m/z 939,1102) proposto como penta-galoil-glicose. A fragmentação característica dessa classe ocorre com a perda do grupo galoil, conforme apresentado na Figura 32.

Figura 31 - Proposta de fragmentação do composto (3)



Fonte: adaptado de Silva (2023).

Figura 32 - Proposta de fragmentação do composto (9)



Fonte: adaptado de Silva (2023).

Em relação a presença dos taninos no gênero *Miconia*, o ácido elágico (16), já foi isolado das folhas e galhos de *M. myriantha* (Li *et al.*, 2001) e identificado nas folhas de *M. minutiflora* (Gatis-Carrazzoni *et al.*, 2018). A pedunculagina (3) foi identificada em *M. latecrenata* (Gontijo *et al.*, 2019), a casuarictina (6) foi identificada em *M. minutiflora* (Gatis-Carrazzoni *et al.*, 2018) e isolada em *M. rubiginosa* (Rodrigues *et al.*, 2011).

A fração acetato de etila (FAE), que apresentou os melhores resultados das análises biológicas, teve como predominância a presença de compostos fenólicos. Conforme já discutido nos resultados dos ensaios biológicos estes compostos estão associados às atividades antifúngicas, antibacteriana e antioxidantes, corroborando com as propostas de anotação.

Em relação aos triterpenoides anotados nas amostras, os ácidos trihidroxi-urs-12-en-28-óico (23) ($t_R = 11,33$ min; m/z 487,3438), maslínico (24) ($t_R = 12,68$ min; m/z 471,3493) e ursólico (25) ($t_R = 13,54$ min; m/z 455,3545) são triterpenoides que não apresentaram padrão de fragmentação, conforme pode ser observado no apêndice, porém apresentaram sinais característicos das moléculas desprotonadas nas amostras. Os ácidos maslínico e ursólico já foram isolados das folhas da espécie *Miconia albicans* (Lima *et al.*, 2018). Além disso, no trabalho conduzido por Vasconcelos *et al.* (2006), os ácidos ursólicos e oleanólico isolados do extrato cloreto de metila apresentaram atividade analgésica e anti-inflamatória, sendo responsáveis pela diminuição dos mediadores que causam quadros de inflamação.

6. CONCLUSÕES

Este trabalho apresentou o estudo pela primeira vez da composição química da espécie *Miconia ibaguensis*, a partir da anotação de moléculas presentes em seus extratos e frações, apresentou também os resultados de análises conduzidas para avaliar sua atividade biológica, sendo testadas as atividades: antifúngica, antibacteriana, antidiabética e antioxidante.

Utilizando o método de extração por maceração foi possível preparar os extratos hexânico (EH) e etanólico (EE) das folhas da *M. ibaguensis*. Através do fracionamento do EE por extração líquido-líquido foi possível obter as frações FD, FAE, FB e FA.

Por meio das análises antifúngicas e antibacterianas o EE e suas frações apresentaram resultados promissores. Onde a FAE apresentou o resultado mais significativos em relação a atividade antifúngica contra *Candida spp.*, com CIM na faixa de 1,95 a 3,90 $\mu\text{g mL}^{-1}$, sendo a espécie *C. glabrata* a menos resistente. Já em relação a

atividade antibacteriana, foi observado que as espécies menos resistentes às frações das folhas de *M. ibaguensis* são *S. sanguinis* e *F. nucleatum*, sendo observado que após a extração líquido-líquido realizada no extrato etanólico para obtenção das frações, os compostos com possível potencial antibacteriano foram concentrados, sendo as frações FAE e FB, as que apresentaram resultados mais significantes, com CIM na faixa de 25 a 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para as espécies menos resistentes.

O extrato etanólico e as frações demonstraram elevada atividade antioxidante nos métodos do sequestro do DPPH, FRAP e ORAC, sendo a fração acetato de etila a que apresentou os melhores resultados com 94,85% de inibição e IC_{50} de 1,74 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no método DPPH; 654,01 $\mu\text{mol E}_T/\text{g}_{\text{amostra}}$ no método FRAP e 3698,88 $\mu\text{mol E}_T/\text{g}_{\text{amostra}}$ no método ORAC.

Em relação as análises de glicoxidação, percebeu-se que o método de análise de inibição de BSA-frutose foi o que apresentou os melhores resultados para todas as amostras, sendo a FAE a que melhor inibiu os produtos de glicação avançada (AGEs) com 86,66% de inibição. No método BSA-frutose/quinurenina, porém, as frações FAE e FB apresentaram percentuais de inibição maiores que os controles 93,00% e 81,89%, respectivamente.

Em relação aos ensaios de inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase, a EE foi a que apresentou melhor resultado, 91,22% de inibição de α -amilase, com IC_{50} de 8,42 $\mu\text{g L}^{-1}$. Este resultado pode estar relacionado a presença dos compostos fenólicos acrescidos de grupos galoil presentes no EE. Nenhum dos extratos apresentou resultados satisfatórios para inibição de α -glicosidase.

Em relação aos resultados obtidos para o estudo da composição química, a prospecção fitoquímica que foi realizada via CCD com a utilização de reveladores específicos para as principais classes de metabólitos especializados, possibilitou a identificação de algumas classes de metabólitos especializados presentes nas amostras como flavonoides, ácidos fenólicos e taninos hidrolisáveis.

Posteriormente através de CLAE(-)-IES-EM foi possível anotar alguns metabólitos presentes no extrato etanólico e nas frações das folhas da *M. ibaguensis*, sendo eles caracterizados pela presença de flavonoides, taninos hidrolisáveis, triterpenoides e ácidos fenólicos. O potencial biológico apresentado pela espécie *Miconia ibaguensis* foi atribuído à presença dos compostos anotados.

A fração acetato de etila (FAE), que apresentou os melhores resultados das análises biológicas, teve como predominância a presença de compostos fenólicos e

flavonoides. Podendo estes compostos estarem associados as atividades antifúngicas, antibacteriana e antioxidantes.

Os resultados obtidos neste trabalho apontam informações úteis a área de pesquisa de produtos naturais e vem ao encontro da busca de alternativas mais sustentáveis propostas pela Organização das Nações Unidas (ONU) para o tratamento de doenças que acometem grande número de indivíduos na sociedade. Além disso, estes resultados fornecem informações valiosas sobre o conhecimento químico e o potencial biológico do gênero *Miconia*, possibilitando a identificação de recursos naturais que podem ser explorados de maneira sustentável.

REFERÊNCIAS

- AHMAD KHAN, M. S.; AHMAD, I. Chapter 1 - Herbal Medicine: Current Trends and Future Prospects. In: AHMAD KHAN, M. S. **New Look to Phytomedicine, Academic Press**, 2019. Cap. 1, p. 3-13.
- AMIN M.U; KHURRAM M; KHATTAK B; KHAN J. Antibiotic additive and synergistic action of rutin, morin and quercetin against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **BMC Complement Altern Med**. 2015.
- ANWAR, A.; ABRUZZO, P. M.; PASHA, S.; RAJPOOT, K.; BOLOTTA, A.; GHEZZO, A.; MARINI, M.; POSAR, A.; VISCONTI, P.; THORNALLEY, P. J.; RABBANI, N. Advanced glycation end products, dityrosine and arginine transporter dysfunction in autism - a source of biomarkers for clinical diagnosis. **Molecular Autism**, v. 9, n. 3, p. 1-16, 2018.
- ARIF, T.; BHOSALE, J. D.; KUMAR, N.; MANDAL, T. K.; BENDRE, R. S.; LAVEKAR, G. S.; DABUR, R. Natural products – antifungal agents derived from plants. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 11, n. 7, p. 621-638, 2009.
- ASCHNER, P.; KARURANGA, S.; JAMES, S.; SIMMONS, D.; BASIT, A.; SHAW, J. E.; WILD, S. H.; OGURTSOVA, K.; SAEEDI, P. The International Diabetes Federation's guide for diabetes epidemiological studies. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 172, 2021.
- ASMAT, U.; ABAD, K.; ISMAIL, K. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, n. 5, p. 547-553, 2016.
- ATANASOV, A. G.; ZOTCHEV, S. B.; DIRSCH, V. M.; ORHAN, I. E.; BANACH, M.; ROLLINGER, J. M.; BARRECA, D.; WECKWERTH, W.; BAUER, R.; BAYER, E. A.; MAJEED, M.; BISHAYEE, A. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, n. 3, p. 200-216, 2021.
- ATKINSON, M. A.; EISENBARTH, G.S.; MICHELS, A.W. Type 1 diabetes. **Lancet**. 2014 Jan 4; 383: p. 69–82.
- BARBOSA, J.; OLIVEIRA, S.; SEARA, L. O papel dos produtos finais da glicação avançada (AGEs) no desencadeamento das complicações vasculares do diabetes. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, v. 52, n. 6, p. 940-950, 2008.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista Nutrição**, Campinas, 23(4), p. 629-643, 2010.
- BASU, S.; YOFFE, P.; HILLS, N.; LUSTIG, R. H. The relationship of sugar to population-level diabetes prevalence: an econometric analysis of repeated cross-sectional data. **PLOS ONE**. 2013; v.8(2), p. e57873.
- BEN SAID, R.; ARAFA I, H.; USAM A, M.; ABDULLAH SULAIMAN, A.-A.; KOWALCZYK, M.; MOLDOCH, J.; OLESZEK, W.; STOCHMAL, A. 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. 1-18, 2017.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BIESKI, I. G. C.; LEONTI, M.; ARNASON, J. T.; FERRIER, J.; RAPINSKI, M.; VIOLANTE, I. M. P.; BALOGUN, S. O.; PEREIRA, J. F. C. A.; FIGUEIREDO, R. D. C. F.; LOPES, C. R. A. S.; DA SILVA, D. R.; PACINI, A. et al. Ethnobotanical study of medicinal plants by population of Valley of Juruena Region, Legal Amazon, Mato Grosso, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 383-423, 2015.

BITTAR, V. P.; SILVA, B. A. L.; JUSTINO, A. B.; CARRILLO, M. S. P.; DUARTE, M. R. F.; SILVA, N. B.; GONÇALVES, D. S.; PRADO, D. G.; ARAÚJO, I. A. C.; MARTINS, M. M.; GOMES MARTINS, C. H.; BOTELHO, F. V.; SILVA, N. M.; DE OLIVEIRA, A.; ESPÍNDOLA, F. S. Bioactive compounds from the leaves of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek: Inhibition of LDL oxidation, glycation, lipid peroxidation, target enzymes, and microbial growth. **Journal of ethnopharmacology**, v. 319, p. 117315, 2024.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agro tecnologia**. v. 11 n. 1, 2020.

BORRELLI, G. M.; TRONO, D. Molecular Approaches to Genetically Improve the Accumulation of Health-Promoting Secondary Metabolites in Staple Crops—A Case Study: The Lipoxigenase-B1 Genes and Regulation of the Carotenoid Content in Pasta Products. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, p. 1177, 2016.

BRAZ FILHO, R.; Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, p. 229-239, 2010.

BROOK, K.; BENNETT, J.; DESAI, S. P. The Chemical History of Morphine: An 8000-year Journey, from Resin to de-novo Synthesis. **Journal of Anesthesia History**, v. 3, n. 2, p. 50-55, 2017

BROWN, G. D.; DENNING, D. W.; GOW, N. A. R.; LEVITZ, S. M.; NETEA, M. G.; WHITE, T. C. Hidden Killers: Human Fungal Infections. **Science Translational Medicine**, v. 4, n. 165, p. 1-9, 2012.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. Biochemistry and molecular biology of plants. ed. **John Wiley & Sons**, 2015.

CHRISTODOULOU, M. C.; ORELLANA PALACIOS, J. C.; HESAMI, G.; JAFARZADEH, S.; LORENZO, J. M.; DOMÍNGUEZ, R.; MORENO, A.; HADIDI, M. Spectrophotometric Methods for Measurement of Antioxidant Activity in Food and Pharmaceuticals. **Antioxidants (Basel)**, v. 11, n. 11, p. 1-33, 2022.

CAO, J.; ZHANG, Y.; HAN, L.; ZHANG, S.; DUAN, X.; SUN, L.; WANG, M. Both galloyl moiety number and molecular flexibility are important to alpha-amylase inhibition by galloyl-based polyphenols. **Food & Function**. (2020).

CASTILHO, A. L.; CALEFFI-FERRACIOLI, K. R.; CANEZIN, P. H.; DIAS SIQUEIRA, V. L.; DE LIMA SCODRO, R. B.; CARDOSO, R. F. Detection of drug susceptibility in rapidly growing mycobacteria by resazurin broth microdilution assay. **Journal of Microbiological Methods**, v. 111, p. 119-121, 2015.

- CASTRO, F. M. D.; ALEXANDRE, A. V.; BATISTA, F. L. A.; SANTOS, S. A. A. R.; MENDES, F. R. D. S.; MONTEIRO MOREIRA, A. C. D. O.; MAGALHÃES, F. E. A.; HONÓRIO JÚNIOR, J. E. R.; CAMPOSA, A. R. Evaluation of the ethanolic extract of *Myconia albicans* (Old Cinnamon) in the alternative model of anxiety in zebrafish. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e50811125048, 2022.
- CELOTTO, A.C.; NAZARIO, D.Z.; SPESSOTO, M.A.; MARTINS, C.H.G.; CUNHA, W.R. Evaluation of the in vitro antimicrobial activity of crude extracts of three *Miconia* species. **Braz J Microbiol.** 2003; v. 34(4), p. 339-40.
- CERRADO Ministério do Meio Ambiente. [2022]. Disponível em: <<https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/ecossistemas-1/biomas/cerrado>>. Acesso em: 10 de jan. de 2024.
- CHAMI, N; BENNIS, S; CHAMI, F; ABOUSSEKHRA, A; REMMAL, A. Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol in vitro and in vivo. **Oral Microbiology Immunology** 2005, v. 20, p. 106–111.
- CHANG, Z.; ZHANG, Q.; LIANG, W.; ZHOU, K.; JIAN, P.; SHE, G.; ZHANG, L. A Comprehensive Review of the Structure Elucidation of Tannins from *Terminalia* Linn. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.** 2019, Article ID 8623909.
- CHAVES, M. H. QUIMICA ORGANICA. **Química Nova**, v. 20, p. 5, 1997.
- CHOPRA, B.; DHINGRA, A. K. Natural products: A lead for drug discovery and development. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 9, p. 4660-4702, 2021.
- CLSI. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved standard** - third edition. CLSI document. 3. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008. p. 27.
- CLSI. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**, in CLSI Document M7-A9. 9 ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012a.
- CLSI **Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. CLSI Document M11-A8.** 8. ed. Wayne, PA: Clinical an Laboratory Standards Institute, 2012b. p.39.
- CORRÊA, J. G.; BIANCHIN, M.; LOPES, A. P.; SILVA, E.; AMES, F. Q.; POMINI, A. M.; CARPES, S. T.; DE CARVALHO RINALDI, J.; CABRAL MELO, R.; KIOSHIMA, E. S.; BERSANI-AMADO, C. A.; PILAU, E. J. 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.
- COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews** 1999. p. 564–582.
- CRAIG, M. E.; JEFFERIES, C.; DABELEA, D.; BALDE, N.; SETH, A.; DONAGHUE, K.C. Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. **Pediatric Diabetes** 2014. 15. 4-17.
- CREVELIN, E. J.; TURATTI, I. C.; CROTTI, A. E.; VENEZIANI, R. C.; LOPES, J. L.; LOPES, N. P.; CUNHA, W. R. Identification of biologically active triterpenes and sterols present in hexane extracts from *Miconia* species using high-resolution gas chromatography. **Biomedical Chromatography.** v. 20, n. 8, p. 827-830, 2006.

- CUNHA, G. O. S.; MATOS, A. P.; BERNARDO, A. R.; MENEZES, A. C. S.; BURGER, M. C. D. M.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, F. Constituintes químicos e atividade inseticida de *Miconia ferruginata*. **Química Nova**, v. 40, n. 10, 2017.
- CUNHA, G. O. S.; CRUZ, D. C.; MENEZES, A. C. S.; An overview of *Miconia* genus: chemical constituents and biological activities. **Pharmacognosy Reviews**. 2019; 13(26):77-88.
- CUNHA, L. C. C.; ANDRADE E SILVA, M. L.; CARDOSO FURTADO, N. A.; VINHÓLIS, A. H.; MARTINS, C. H.; DA SILVA FILHO, A. A.; CUNHA, W. R. Antibacterial activity of triterpene acids and semi-synthetic derivatives against oral pathogens. **Zeitschrift für Naturforschung C A Journal of Biosciences**, v. 62, n. 9-10, p. 668-72, 2007.
- CUNHA, L. C. S.; DE MORAIS, A. L.; AQUINO, F. J. T.; CHANG, R.; OLIVEIRA, A.; MARTINS, M. M.; MARTINS, C. H. G.; SOUSA, LAÍS C. F.; BARROS, T. T.; SILVA, C. V.; NASCIMENTO, E. A. Bioassay-guided fractionation and antimicrobial and cytotoxic activities of *Cassia bakeriana* extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia (Impresso)**, v. 27, p. 91-98, 2017.
- CUNHA, W. R.; CREVELIN, E. J.; ARANTES, G. M.; CROTTI, A. E.; ANDRADE ESILVA, M. L.; FURTADO, N. A.; ALBUQUERQUE, S.; FERREIRAD.S. A study of the trypanocidal activity of triterpene acids isolated from *Miconia* species. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 6, p. 474-478, 2006.
- CUNHA, W. R.; DE MATOS, G. X.; SOUZA, M. G.; TOZATTI, M. G.; ANDRADE ESILVA, M. L.; MARTINS, C. H.; DA SILVA, R.; DA SILVA FILHO, A. A. Evaluation of the antibacterial activity of the methylene chloride extract of *Miconia ligustroides*, isolated triterpene acids, and ursolic acid derivatives. **Pharmaceutical Biology**, v.48, n. 2, p. 166-169, 2010.
- CUNHA, W. R.; DOS SANTOS, F. M.; PEIXOTO, J. D. A.; VENEZIANI, R. C. S.; CROTTI, A. E. M.; SILVA, M. L. A.; FILHO, A. A. D. S.; ALBUQUERQUE, S.; TURATTI, I. C. C.; BASTOS, J. K. Screening of plant extracts from the Brazilian Cerrado for their *in vitro* trypanocidal activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, n. 8, p. 744-749, 2009.
- DA COSTA SILVA, T.; JUSTINO, A. B.; PRADO, D. G.; KOCH, G. A.; MARTINS, M. M.; DE SOUZA SANTOS, P.; MORAIS, S. A. L.; GOULART, L. R.; CUNHA, L. C. S.; SOUSA, R. M. F.; ESPINDOLA, F. S.; DE OLIVEIRA, A. Chemical composition, antioxidant activity and inhibitory capacity of α -amylase, α -glucosidase, lipase and non-enzymatic glycation, *in vitro*, of the leaves of *Cassia bakeriana* Craib. **Industrial crops and products**, v. 140, p. 111641, 2019.
- DE LA ROSA, L. A.; MORENO-ESCAMILLA, J. O.; RODRIGO-GARCÍA, J.; ALVAREZ-PARRILLA, E. Phenolic compounds. **Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables**. 2019, p. 253-271
- DESMET, S.; MORREEL, K.; DAUWE, R. Origin and function of structural diversity in the plant specialized metabolome. **Plants**, v. 10, n. 11, p. 2393, 2021.
- DEVECI, E.; ÇAYAN, F.; TEL-ÇAYAN, G.; DURU, M. E. Inhibitory activities of medicinal mushrooms on α -amylase and α -glucosidase-enzymes related to type 2 diabetes. **South African Journal of Botany**, v. 137, p. 19-23, 2021.

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303-336, 2012.

DI STEFANO, E.; OLIVIERO, T.; UDENIGWE, C. C. Functional significance and structure–activity relationship of food-derived α -glucosidase inhibitors. **Current Opinion in Food Science**, v. 20, p. 7-12, 2018.

Diabetes Atlas. 10ª edição. 2021. International Diabetes Federation. Disponível em: <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>

Drug-resistant infections: a threat to our economic future. Washington, D.C.: World Bank; 2017. License: Creative Commons Attribution CC BY 3.0 IGO. Disponível em: <http://documents.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/final-report>.

EERTMANS, F.; BOGAERT, V.; VAN POECKE, T.; PUYPE, B. An Improved neutral α -glucosidase assay for assessment of epididymal function—validation and comparison to the WHO method. **Diagnostics**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2014.

ELSHIKH, M.; AHMED, S.; FUNSTON, S.; DUNLOP, P.; MCGAW, M.; MARCHANT, R.; BANAT, I. M. Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. **Biotechnology Letters**, v. 38, p. 1015-1019, 2016.

FAI, P. B.; GRANT, A. A rapid resazurin bioassay for assessing the toxicity of fungicides. **Chemosphere**, v. 74, n. 9, p. 1165-1170, 2009.

FERREIRA, F.; LIMA, A.; FERREIRA, R. G.; PIVARI, M. Levantamento de plantas medicinais e do conhecimento etnobotânico no município de Baependi, Minas Gerais, Brasil. **MGBiota**, v. 5, p. 4-26, 2013.

FERREIRA, L. K. N.; PEDROSO, N. A.; OLIVEIRA, J. R.; ANTIQUEIRA, L. M. O. R. Plantas medicinais do cerrado dos campos gerais. **Biodiversidade Brasileira**, v. 12, n. 1, p. 309-317, 2020.

FERREIRA, T. S.; MOREIRA, C. Z.; CÁRIA, N. Z.; VICTORIANO, G.; SILVA JR, W. F.; MAGALHÃES, J. C. Phytotherapy: an introduction to its history, use and application. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 2, p. 290-298, 2014.

FRACASSETTI, D; COSTA, C; MOULAY, L; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry** 139 (2013) 578–588.

GAFFI - Global Action Fund for Fungal Infections. [2023]. Disponível em: <https://www.gaffi.org/>.

GALLEGO-JARA, J.; LOZANO-TEROL, G.; SOLA-MARTÍNEZ, R. A.; CÁNOVAS-DÍAZ, M.; DE DIEGO PUENTE, T. A Compressive review about Taxol®: history and future challenges. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 24, p. 1-24, 2020.

GANDHI, S. R.; GANDHI, G. R.; ANTONY, P. J.; HILLARY, V. E.; CEASAR, S. A.; HARIHARAN, G.; LIU, Y.; GURGEL, R. Q.; QUINTANS, J. D. S. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Health functions and related molecular mechanisms of *Miconia* genus: A systematic review. **Heliyon**, v. 9, n. 3, p. e14609, 2023.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; YOSHIDA, N. C.; FIGUEIREDO, P. O.; A diversidade dos constituintes químicos da flora de Mato Grosso do Sul e sua relevância como fonte de substâncias bioativas. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 97-129, 2016.

GARCÍA, A. Á.; CARRIL, E. P.-U. Metabolismo secundário de plantas. **REDUCA (Biologia)**, v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

GATIS-CARRAZZONI, A. S. S. G.; MOTA, F.V.B.; LEITE, T.C.C.; OLIVEIRA, T.B.; SILVA, S.C.; BASTOS, I.V.A.; MAIA, M.B.S.; PEREIRA, P.S.; NETO, P.P.M.; CHAGAS, E.C.O.; SILVA, T.M.S.; NASCIMENTO, M.S.; SILVA, T.G. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the leaf metanol extract of *Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC. and characterization of compounds by UPLC-DAD-QTOF-MS/MS. **Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature** 2018.

Geneva: World Health Organization; 2019. Ten threats to global health in 2019. (<https://www.who.int/news-room/spotlight/ten-threats-to-globalhealth-in-2019>).

Global action plan on antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization; 2015 (Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763>).

Global Biodiversity Outlook 5, 2020. **Secretariat of the Convention on Biological Diversity**. Montreal.

GNOATTO, S; BASSANI, V; COELHO, G.; SCHENKEL, E. Influência do método de extração nos teores de metil xantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* a. St.-Hil., aquifoliaceae). **Quím. Nova** 30 (2). Abr 2007.

GOLDENBERG, R.; BACCI, L. F.; CADDAH, M. K.; MEIRELLES, J. *Miconia* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [2023]. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB9666>>. Acesso em: 19 ago. 2023.

GOLDENBERG, R.; BAUMGRATZ, J.F.A.; SOUZA, M.L.D.R.; 2012. Taxonomia de Melastomataceae no Brasil: retrospectiva, perspectivas e chave de identificação para os gêneros. **Rodriguésia** 63: 145-161.

GOMES, L.; MARTINS, D.; SILVA, S.; BARROS, Y.; SOUZA, P.; FREITAS, M.; FAGG, C.; SIMEONI, L.; MAGALHÃES, P.; SILVEIRA, D.; FONSECA, Y. Biological properties and phytochemical characterization from *Miconia chamissois* Naudin aqueous extract. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, v.20, p. 427-442, 2021.

GOMES, R. B. D. A.; DE SOUZA, E. S.; GERHARDT BARRAQUI, N. S.; TOSTA, C. L.; NUNES, A. P. F.; SCHUENCK, R. P.; RUAS, F. G.; VENTURA, J. A.; FILGUEIRAS, P. R.; KUSTER, R. M. Residues from the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolia* Raddi) processing industry: Chemical profile and antimicrobial activity of extracts against hospital bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 143, p. 111430, 2020.

GONTIJO, D. C.; GONTIJO, P. C.; BRANDÃO, G. C.; DIAZ, M. A. N.; DE OLIVEIRA, A. B.; FIETTO, L. G.; LEITE, J. P. V. Antioxidant study indicative of antibacterial and antimitogenic activities of an ellagitannin-rich aqueous extract from the leaves of *Miconia latecrenata*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 236, p. 114-123, 2019.

GOUVEIA, N. M. D.; ALBUQUERQUE, C. L. D.; ESPINDOLA, L. S.; ESPINDOLA, F. S. *Pouteria ramiflora* extract inhibits salivary amylolytic activity and decreases glycemc level in mice. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 85, p. 1141-1148, 2013.

GOUVEIA, S. C.; CASTILHO, P. C. Characterization of phenolic compounds in *Helichrysum melaleucum* by high-performance liquid chromatography with on-line ultraviolet and mass spectrometry detection. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.24, n. 13, p. 1851-1868, 2010.

GUGLIUCCI, A. Formation of fructose-mediated advanced glycation end products and their roles in metabolic and inflammatory diseases. **Advances in Nutrition**, v. 8, n. 1, p. 54-62, 2017.

GULDBRANDSEN, N.; DE MIERI, M.; GUPTA, M.; SEISER, T.; WIEBE, C.; DICKHAUT, J.; REINGRUBER, R.; SORGENFREI, O.; HAMBURGER, M. Screening of panamanian plant extracts for pesticidal properties and HPLC-based identification of active compounds. **Scientia Pharmaceutica**, v. 83, n. 2, p. 353-367, 2015.

GUNATILAKA, A. A. L.; BERGER, J. M.; EVANS, R.; MILLER, J. S.; WISSE, J. H.; NEDDERMANN, K. M.; BURSUKER, I.; KINGSTON, D. G. I. Isolation, Synthesis, and Structure–Activity Relationships of Bioactive Benzoquinones from *Miconia lepidota* from the Suriname Rainforest. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 1, p. 2-5, 2001.

HAMZA, S. A.; ASIF, S.; KHURSHID, Z.; ZAFAR, M. S.; BOKHARI, S. A. H. Emerging role of epigenetics in explaining relationship of periodontitis and cardiovascular diseases. **Diseases**, v. 9, n. 3, 2021.

HARVEY, A. L. Natural products in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 13, n. 19, p. 894-901, 2008.

HUI, X.; WU, G.; HAN, D.; STIPKOVITS, L.; WU, X.; TANG, S.; BRENNAN, M. A.; BRENNAN, C. S. The effects of bioactive compounds from blueberry and blackcurrant powders on the inhibitory activities of oat bran pastes against α -amylase and α -glucosidase linked to type 2 diabetes. **Food research international**, v. 138, p. 109756, 2020.

IDF Clinical Practice Recommendations for Managing Type 2 Diabetes in Primary Care. International Diabetes Federation; 2019. Disponível em: <https://www.idf.org/e-library/guidelines/128-idf-clinical-practice-recommendations-for-managing-type-2-diabetes-in-primary-care.html>).

IGHODARO, O. M. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 656-662, 2018.

JOHANSEN, J. S.; HARRIS, A. K.; RYCHLY, D. J.; ERGUL, A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. **Cardiovascular diabetology**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2005.

JUSTINO, A. B.; DE MOURA, F. R. B.; FRANCO, R. R.; ESPINDOLA, F. S. α -Glucosidase and non-enzymatic glycation inhibitory potential of *Eugenia dysenterica* fruit pulp extracts. **Food Bioscience**, v. 35, p. 100573, 2020.

JUSTINO, A. B.; MIRANDA, N. C.; FRANCO, R. R.; MARTINS, M. M.; SILVA, N. M. D.; ESPINDOLA, F. S. *Annona muricata* Linn. leaf as a source of antioxidant compounds with in vitro antidiabetic and inhibitory potential against α -amylase, α -glucosidase, lipase, non-

enzymatic glycation and lipid peroxidation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 100, p. 83-92, 2018.

JUSTINO, A. B.; SANTANA, E. C.; FRANCO, R. R.; QUEIROZ, J. S.; SILVA, H. C. G.; JÚNIOR, J. P. DE LIMA; SARAIVA, A. L.; MARTINS, M. M.; LEMOS DE MORAIS, S. A.; DE OLIVEIRA, A.; FILHO, L. R. G.; AQUINO, F. J. T.; ESPINDOLA, F. S. Antioxidant compounds of *Kielmeyera coriacea* Mart. with α -amylase, lipase and advanced glycation end-product inhibitory activities. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 206, p. 114387, 2021.

KABERA, J. N.; SEMANA, E.; MUSSA, A. R.; HE, X. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 2, n. 7, p. 377-392, 2014.

KANG, Q.; YANG, C. Oxidative stress and diabetic retinopathy: Molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. **Redox Biology**, p. 101799, 2020.

KHAN, M.; LIU, H.; WANG, J.; SUN, B. Inhibitory effect of phenolic compounds and plant extracts on the formation of advance glycation end products: A comprehensive review. **Food research international**, v. 130, p. 108933, 2020.

KHAN, R. A. Natural products chemistry: The emerging trends and prospective goals. **Saudi pharmaceutical journal**, 2018.

KRENTZ, A. J.; BAILEY, C. J. Oral Antidiabetic Agents. **Drugs**, v. 65, n. 3, p. 385-411, 2005.

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

LAM, K. S. New aspects of natural products in drug discovery. **Trends in Microbiology**, v. 15, n. 6, p. 279-289, 2007.

LEE, J.; YUN, J.-S.; KO, S.-H. Advanced glycation end products and their effect on vascular complications in type 2 diabetes mellitus. **Nutrients**, v. 14, n. 15, p., 2022.

LI, X.C.; JACOB, M.R.; PASCO, D.S.; ELSOHLY, H.N.; NIMROD, A.C.; WALKER, L.A.; CLARK, A.M. Phenolic compounds from *Miconia myriantha* inhibiting candida aspartic proteases. **Journal of Natural Products**. 2001;64(10):1282-5.

LIMA, D. M. D. **Análise da Composição Química e Atividades Antioxidante e Antimicrobiana dos Extratos da Espécie *Lafoensia Replicata* Pohl e Avaliação da Eficácia como Conservantes em Cosméticos**. 2023. 121 f. Dissertação (Mestre) -Instituto de Química Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2023.

LIMA, R. C. L.; KONGSTAD, K. T.; KATO, L.; SILVA, M. J.; FRANZYK, H.; STAERK, D. 2018. Highresolution PTP1B inhibition profiling combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR for identification of PTP1B inhibitors from *Miconia albicans*. **Molecules** 23, 1–13.

LIMA, T. C.; MATOS, S. S.; CARVALHO, T. F.; SILVEIRA-FILHO, A. J.; COUTO, L. P. S. M.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; QUINTANS, J. S. S.; SILVA, A. M. O.; HEIMFARTH, L.; PASSOS, F. R. S.; GANDHI, S. R.; LIMA, B. S. 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.

LIPÍŃSKA, L.; KLEWICKA, E.; SÓJKA, M. The structure, occurrence and biological activity of ellagitannins: a general review. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**. Issue 13 (3) 2014 pp. 289-299.

LIU, W.; MA, H.; FROST, L.; YUAN, T.; DAIN, J. A.; SEERAM, N. P. Pomegranate phenolics inhibit formation of advanced glycation end products by scavenging reactive carbonyl species. **Food & Function**, v. 5, n. 11, p. 2996-3004, 2014.

MA, H.; LIU, W.; FROST, L.; WANG, L.; KONG, L.; DAIN, J. A.; SEERAM, N. P. The hydrolyzable gallotannin, penta-O-galloyl- β -D-glucopyranoside, inhibits the formation of advanced glycation end products by protecting protein structure. **Molecular BioSystems**, v. 11, n. 5, p. 1338-1347, 2015.

MACARI, P. A. T.; EMERENCIANO, V. D. P.; FERREIRA, Z. M. G. S. Identificação dos Triterpenos de *Miconia albicans* Triana Através de Análise por Microcomputador. **Química Nova**, v. 13, n. 4, p. 260-262, 1990.

Manual MSD. Disponível em: “<https://www.msdmanuals.com/pt-br/casa>”. Acesso: 09/07/2023.

MEDEIROS, J. D.; KANIS, L. A. Avaliação do efeito de polietileno glicóis 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.

MENA, P.; CALANI, L.; CHIARA D. A.; GIANNI, G.; GARCIA-VIGUERA, C.; BRUNI, R.; CROZIER, A.; DEL RIO, D. Rapid and comprehensive evaluation of (poly)phenolic compounds in pomegranate (*Punica granatum* L.) juice by UHPLC-MSn. **Molecules** 2012, 17, 14821-14840.

MENEZES FILHO, A.C.P., VENTURA, M.V.A., CASTRO, C.F.S., SOARES, F.A.L., FAVARETO, R., TAQUES, A.S., TEIXEIRA, M.B. Prospecção fitoquímica, físico-química e atividades biológicas do extrato etanólico floral de *Miconia chamissois* Naudin (Melastomataceae). **Hoehnea** 49: e502021.

MESSEDER, J. V. S.; SILVEIRA, F. A. O.; CORNELISSEN, T. G.; FUZESSY, L. F.; GUERRA, T. J. Frugivory and seed dispersal in a hyperdiverse plant clade and its role as a keystone resource for the Neotropical fauna. **Annals of Botany**, v. 127, n. 5, p. 577-595, 2020.

MMA - Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima. [2023]. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>>. Acesso em: 19 jun. 2023.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P. D.; ARAÚJO, E. D. L.; AMORIM, E. L. C. D. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, p. 892-896, 2005.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 1-30, 2021.

MURRAY, C.J.; IKUTA, K.S.; SHARARA, F.; SWETSCHINSKI, L.; ROBLES, A.G. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **Lancet**. 2022; 399: 629-55.

Nações Unidas Brasil. Disponível em: “<https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>”. Acesso: 25/07/2023.

- NAJMI, A.; JAVED, S. A.; AL BRATTY, M.; ALHAZMI, H. A. Modern approaches in the discovery and development of plant-based natural products and their analogues as potential therapeutic agents. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 27, n. 2, p. 1-26, 2022.
- NANDA, S.; MADAN, K. The role of Safranal and saffron stigma extracts in oxidative stress, diseases and photoaging: A systematic review. **Heliyon**, v. 7, n. 2, p. e06117, 2021.
- NAWAZ, H.; SHAD, M. A.; REHMAN, N.; ANDALEEB, H.; ULLAH, N. Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. 2020.
- NENNA, A.; NAPPI, F.; AVTAAR SINGH, S. S.; SUTHERLAND, F. W.; DI DOMENICO, F.; CHELLO, M.; SPADACCIO, C. Pharmacologic approaches against advanced glycation end products (AGEs) in diabetic cardiovascular disease. **Research in Cardiovascular Medicine**. v. 4, n. 2, p. e26949, 2015.
- 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.
- NINKUU, V.; ZHANG, L.; YAN, J.; FU, Z.; YANG, T.; ZENG, H. Biochemistry of terpenes and recent advances in plant protection. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 1-22, 2021.
- OLIVEIRA, D. M.; SILVA, T. F. R.; MARTINS, M. M.; DE MORAIS, S. A. L.; CHANG, R.; DE AQUINO, F. J. T.; DA SILVA, C. V.; TEIXEIRA, T. L.; MARTINS, C. H. G.; MORAES, T. S.; CUNHA, L. C. S.; PIVATTO, M.; DE OLIVEIRA, A. Antifungal and cytotoxicity activities of *Banisteriopsis argyrophylla* leaves. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70, Issue 11, 2018, p. 1541–1552.
- OLIVEIRA, D. S.; LIMA, L. S.; ANTONIO, A. S.; WIEDEMANN, L. S. M.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Perfil metabólico dos extratos polares das folhas, galhos e cascas de *Copaifera multijuga hayne* (copaíba mari-mari da amazônia) por ESI-EM. **Quim. Nova**, Vol. 43, No. 1, 72-77, 2020.
- OLIVEIRA, T. B. D. Estudo farmacológico e da toxicidade (aguda e subcrônica) das folhas de *Miconia prasina* (sw.) dc. em roedores. 2017. 147 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco Recife, 2017.
- OMS – Organização Mundial da Saúde. Disponível: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso: 17/07/2023.
- ORTÍZ-MARTINEZ, D. M.; RIVAS-MORALES, C.; DE LA GARZA-RAMOS, M. A.; VERDE-STAR, M. J.; NUÑEZ-GONZALEZ, M. A.; LEOS-RIVAS, C. *Miconia* sp. increases mRNA levels of PPAR gamma and inhibits alpha amylase and alpha glucosidase. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, p. 1-7, 2016.
- OZEKER, E. Phenolic compounds and their importance. **Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute**, v. 9, p. 114-124, 1999.
- PAWLUKIANIEC, C.; GRYCIUK, M. E.; MIL, K. M.; ŻENDZIAN-PIOTROWSKA, M.; ZALEWSKA, A.; MACIEJCZYK, M. A new insight into meloxicam: assessment of antioxidant and anti-glycating activity in in vitro studies. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 9, p. 240, 2020.

PENG, X.; CHENG, L.; YOU, Y.; TANG, C.; REN, B.; LI, Y.; XU, X.; ZHOU, X. Oral microbiota in human systematic diseases. **International Journal of Oral Science**, v. 14, n. 1, p. 14, 2022.

PIANALTO, K.; ALSPAUGH, J. New horizons in antifungal therapy. **Journal of Fungi**, v. 2, n. 4, p. 1-24, 2016.

PIERONI, L. G.; DE REZENDE, F. M.; XIMENES, V. F.; DOKKEDAL, A. L. Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of *Miconia albicans* (Sw.) Triana leaves. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 16, n. 11, p. 9439-9450, 2011.

PISOSCHI, A. M.; POP, A.; IORDACHE, F.; STANCA, L.; PREDOI, G.; SERBAN, A. I. Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status. **European Journal of Medicinal Chemistry**, p. 112891, 2020.

PIWOWAR, A.; RORBACH-DOLATA, A.; FECKA, I. The Antglycoxidative ability of selected phenolic compounds-an in vitro study. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 24, n. 15, p. 2-21, 2019.

PIZZO, G.; GUIGLIA, R.; RUSSO, L. L.; CAMPISI, G. Dentistry and internal medicine: from the focal infection theory to the periodontal medicine concept. **European Journal of Internal Medicine**, v. 21, n. 6, p. 496-502, 2010.

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**, v. 10, n. 835, 2019.

PRESTINACI, F.; PEZZOTTI, P.; PANTOSTI, A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. **Pathogens and Global Health**, v. 109, n. 7, p. 309-18, 2015.

PRATYUSHA, S. phenolic compounds in the plant development and defense: an overview. In: HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K. Plant Stress Physiology - **Perspectives in Agriculture**, London: IntechOpen, 2022. Cap. 7, p. 1-17.

PRIOR, R. L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M.; HUANG, D.; OU, B.; JACOB, R. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 11, p. 3273-3279, 2003.

PROCHÁZKOVÁ, D.; BOUŠOVÁ, I.; WILHELMOVÁ, N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**, v. 82, n. 4, p. 513-523, 2011.

QUARESMA, D. M. O.; JUSTINO, A. B.; SOUSA, R. M. F.; MUNOZ, R. A. A.; DE AQUINO, F. J. T.; MARTINS, M. M.; GOULART, L. R.; PIVATTO, M.; ESPINDOLA, F. S.; DE OLIVEIRA, A. Antioxidant compounds from *Banisteriopsis argyrophylla* leaves as α -amylase, α -glucosidase, lipase, and glycation inhibitors. **Bioorganic chemistry**, v. 105, p. 104335, 2020.

QUATRIN, A. Casca de jabuticaba: metabolização e implicações na prevenção das complicações do diabetes. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria - RS. 2019.

- QUEIROZ, G.; SOUZA, M. G.; CARVALHO, T.; CASEMIRO, L.; CUNHA, W.; MARTINS, C. Absence of the antibacterial activity of the crude extracts and compounds isolated from *M. rubiginosa* against extended-spectrum β -lactamase producing enterobacteria. **Journal of Pharmaceutical Negative Results**, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2011.
- QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; GANDHI, S.R.; PASSOS, F.R.S.; HEIMFARTH, L.; PEREIRA, E.W.M.; MONTEIRO, B. S.; SANTOS, K. S.; DUARTE, M.C.; ABREU, L.S.; NASCIMENTO, Y.M.; TAVARES, J.F.; SILVA, M.S.; MENEZES, I.R.A.; COUTINHO, H.D.M.; LIMA, A.A.N. Gokhan Zenging, Quintans, J.S.S. Dereplication and quantification of the ethanol extract of *Miconia albicans* (Melastomaceae) by HPLC-DAD-ESI-/MS/MS, and assessment of its anti hyperalgesic and anti-inflammatory profiles in a mice arthritis-like model: Evidence for involvement of TNF- α , IL-1 β and IL-6. **Journal of Ethnopharmacology** 258, 2020.
- RABBANI, N.; THORNALLEY, P. J. Advanced glycation end products in the pathogenesis of chronic kidney disease. **Kidney International**, v. 93, n. 4, p. 803-813, 2018.
- RAZZAGHI-ABYANEH; Mehdi, RAI. Mahendra. Antifungal Metabolites from Plants. **New York: Springer**, 2013.
- RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T.; Fitofisionomias do bioma cerrado. **Embrapa Cerrados**. 1998.
- RIBEIRO, R. V.; BIESKI, I. G. C.; BALOGUN, S. O.; MARTINS, D. T. D. O. Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion, Mato Grosso, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 205, p. 69-102, 2017.
- RIOS, J. L.; FRANCINI, F.; SCHINELLA, G. Natural Products for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. **Planta Medica**, v. 81, n., p. 975–994, 2015.
- RISPAIL, N., MORRIS, P. & WEBB, K. (2005). Phenolic compounds: extraction and analysis. **Lotus Japonicus Handbook** (edited by A. Márquez). p. 349–354. Berlin: Springer.
- RODRIGUES, A. R. M. Produtos Naturais na Descoberta de Fármacos, Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2018.
- RODRIGUES, J.; MICHELIN, D.C.; RINALDO, D.; ZOCOLO, G.J.; SANTOS, L.C.; VILEGAS, W.; Antimicrobial activity of *Miconia* species (Melastomataceae). **Journal of Medicinal Food**. 2008;11(1):120-6.
- RODRIGUES, J.; RINALDO, D.; DOS SANTOS, L. C.; VILEGAS, W. An unusual C6–C6'' linked flavonoid from *Miconia cabucu* (Melastomataceae). **Phytochemistry**, v. 68, n. 13, p. 1781-1784, 2007.
- RODRIGUES, J.; RINALDO, D.; SILVA, M.; SANTOS, L.; VILEGAS, W. Secondary metabolites of *Miconia rubiginosa*. **Journal of Medicinal Food**., v. 14, n. 7/8, p. 834-839, 2011.
- RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande-Minas Gerais. **Ciência Agrotec**. 2001; 25(1):102-24.

ROSA W. Bioprospecção da espécie *Miconia willdenowii* visando a obtenção de substâncias com potencial antichagásico [dissertação] Alfenas (MG): Universidade Federal de Alfenas. 2015;1-74.

SAKNA, S.T.; MOCAN, A.; SULTANI, H.N.; EL-FIKY, N.M.; WESSJOHANN, L.A.; FARAG, M.A.; Metabolites profiling of *Ziziphus* leaf taxa via UHPLC/PDA/ESI-MS in relation to their biological activities. **Food Chemistry** 293, 2019, 233–246.

SANTOS *et al.* Atividades biológicas de *Miconia* spp. Ruiz & Pavon (Melastoma taceae Juss.). **Gaia Scientia**, v. 11, n. 1, 157-170, 2017.

SANTOS, G. C. D. O.; VASCONCELOS, C. C.; LOPES, A. J. O.; DE SOUSACARTÁGENES, M. D.S.; FILHO, A. K. D. B.; DO NASCIMENTO, F. R. F.; RAMOS, R. M.; PIRES, E. R. R. B.; DEANDRADE, M. S.; ROCHA, F. M. G.; DE ANDRADE MONTEIRO, C. *Candida* infections and therapeutic strategies: mechanisms of action for traditional and alternative agents. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p.1351, 2018.

SANTOS, S. T. V.; TEIXEIRA, R. R.; FRANCO, D. L.; MADURRO, J. M.; BRITO-MADURRO, A. G.; ESPINDOLA, F. S. Bioelectrode for detection of human salivary amylase. **Materials Science and Engineering**, v. 32, n. 3, p. 530-535, 2012.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R.; Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J.C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P.R. (org.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: **Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC**, Capítulo 15, p. 301-332, 2001.

SHAHZAD, M., MILLHOUSE, E., CULSHAW, S., EDWARDS, C. A., RAMAGE, G., & COMBET, E. (2015). Selected dietary (poly)phenols inhibit periodontal pathogen growth and biofilm formation. **Food & Function**, 6(3), 719–729.

SERRANO, J.; PUUPPONEN-PIMIA, R.; DAUER, A.; AURA, AM.; SAURA-CALIXTO, F. (2009). Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Mol. Nutr.* **Food. Res.** 53 Suppl. 2: S310-329.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v.18, p. 757-781, 2015.

SILVA, T. COSTA. Estudo químico e avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e antidiabética de espécies de *Miconia* (MELASTOMATACEAE). Tese (Doutor) -Instituto de Química Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2023.

SILVA, V. B. D.; ALMEIDA-BEZERRA, J. W.; COSTA, A. R.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; DE OLIVEIRA, M. G.; PINHEIRO, A. A. V.; SAMPAIO, R. S. L.; CASTRO, J. W. G.; DOS SANTOS, M. A. F.; ULISSES, V. R. D. A.; PEREIRA, M. E. D. S. S.; SOUZA, D. L. D. The Genus *Miconia* Ruiz & Pav. (Melastomataceae): Ethnomedicinal Uses, Pharmacology, and Phytochemistry. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 27, n. 13, p. 4132, 2022

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

SIMPSON, M. G. Diversity and classification of flowering plants: eudicots. In: SIMPSON, M. G. **Plant Systematics** 2ed. San Diego: Academic Press, 2010. Cap. 8, p. 275-448.

- SINGH, A.; BAJPAI, V.; KUMAR, S.; SHARMA, K. R.; KUMAR, B. Profiling of gallic and ellagic acid derivatives in different plant parts of *Terminalia arjuna* by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS. **Natural Product Communications**. (2016) Vol. 11. No. 2. 239 – 244.
- SONG, Q.; LIU, J.; DONG, L.; WANG, X.; ZHANG, X. Novel advances in inhibiting advanced glycation end product formation using natural compounds. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 140, p. 111750, 2021.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: **Embrapa Amazonia Oriental**, 2002, 260.
- SOUZA, P. M. D.; SALES, P. M. D.; SIMEONI, L. A.; SILVA, E. C.; SILVEIRA, D.; MAGALHÃES, P. D. O. Inhibitory activity of α -amylase and α -glucosidase by plant extracts from the brazilian cerrado. **Planta Medica**, v. 78, n. 4, p. 393-399, 2012.
- SOUZA, P. M. D. Application of microbial α -amylase in industry-A review. **Brazilian journal of microbiology**, v. 41, n. 4, p. 850-861, 2010.
- SOUSA, S. R.; ALBUQUERQUE, L. B.; SOUSA, A. C.; PACHÊCO, B. S.; MALAQUIAS, J.; AQUINO, F. G. Enraizamento de estacas de *Miconia* (Melastomataceae): alternativa para produção de mudas para a restauração ecológica. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 10, n. 3, 152-158, 2015.
- SPAMPINATO, C.; LEONARDI, D. *Candida* infections, causes, targets, and resistance mechanisms: traditional and alternative antifungal agents. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1-13, 2013.
- SPESSOTO, M. A.; D.S. FERREIRA, CROTTI, A.E.M.; SILVA, M.L.A.; CUNHA, W.R. Evaluation of the analgesic activity of extracts of *Miconia rubiginosa* (Melastomataceae), **Phytomedicine** 10 (2003) 606–609.
- SRI HARSHA, P. S. C.; LAVELLI, V.; SCARAFONI, A. Protective ability of phenolics from white grape vinification by-products against structural damage of bovine serum albumin induced by glycation. **Food Chemistry**, v. 156, p. 220-226, 2014.
- STALCUP, M. M. Plantas de uso medicinal ou ritual numa feira livre no Rio de Janeiro, Brasil. 2000. 212 f. Dissertação (Mestre) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000.
- SUBRAMANIAN, R.; ASMAWI, M.; SADIKUN, A. In vitro α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. **Acta Biochimica Polonica**, v. 55, n. 2, p. 391-398, 2008.
- SUN, L.; WARREN, F.J.; GIDLEY, M. J. Natural products for glycaemic control: Polyphenols as inhibitors of alpha-amylase. **Trends in Food Science & Technology**, v. 91, p.262-273, 2019.
- SUN, L.; WANG, Y.; MIAO, M. Inhibition of α -amylase by polyphenolic compounds: Substratedigestion, binding interactions and nutritional intervention. **Trends in Food Science & Technology**, v. 104, p. 190-207, 2020.
- SUNDARAM, R.S.; RAMANATHAN, M.; RAJESH, R.; SATHEESH, B.; SARAVANAN, D. LC-MS quantification of rosmarinic acid and ursolic acid in the ocimum sanctum linn. Leaf extract (**HOLY BASIL, TULSI**). 2013.

SÜNTAR, I. Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, n. 5, p. 1199-1209, 2019.

The Nature Conservancy. Disponível em: “<https://www.tnc.org.br/conecte-se/comunicacao/noticias/tnc-na-cop-15/>” Acesso em 25/07/2023.

THILAGAM, E.; PARIMALADEVI, B.; KUMARAPPAN, C.; MANDAL, S. C. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activity of *Senna surattensis*. **Journal of Acupuncture and Meridian Studies**, v. 6, n. 1, p. 24-30, 2012.

TOMA, A.; MAKONNEN, E.; MEKONNEN, Y.; DEBELLA, A.; ADISKWAATTANA, S. Intestinal α -glucosidase and some pancreatic enzymes inhibitory effect of hydroalcoholic extract of *Moringa stenopetala* leaves. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 180, p. 1-5, 2014.

TORRES, N.; XAVIER, J.; GOULART, M.; ALVES, R.; FREITAS, R. The Chemistry of Advanced Glycation End-products. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 2, p. 375-392, 2018.

TORSSELL, K. B. G.; Natural Product Chemistry: A mechanistic, biosynthetic and ecological approach (2 ed.), **Apotekarsocieteten-Swedish Pharmaceutical Society**: Stockholm, 1997.

TRACANNA, M.I.; AMANI, S.M.; ROMANO, E.; RASCHI, A.B.; MOLINA, L.R.H.; PIRO, O.E. Crystal structure, spectroscopic properties and antimicrobial activity of 4H-1-Benzopyran-4-one, 5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-6, 8-dimethyl from *Miconia ioneura* Griseb. **Mol Med Chem**. 2010; 21:94-104.

TUNDIS, R.; LOIZZO, M. R.; MENICHINI, F. Natural products as alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 315-331, 2010.

ULLOA ULLOA, C.; ALMEDA, F.; GOLDENBERG, R.; KADEREIT, G.; MICHELANGELI, F. A.; PENNEYS, D. S.; STONE, R. D.; VERANSO-LIBALAH, M. C. Melastomataceae: Global Diversity, Distribution, and Endemism. In: GOLDENBERG, R. et al. **Systematics, Evolution, and Ecology of Melastomataceae**, Cham: Springer International Publishing, 2022. Cap. 1, p. 3-28.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Academia Brasileira de Ciências**. 2018.

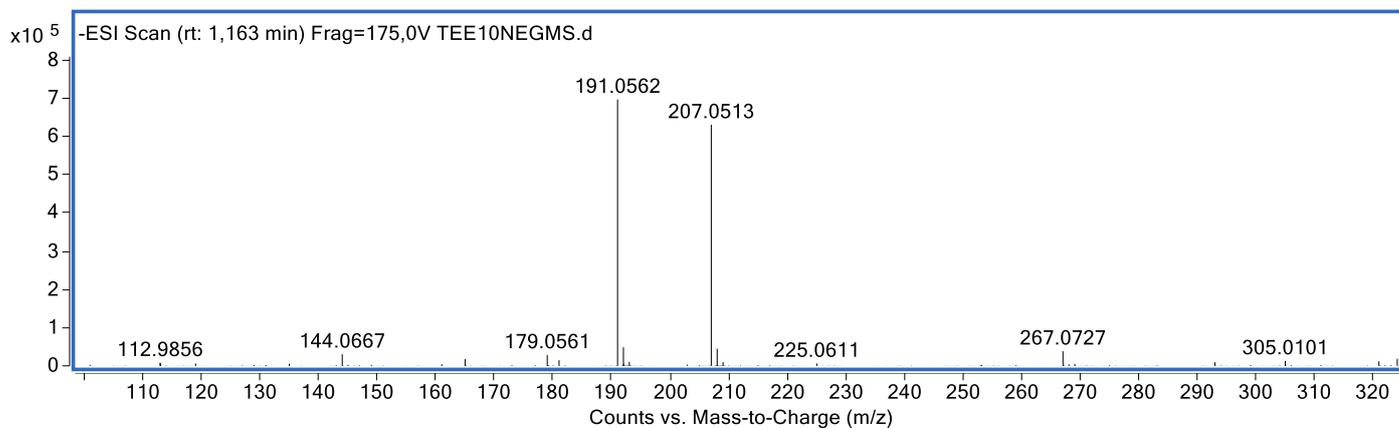
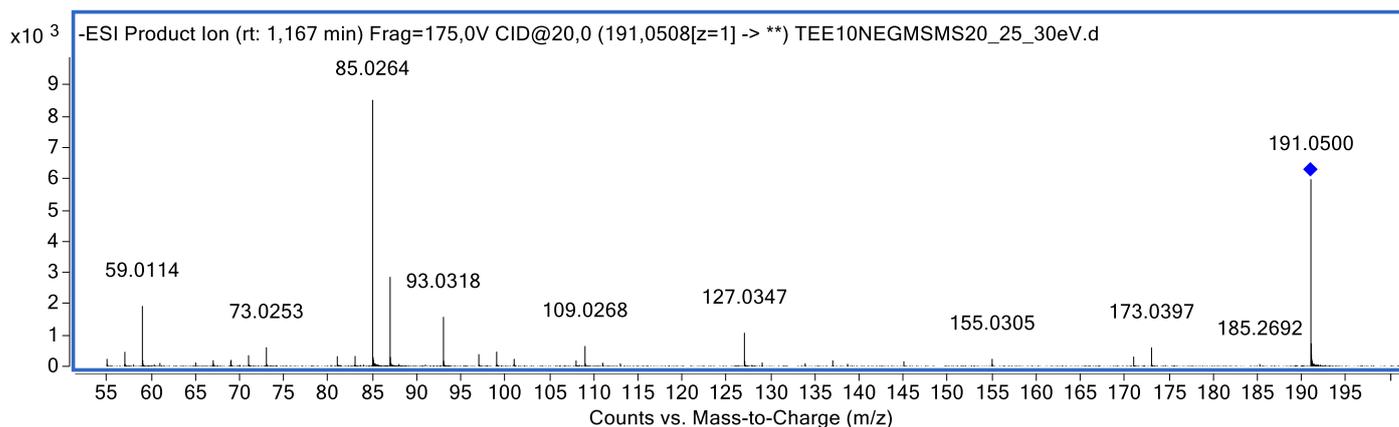
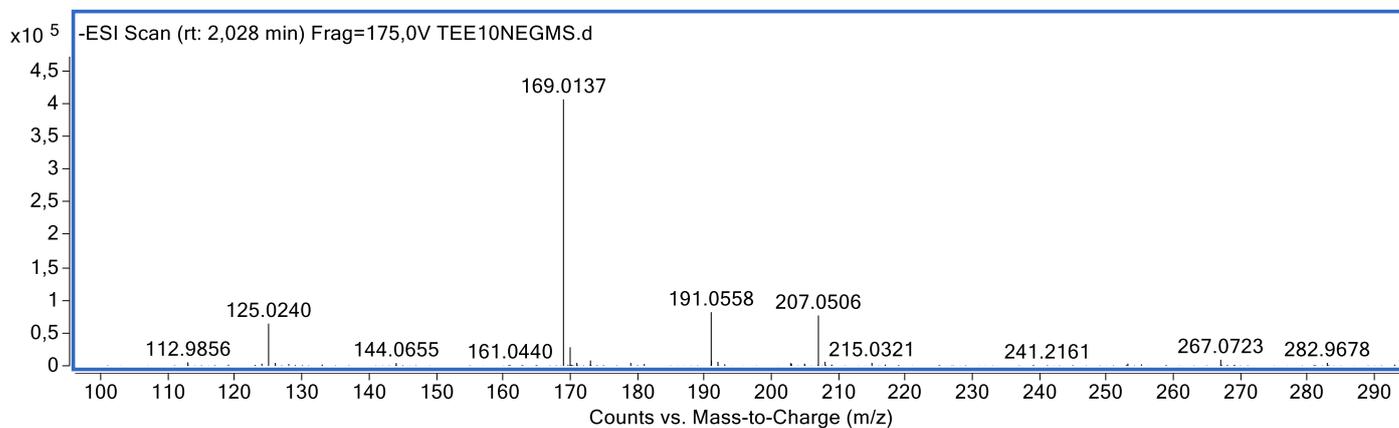
VAN RENSBURG, W.; LAUBSCHER, W. E.; RAUTENBACH, M. High throughput method to determine the surface activity of antimicrobial polymeric materials. **Methods X**, v. 8, p. 1-13, 2021.

VASCONCELOS, M. A. L.; ROYO, V. A.; FERREIRA, D. S.; CROTTI, A. E. M.; SILVA, M. L. A.; CARVALHO, J. C. T.; BASTOS, J. K.; CUNHA, W. R. In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of ursolic acid and oleanoic acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae), **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen**. 61 (2006) 477-482.

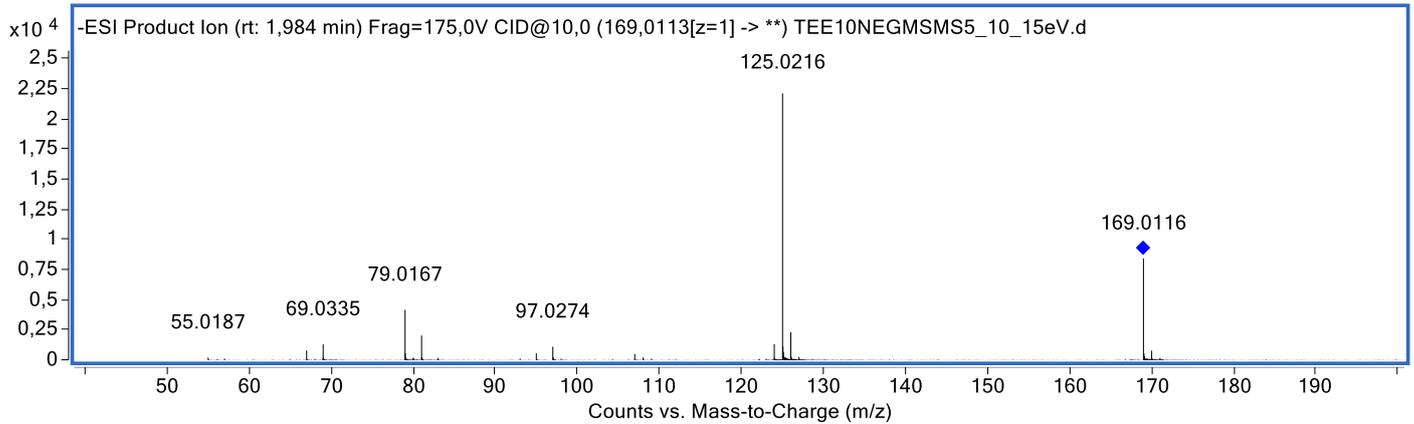
VATNER, S. F.; ZHANG, J.; OYDANICH, M.; BERKMAN, T.; NAFTALOVICH, R.; VATNER, D. E. Healthful aging mediated by inhibition of oxidative stress. **Ageing Research Reviews**, p. 101194, 2020.

- VELICHKOVA, S.; FOUBERT, K.; PIETERS, L. Natural products as a source of inspiration for novel inhibitors of advanced glycation end products (AGEs) formation. **Planta Medica**, v. 87, n. 10-11, p. 780-801, 2021.
- VEGA, B.; LIBERTI, D.; HARMON, P. F.; DEWDNEY, M. M. A rapid resazurin-based microtiter assay to evaluate QoI Sensitivity for *Alternaria alternata* isolates and their molecular characterization. **Plant Disease**, v. 96, n. 9, p. 1262-1270, 2012.
- VERPOORTE, R.; HEIJDEN, R.; J. G. TEN HOOPEN, H.; MEMELINK, J. Metabolic engineering of plant secondary metabolism. ed. **Springer Science & Business Media Dordrecht**, 2000. 286 p.
- WAGNER, H.; BLADT, S. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. ed. **Springer Science & Business Media**, 1996.
- WHITE, T. C.; FINDLEY, K.; DAWSON, T. L., JR.; SCHEYNIUS, A.; BOEKHOUT, T.; CUOMO, C. A.; XU, J.; SAUNDERS, C. W. Fungi on the skin: dermatophytes and Malassezia. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 4, n. 8, p. a019802, 2014.
- XIAO, J.; NI, X.; KAI, G.; CHEN, X. a review on structure–activity relationship of dietary polyphenols inhibiting α -amylase. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 5, p. 497-506, 2013.
- YAMAGISHI, S. I. Advanced glycation end-products. In: MALOY, S.; HUGHES, K. **Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)**, San Diego: Academic Press, 2013. p. 36-38.
- YAPAR, N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. 10, p. 95-105, 2014.
- YOSHIMIZU, M.; TAJIMA, Y.; MATSUZAWA, F.; AIKAWA, S.-I.; IWAMOTO, K.; KOBAYASHI, T.; EDMUNDS, T.; FUJISHIMA, K.; TSUJI, D.; ITOH, K.; IKEKITA, M.; KAWASHIMA, I. Binding parameters and thermodynamics of the interaction of imino sugars with a recombinant human acid α -glucosidase (alglucosidase alfa): Insight into the complex formation mechanism. **Clinica Chimica Acta**, v. 391, n. 1, p. 68-73, 2008.
- YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V.; Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna; Yunes, R. A.; Calixto, J. B., eds.; 1ª ed.; **Ed. Argos: Chapecó**, 2001, cap. 1;
- ZHANG, J.; LI, C.; WANG, G.; CAO, J.; YANG, X.; LIU, X.; SUN, L. α -Amylase inhibition of a certain dietary polyphenol is predominantly affected by the concentration of α -1, 4-glucosidic bonds in starchy and artificial substrates. **Food Research International**, v. 157, p. 111210, 2022.
- ZIDA, A.; BAMBA, S.; YACOUBA, A.; OUEDRAOGO-TRAORE, R.; GUIGUEMDÉ, R. T. Anti-Candida albicans natural products, sources of new antifungal drugs: A review. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 27, n. 1, p. 1-19, 2016.

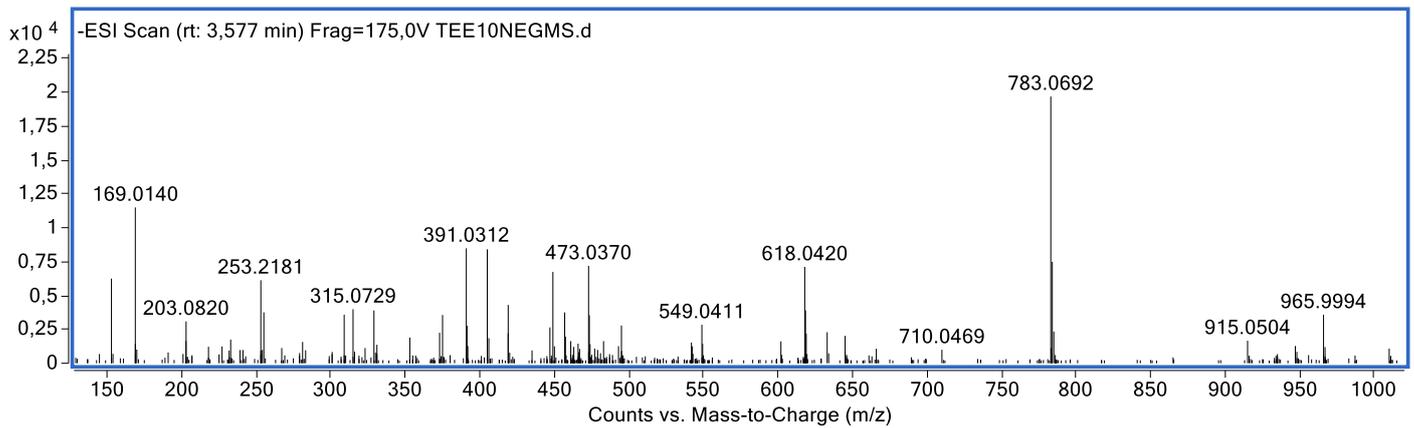
APÊNDICE

(-)-ESI-EM ácido quínico (1) (m/z 191,0562 $[M - H]^-$)(-)-ESI-EM/EM ácido quínico (1) (m/z 191,0562 $[M - H]^-$)(-)-ESI-EM ácido gálico (2) (m/z 169,0137 $[M - H]^-$)

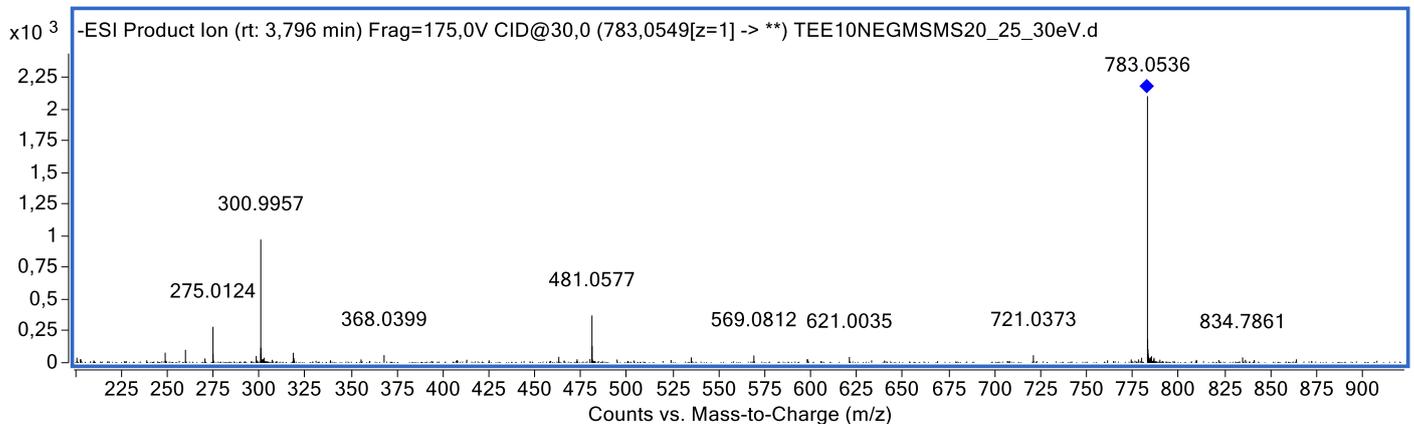
(-)-ESI-EM/EM ácido gálico (2) (m/z 169,0137 [M - H]⁻)



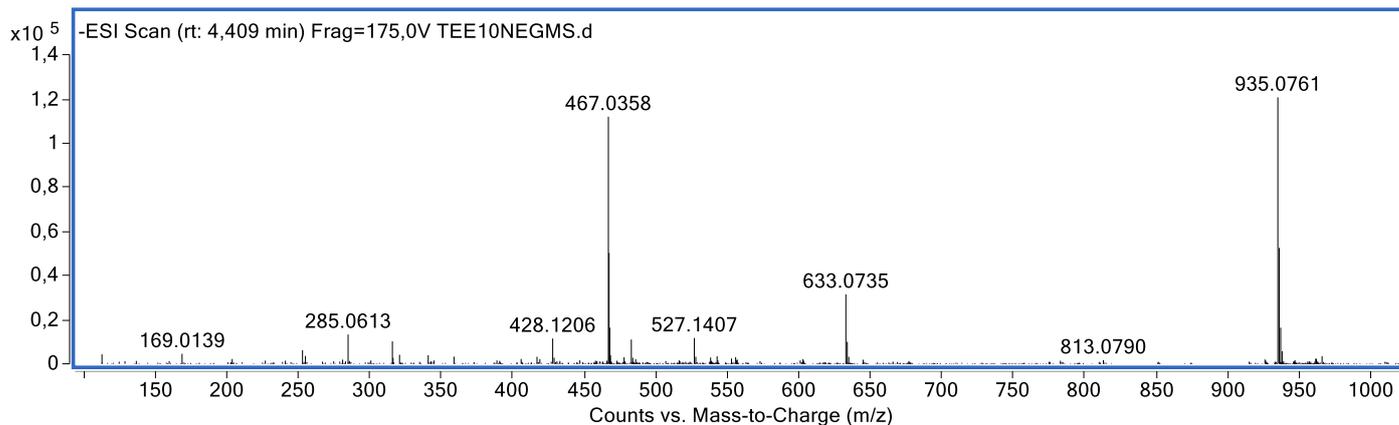
(-)-ESI-EM pedunculagina (3) (m/z 783,0692 [M - H]⁻)



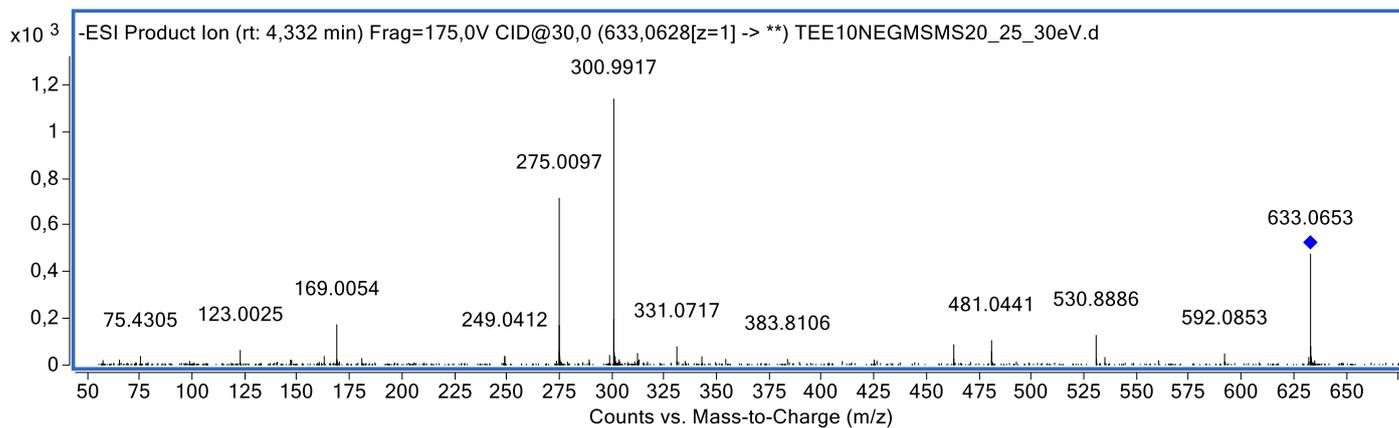
(-)-ESI-EM/EM pedunculagina (3) (m/z 783,0692 [M - H]⁻)



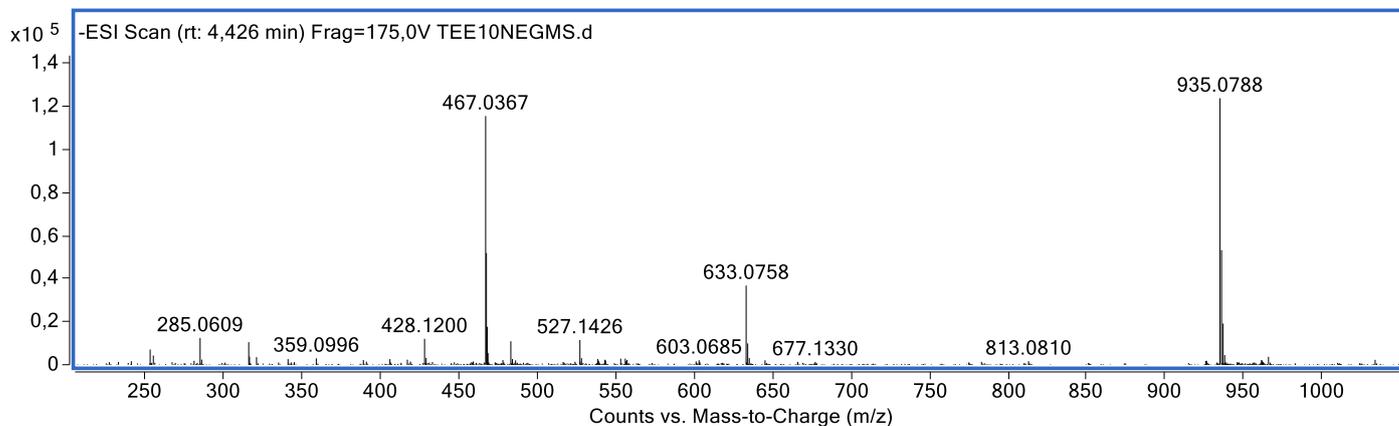
(-)-ESI-EM HHDP-galoil-glicose (4) (m/z 633,0735 [$M - H$]⁻)



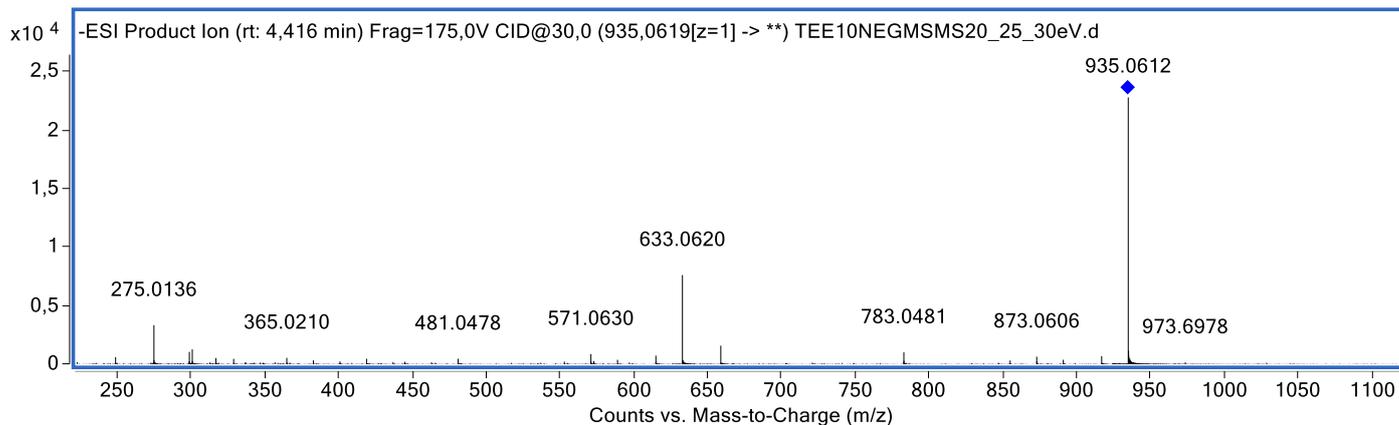
(-)-ESI-EM/EM HHDP-galoil-glicose (4) (m/z 633,0735 [$M - H$]⁻)



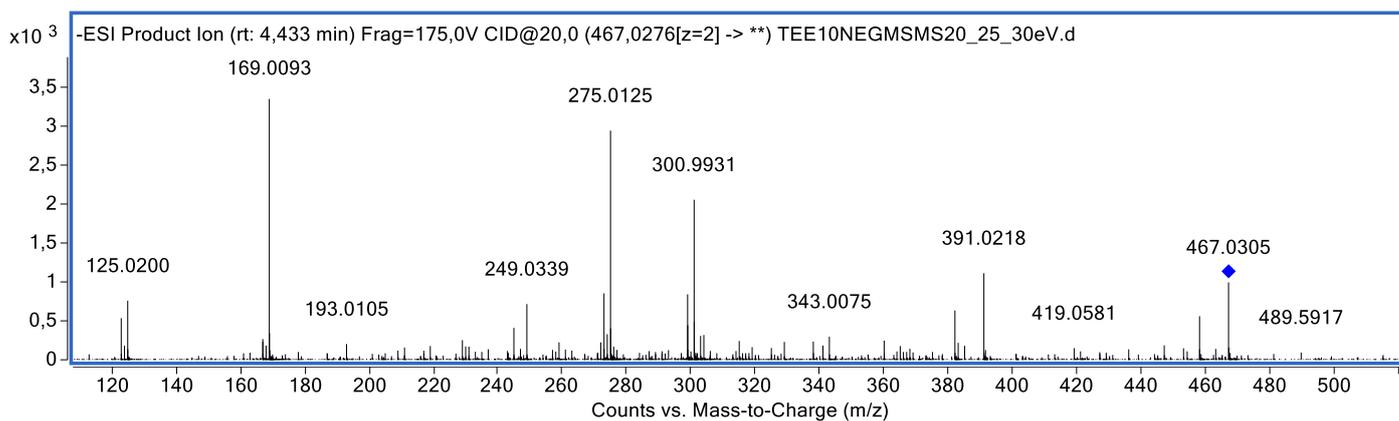
(-)-ESI-EM casuarinina (5) ou casuarictina (6) (m/z 935,0788 [$M - H$]⁻)



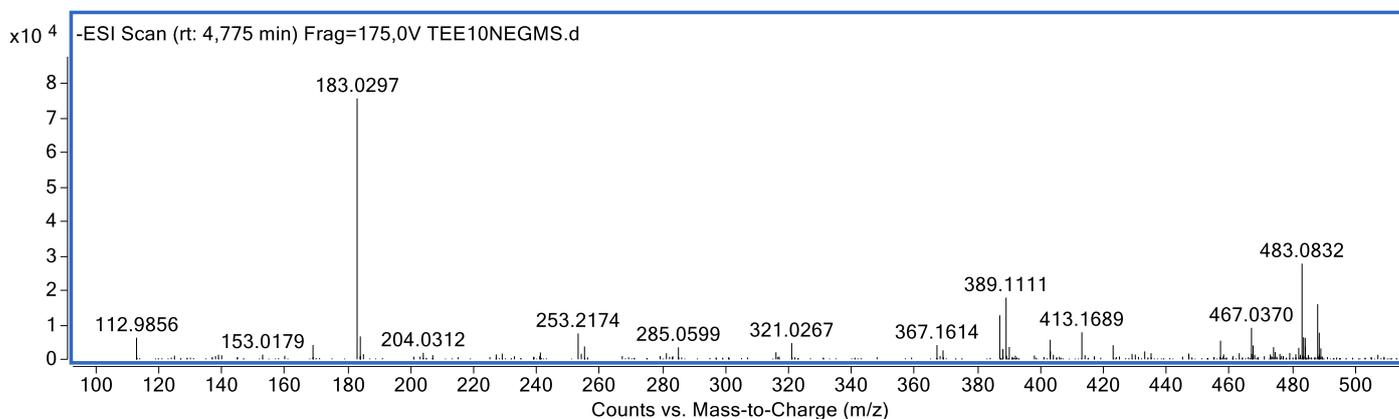
(-)-ESI-EM/EM casuarinina (5) ou casuarictina (6) (m/z 935,0788 $[M - H]^-$)



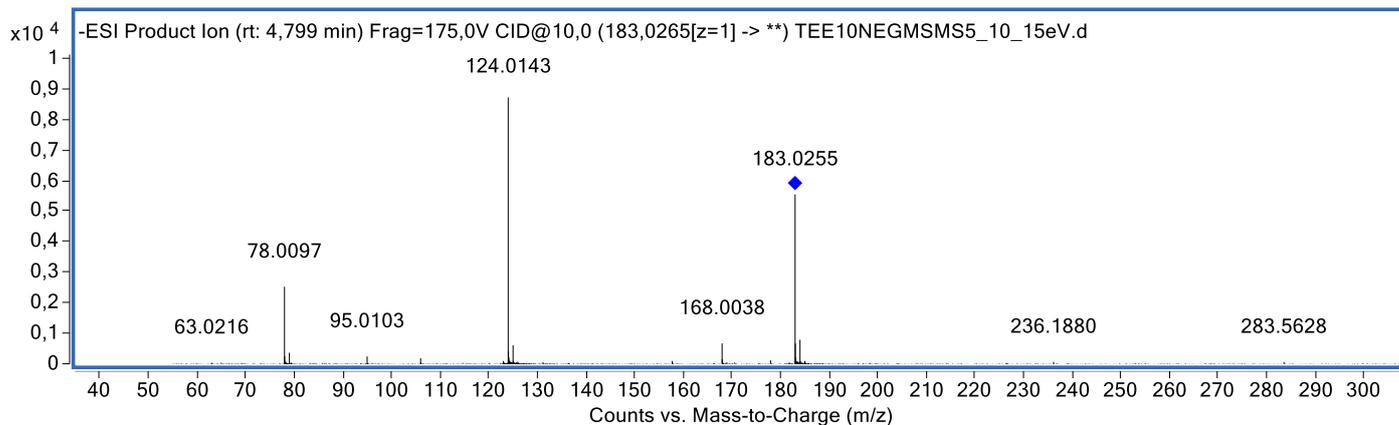
(-)-ESI-EM/EM casuarinina (5) ou casuarictina (6) (m/z 467,0367 $[M - H]^-$)



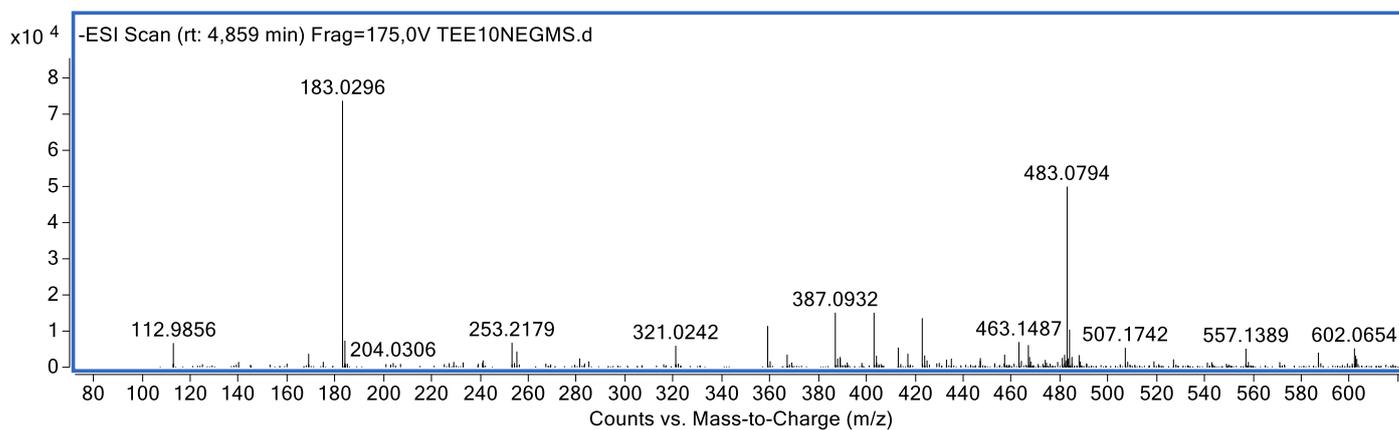
(-)-ESI-EM galato de metila (7) (m/z 183,0297 $[M - H]^-$)



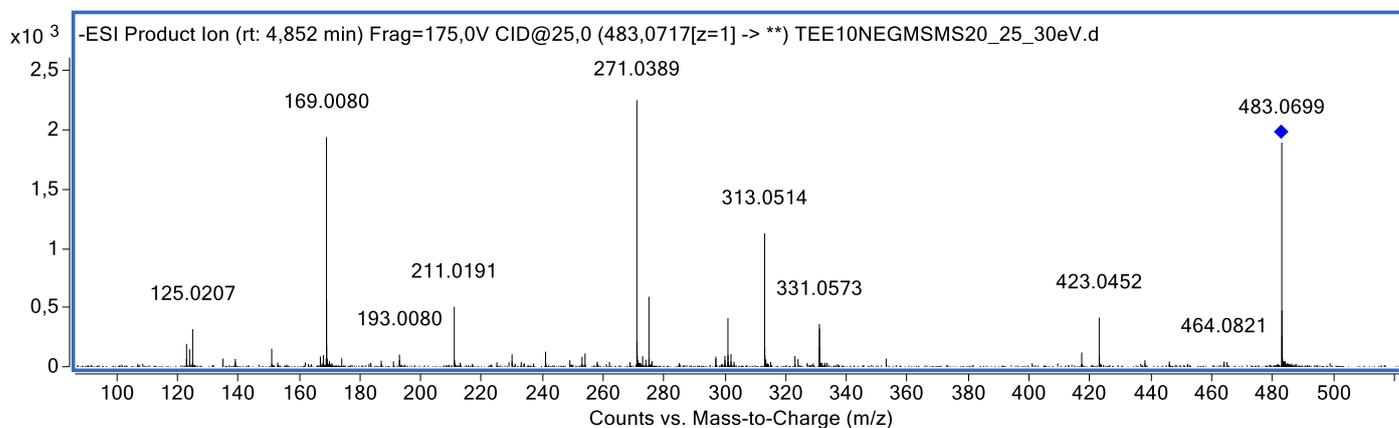
(-)-ESI-EM/EM galato de metila (7) (m/z 183,0297 [$M - H$]⁻)



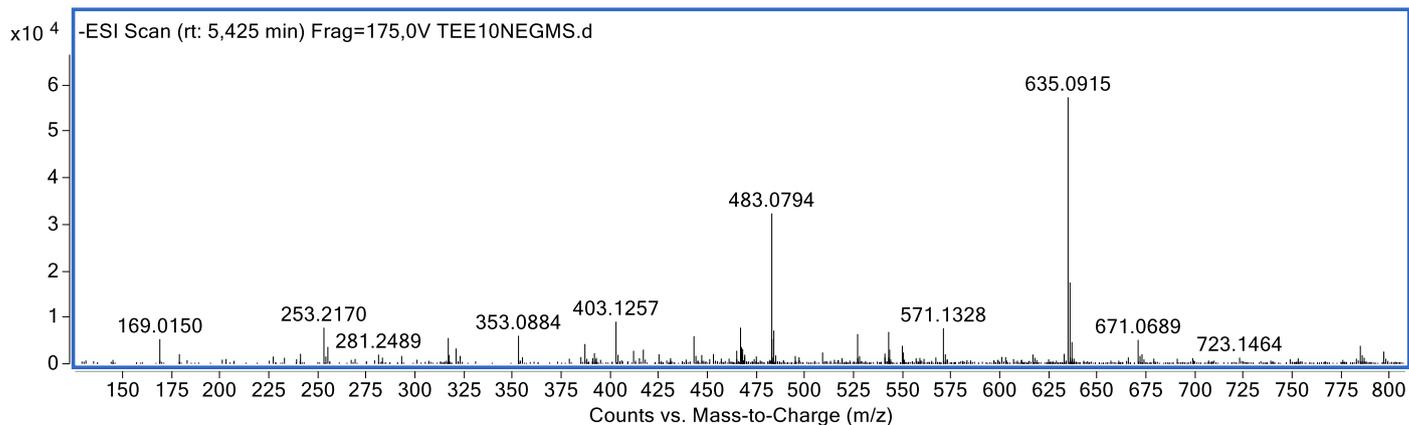
(-)-ESI-EM di-galoil-glicose (8) (m/z 483,0794 [$M - H$]⁻)



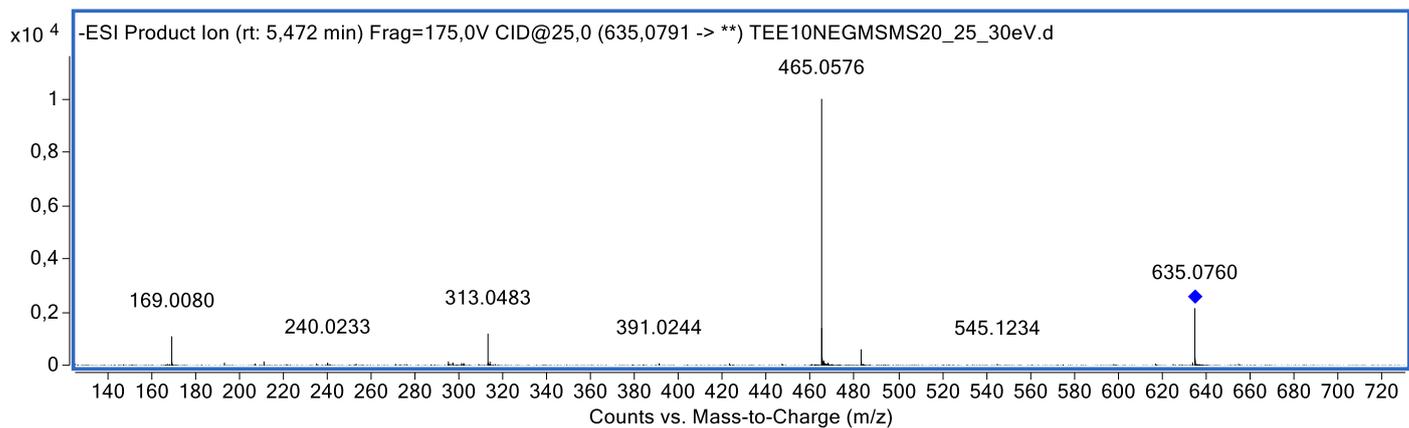
(-)-ESI-EM/EM di-galoil-glicose (8) (m/z 483,0794 [$M - H$]⁻)



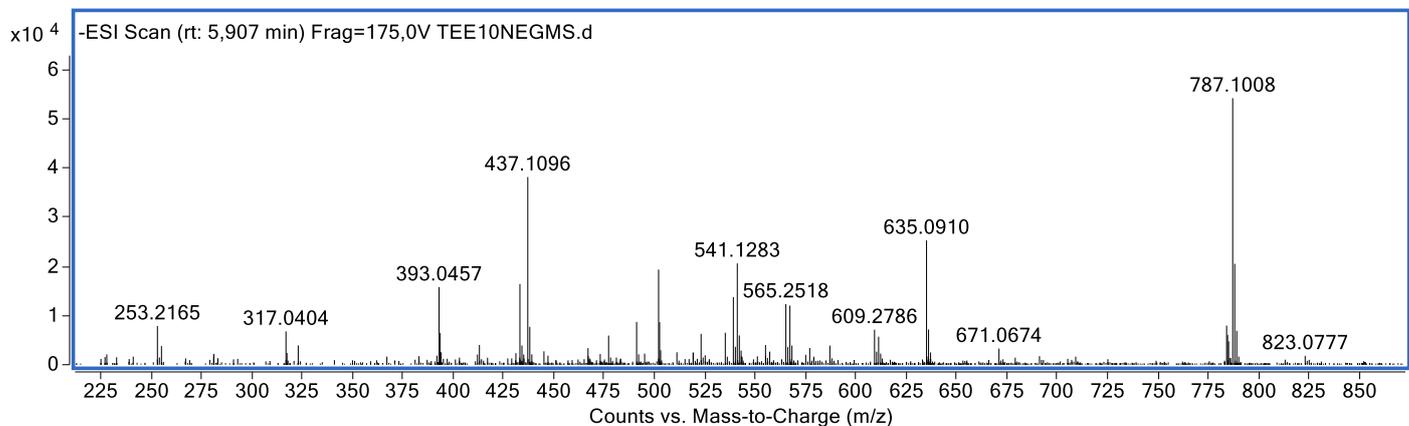
(-)-ESI-EM tri-galoi-glycose (9) (m/z 635,0915 [$M - H$]⁻)



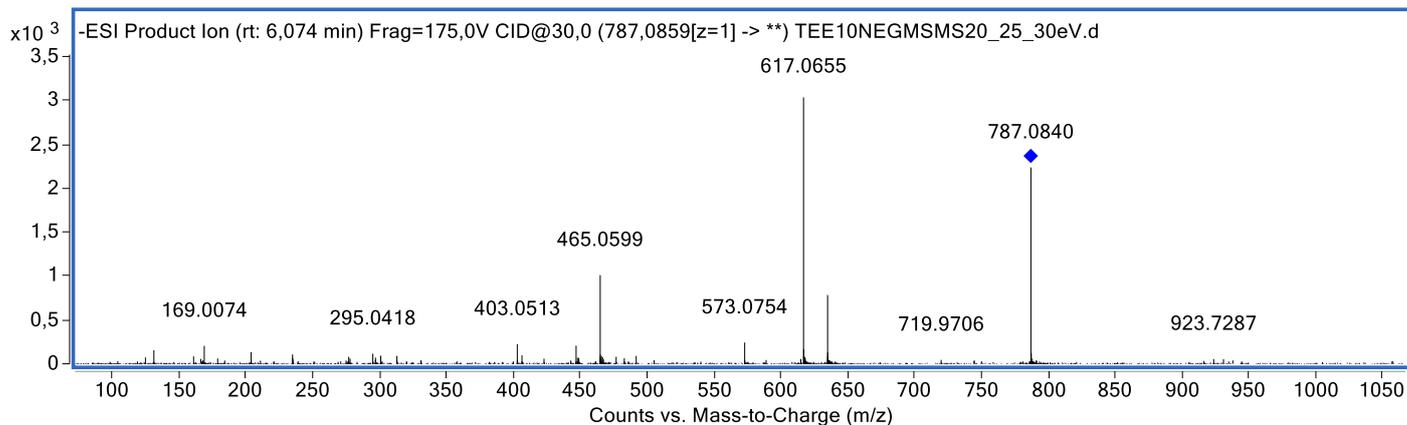
(-)-ESI-EM/EM tri-galoi-glycose (9) (m/z 635,0915 [$M - H$]⁻)



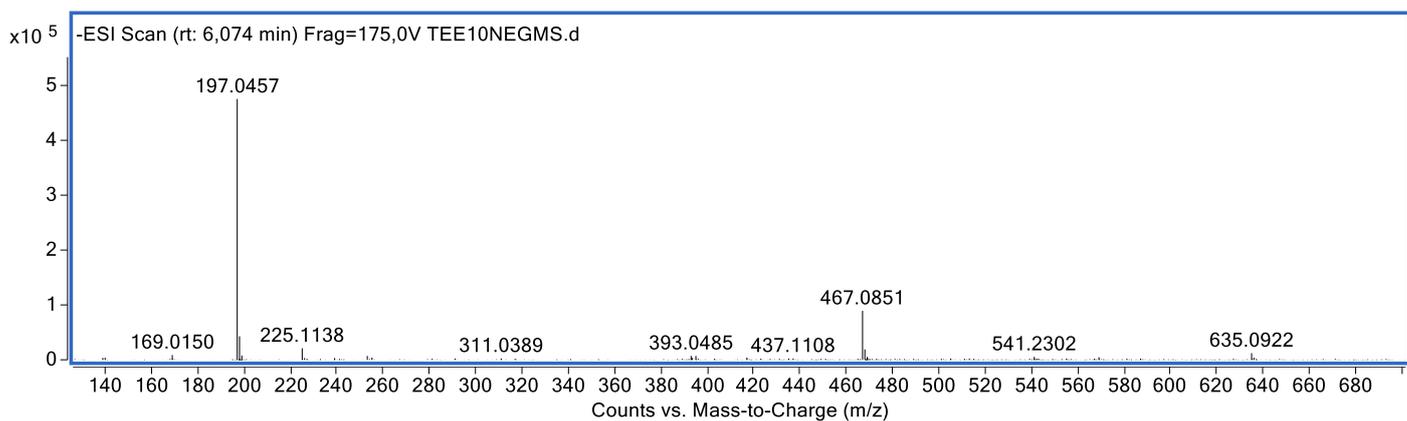
(-)-ESI-EM tetra-galoi-glycose (10) (m/z 787,1008 [$M - H$]⁻)



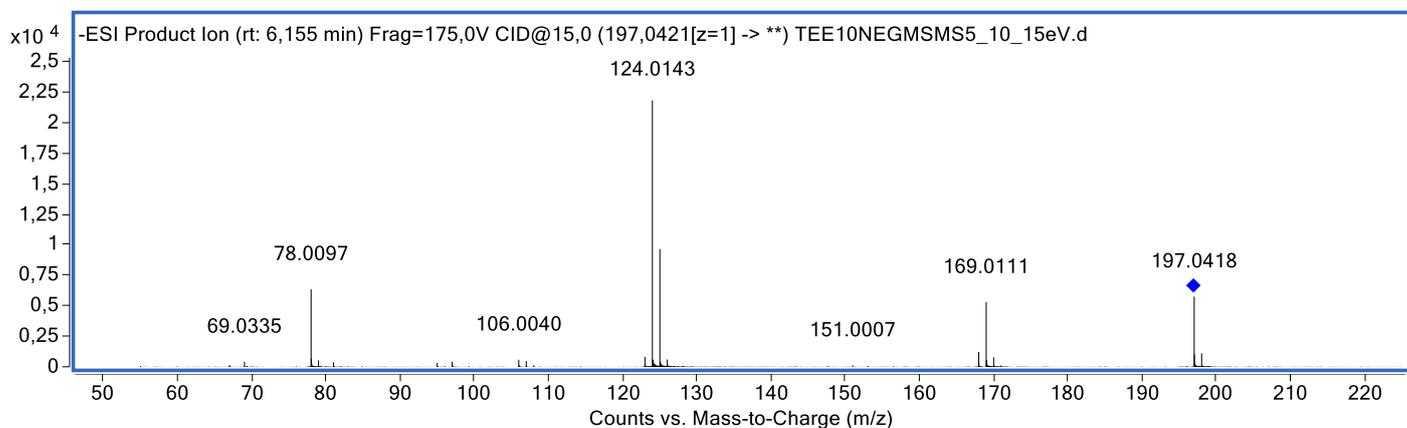
(-)-ESI-EM/EM tetra-galoil-glicose (10) (m/z 787,1008 $[M - H]^-$)



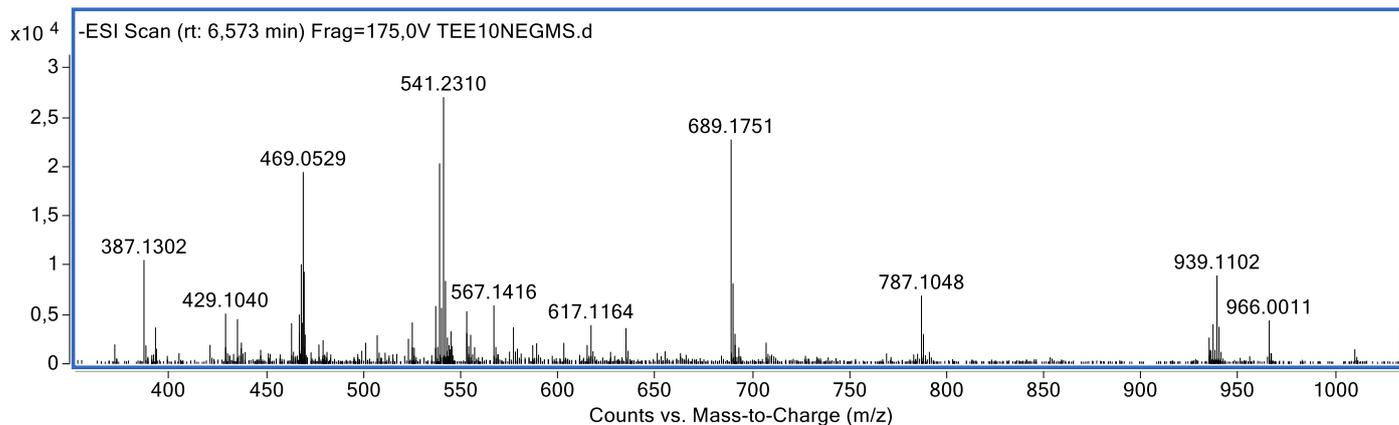
(-)-ESI-EM galato de etila (11) (m/z 197,0457 $[M - H]^-$)



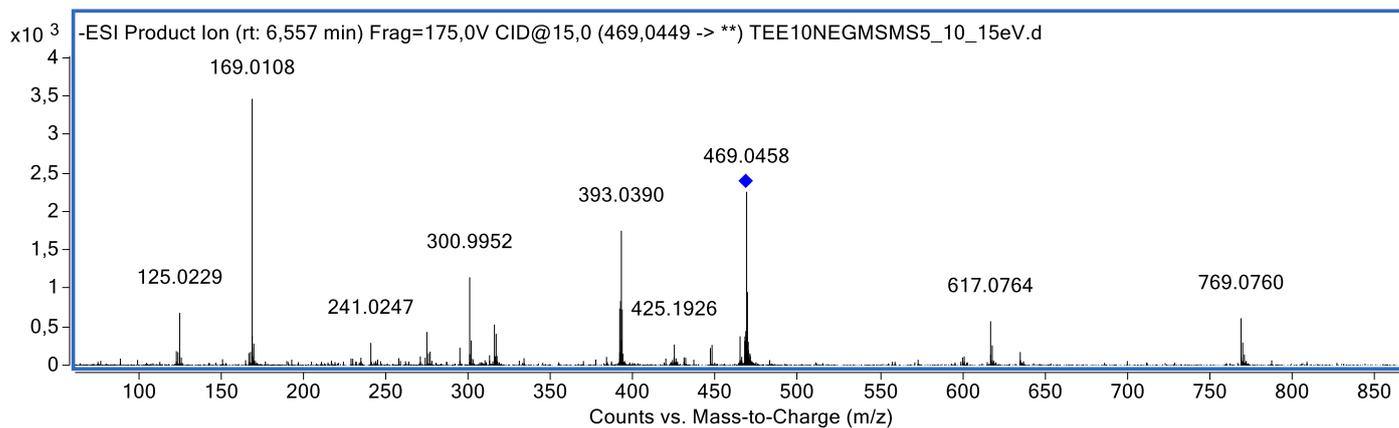
(-)-ESI-EM/EM galato de etila (11) (m/z 197,0457 $[M - H]^-$)



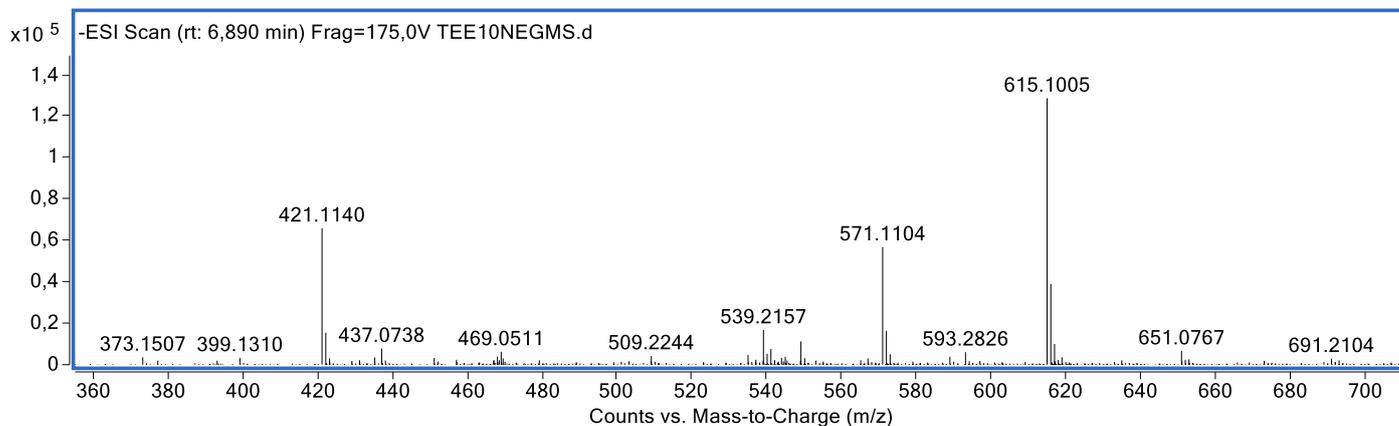
(-)-ESI-EM penta-galoil-glycose (12) (m/z 939,1102 $[M - H]^-$)



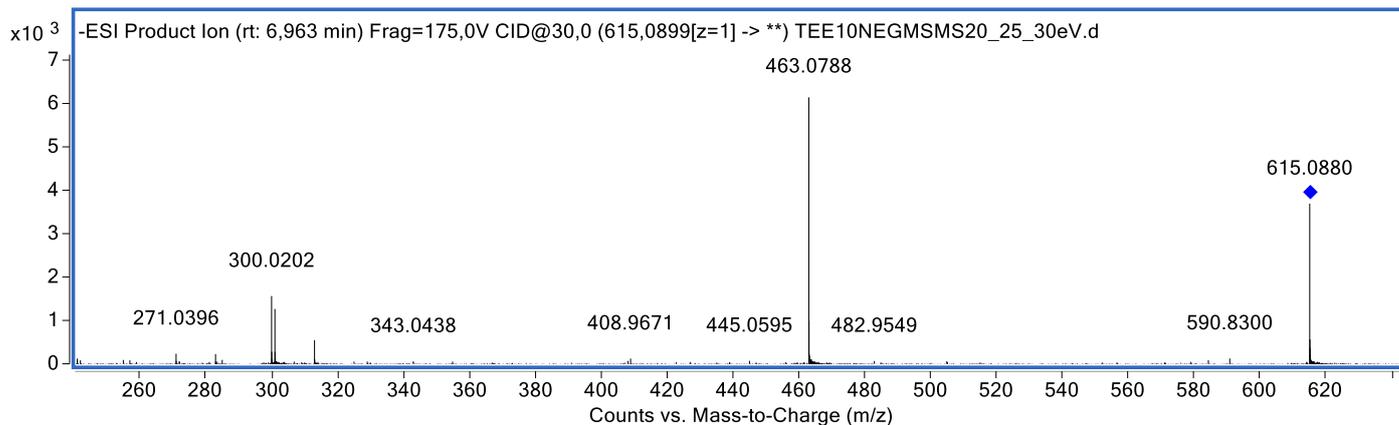
(-)-ESI-EM/EM penta-galoil-glycose (12) (m/z 469,0529 $[M - H]^-$)



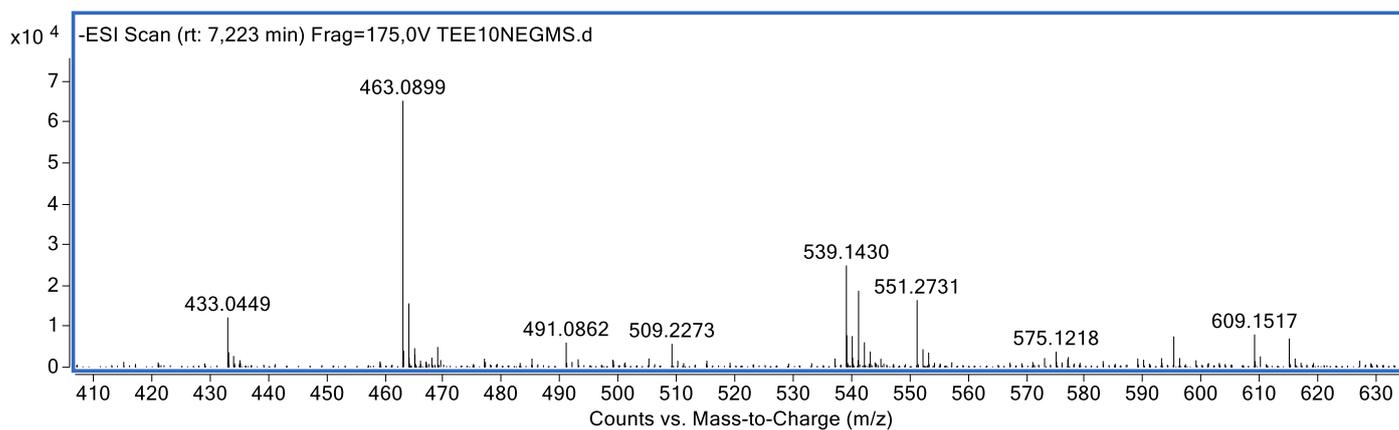
(-)-ESI-EM dehidro-galoil-HHDP-hexosídeo (13) (m/z 615,1005 $[M - H]^-$)



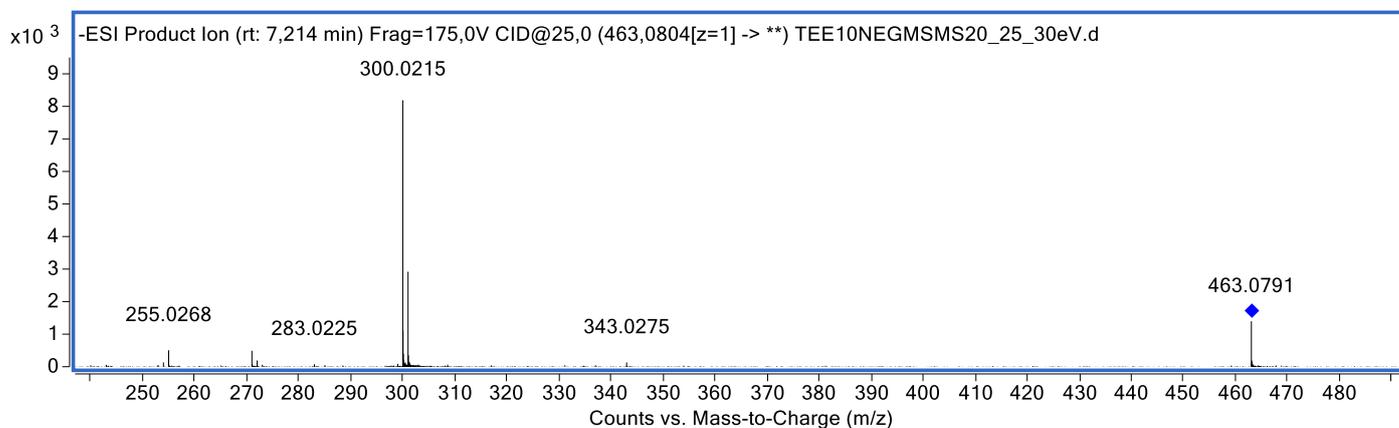
(-)-ESI-EM/EM dehidro-galoil-HHDP-hexosídeo (13) (m/z 615,1005 $[M - H]^-$)

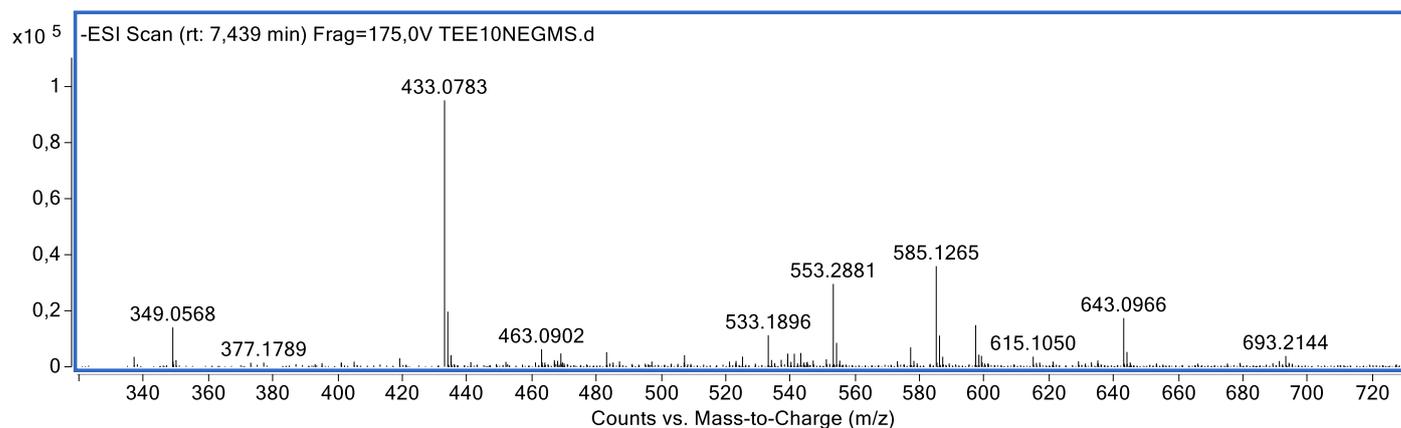
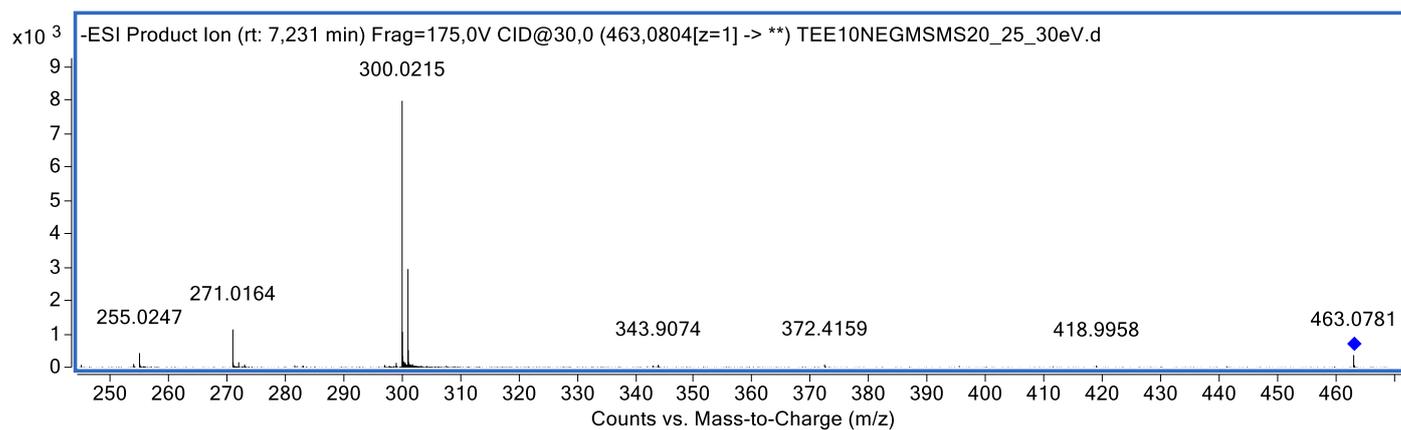
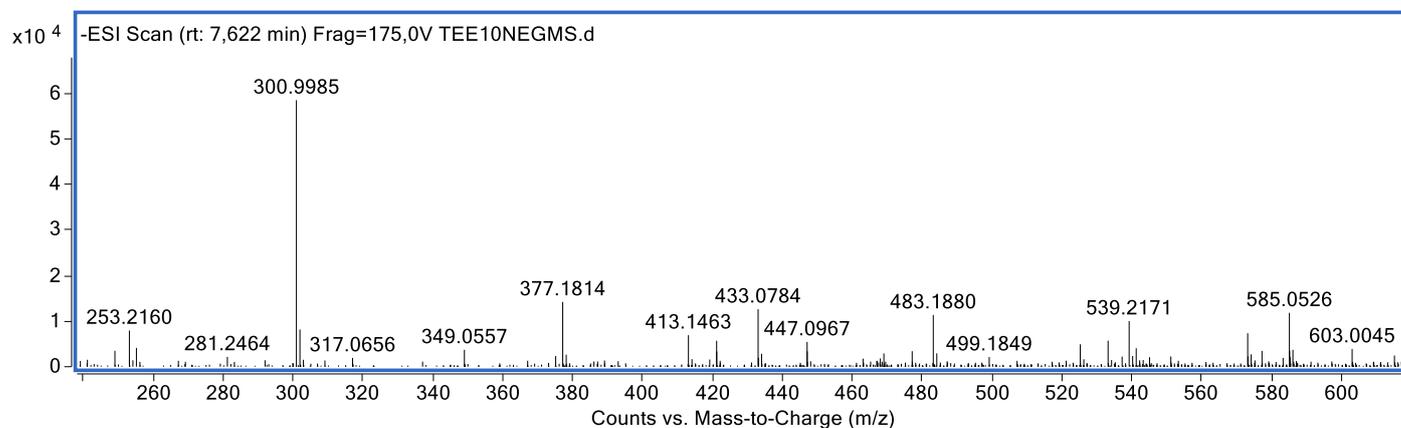


(-)-ESI-EM quercetina-hexosídeo (14) (m/z 463,0899 $[M - H]^-$)

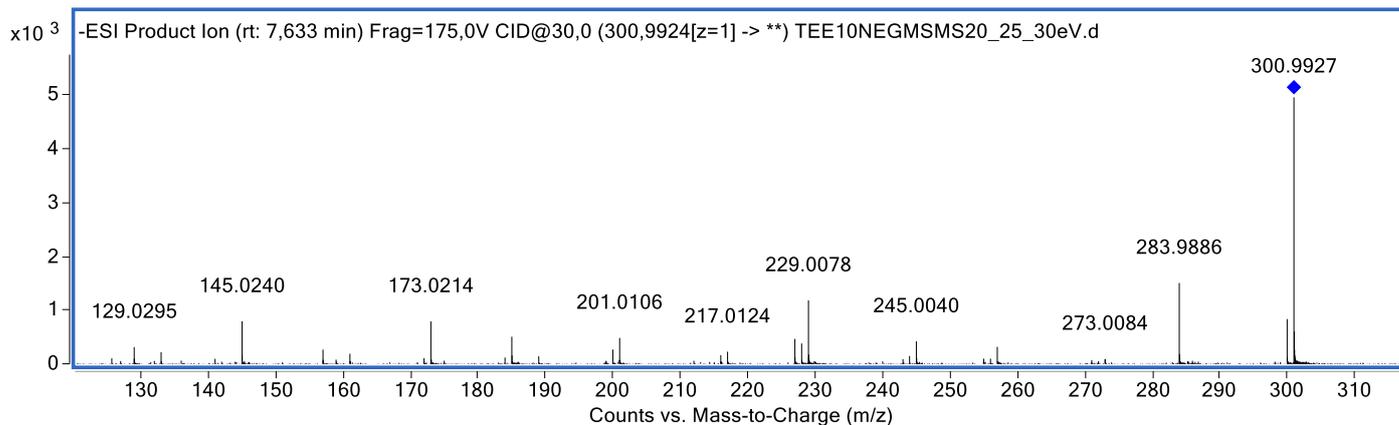


(-)-ESI-EM/EM quercetina-hexosídeo (14) (m/z 463,0899 $[M - H]^-$)

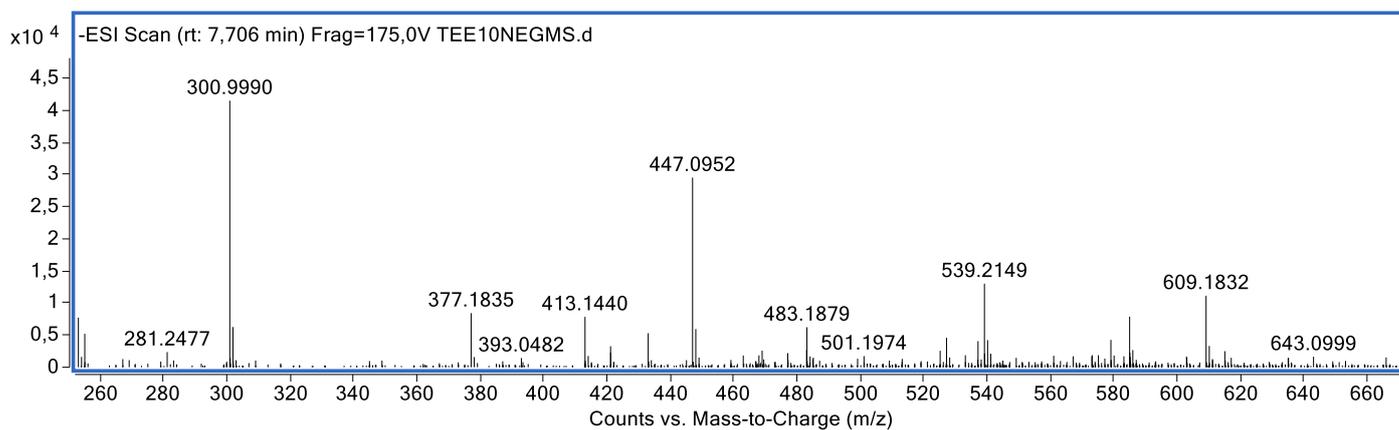


(-)-ESI-EM quercetina-pentosídeo (15) (m/z 463,0899 $[M - H]^-$)(-)-ESI-EM/EM quercetina-pentosídeo (15) (m/z 463,0899 $[M - H]^-$)(-)-ESI-EM ácido elágico (16) (m/z 300,9985 $[M - H]^-$)

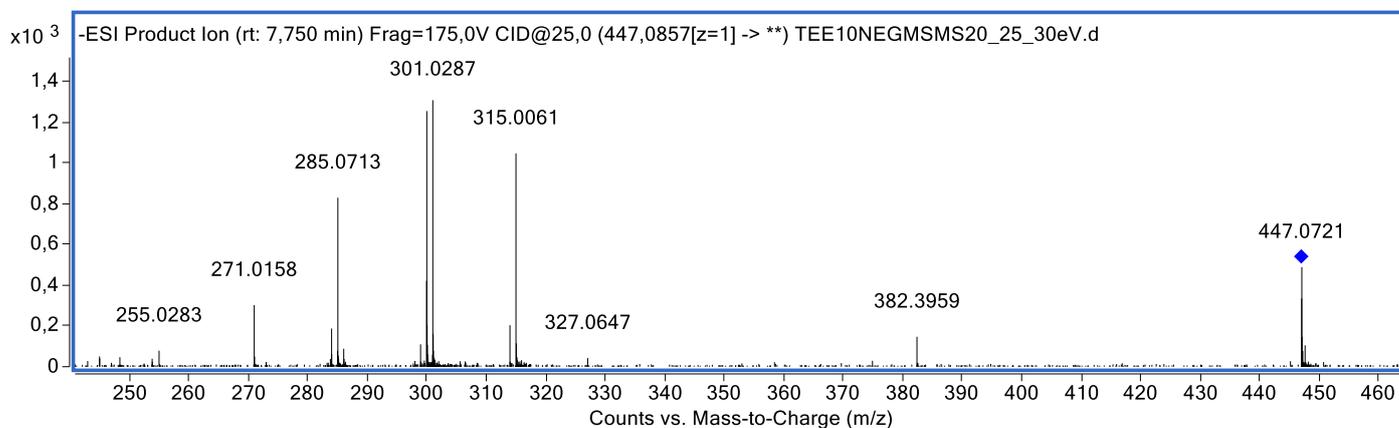
(-)-ESI-EM/EM ácido elágico (16) (m/z 300,9985 [$M - H$]⁻)



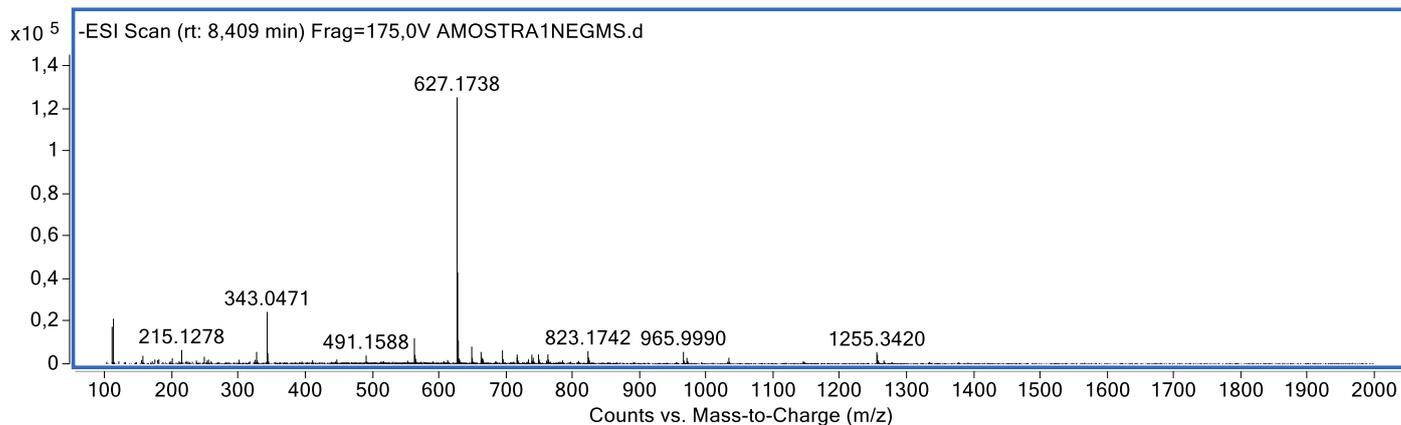
(-)-ESI-EM quercetina-ramnosídeo (17) (m/z 447,0952 [$M - H$]⁻)



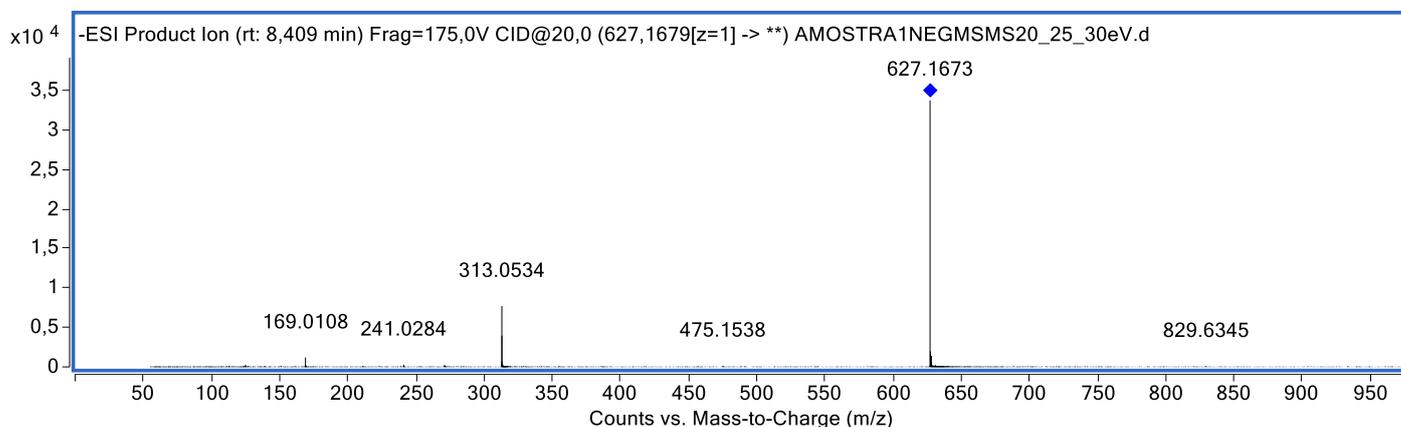
(-)-ESI-EM/EM quercetina-ramnosídeo (17) (m/z 447,0952 [$M - H$]⁻)



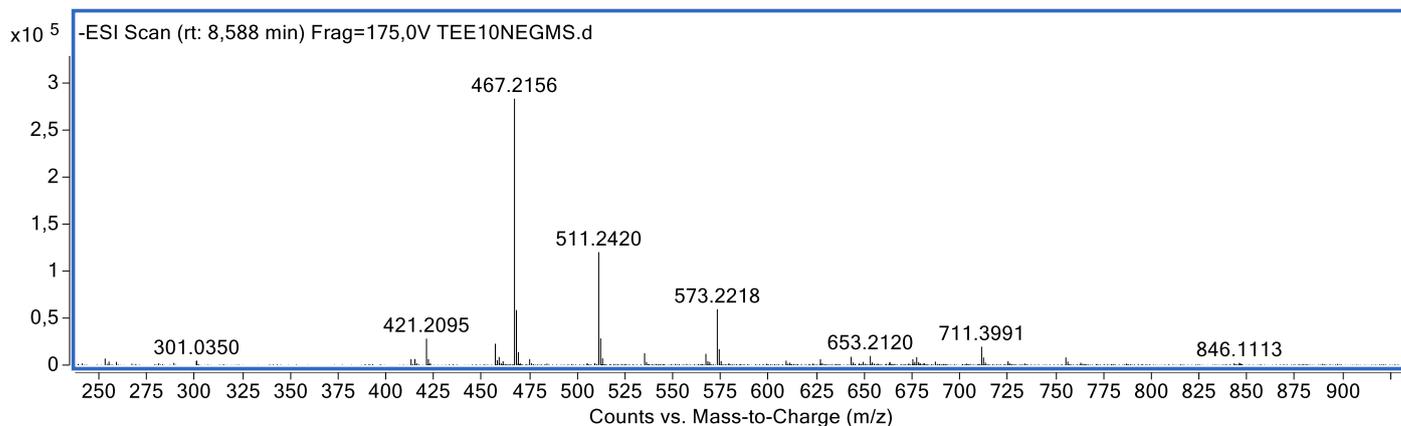
(-)-ESI-EM mateucinol-7-*O*-[6''-*O*-galoil]-glicopiranosídeo (18) (m/z 627,1738 [M - H]⁻)



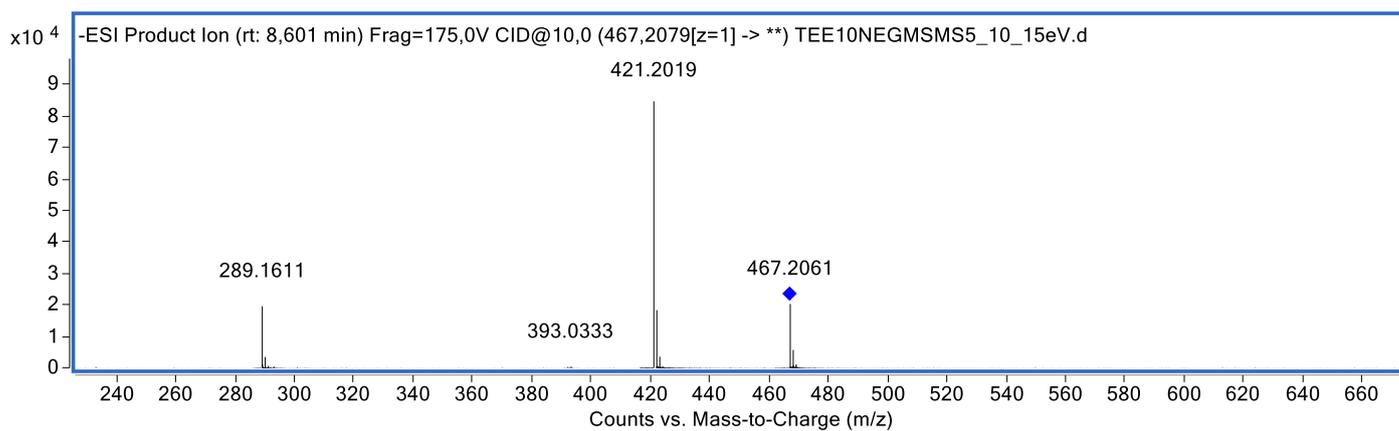
(-)-ESI-EM/EM mateucinol-7-*O*-[6''-*O*-galoil]-glicopiranosídeo (18) (m/z 627,1738 [M - H]⁻)



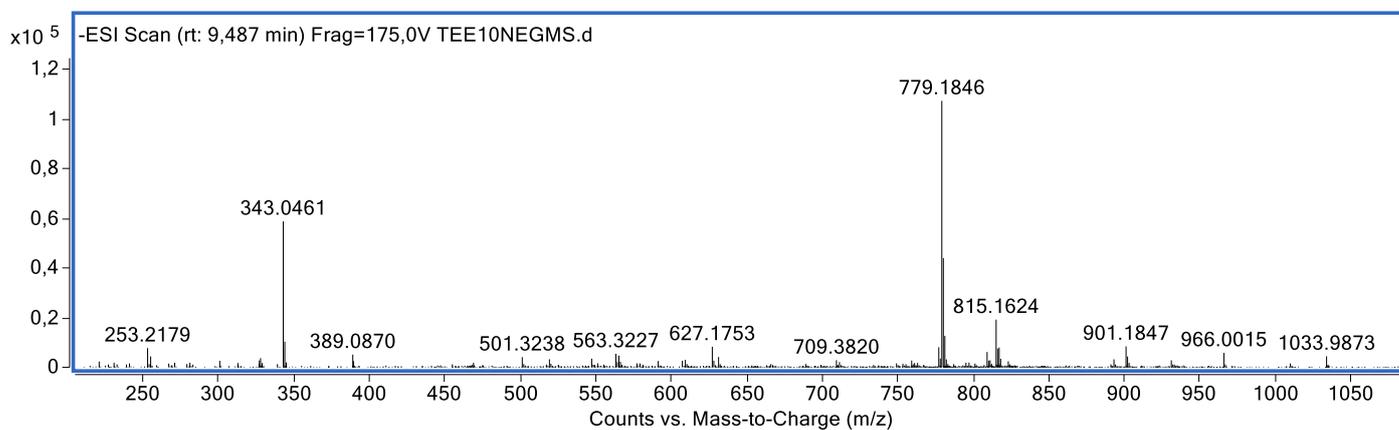
(-)-ESI-EM oct-1-en-3-il arabinopiranosil (1→6) glicopiranosídeo (19) (m/z 467,2156 [M - H]⁻)



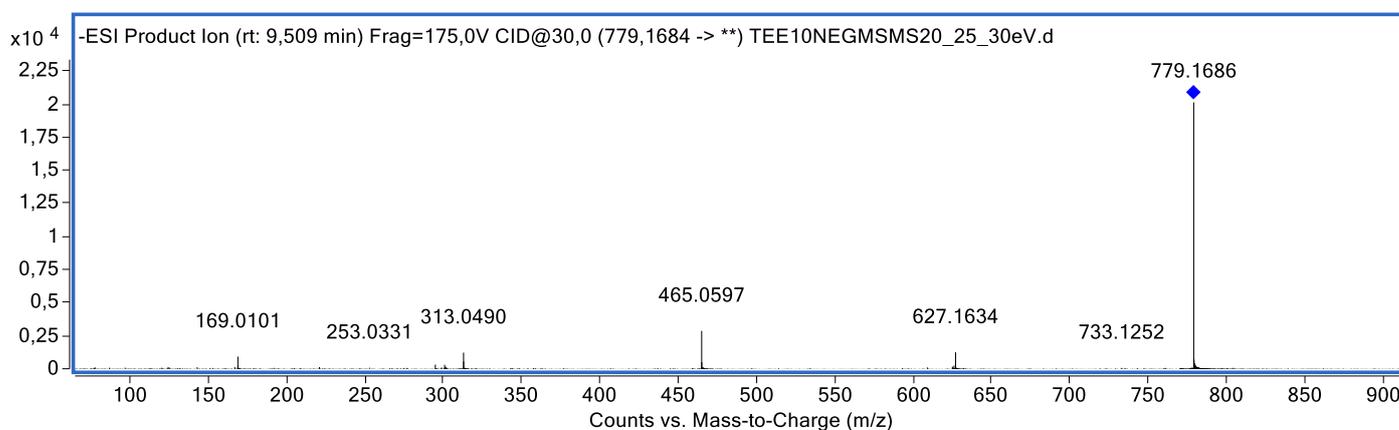
(-)-ESI-EM oct-1-en-3-il arabinopiranosil (1→6) glicopiranosídeo (19) (m/z 467,2156 $[M - H]^-$)



(-)-ESI-EM mateucinol-7-O-[4'',6''-di-O-galoil]-D-glicopiranosídeo (20) (m/z 779,1846 $[M - H]^-$)

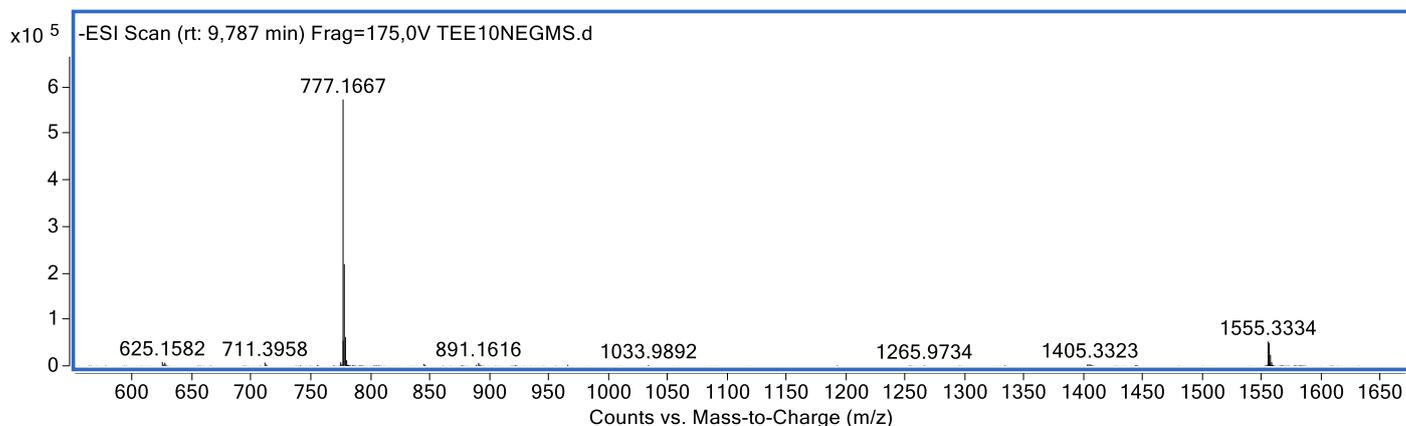


(-)-ESI-EM/EM mateucinol-7-O-[4'',6''-di-O-galoil]-D-glicopiranosídeo (20) (m/z 779,1846 $[M - H]^-$)



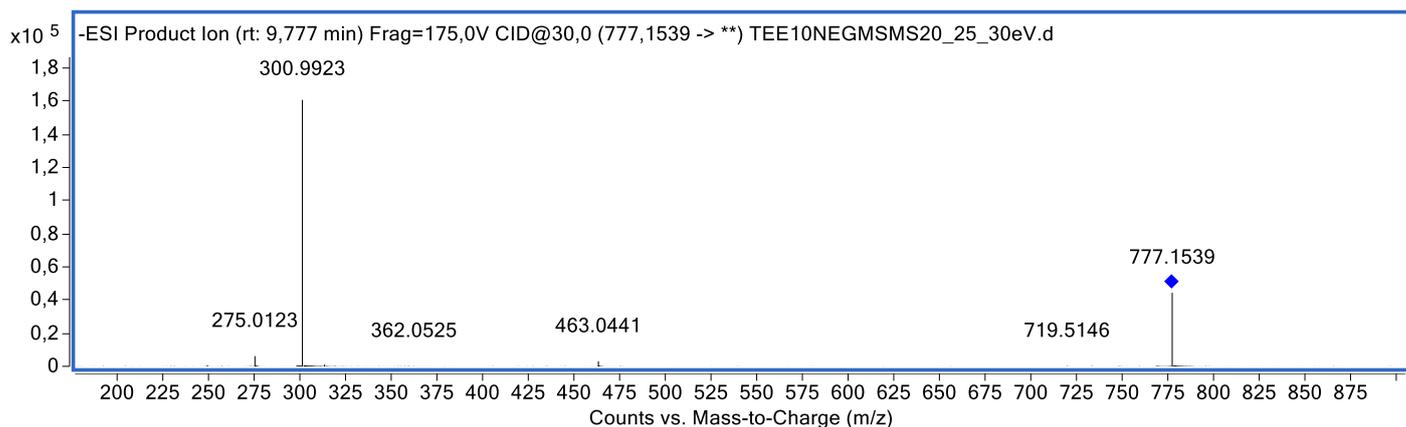
(-)-ESI-EM mateucinol-7-*O*-[4'',6''-*O*-(*S*)-hexahidroxiidifenoil]-*D*-glicopiranosídeo (21)

(*m/z* 777,1667 [*M* - *H*]⁻)

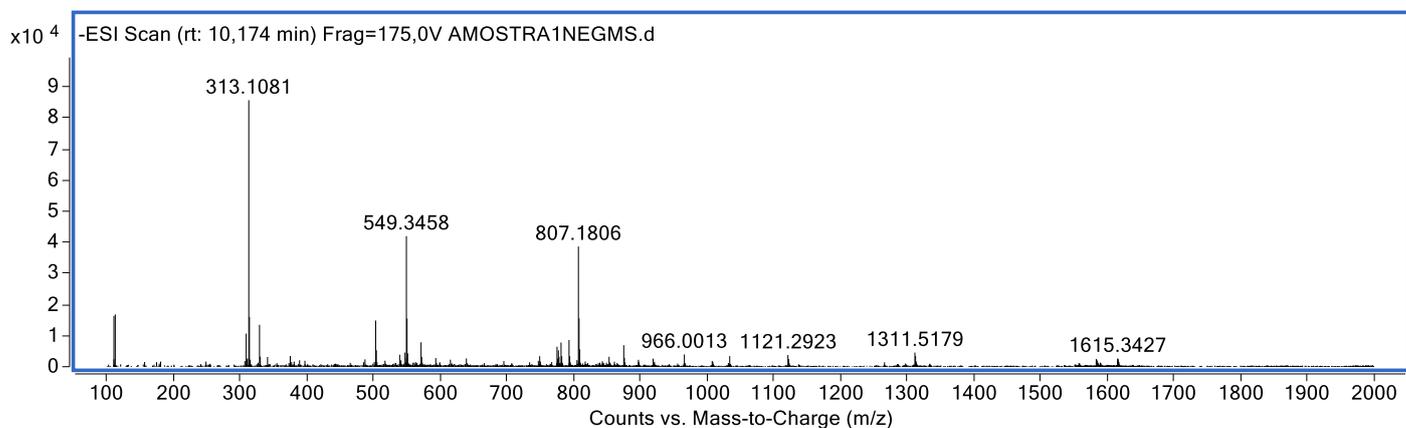


(-)-ESI-EM/EM mateucinol-7-*O*-[4'',6''-*O*-(*S*)-hexahidroxiidifenoil]-*D*-glicopiranosídeo (21)

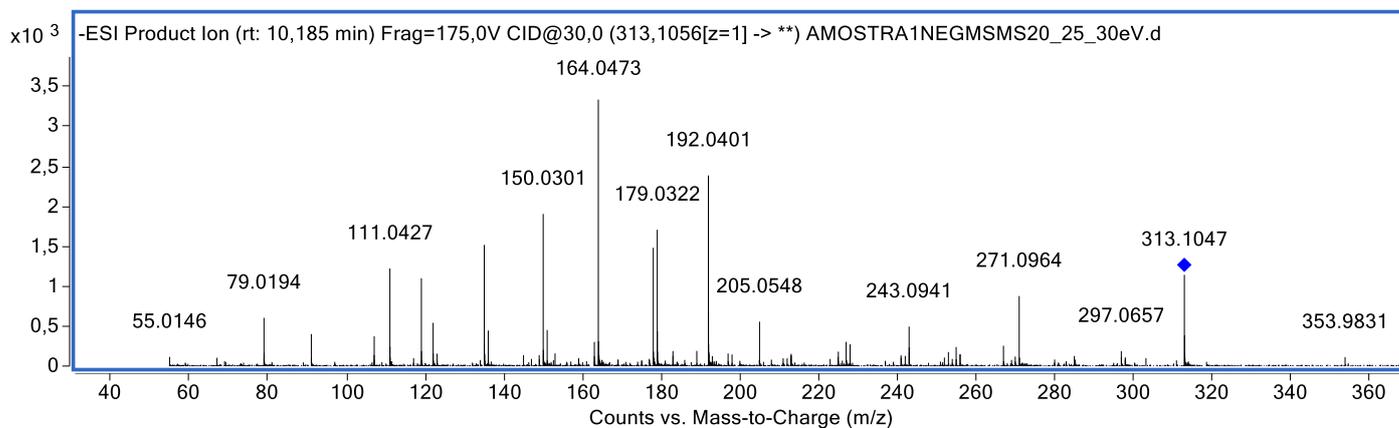
(*m/z* 777,1667 [*M* - *H*]⁻)



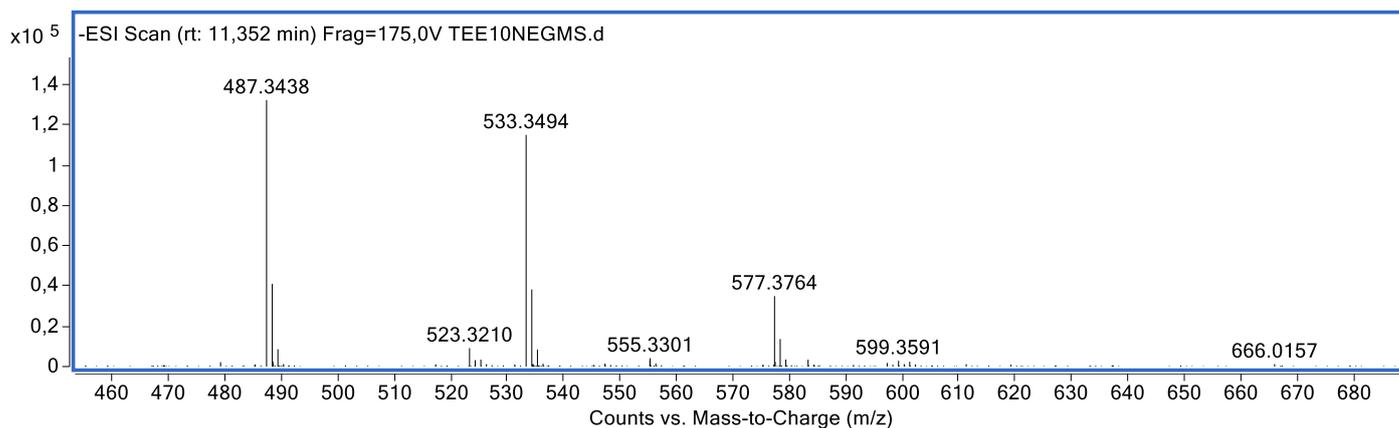
(-)-ESI-EM mateucinol (22) (*m/z* 313,1081 [*M* - *H*]⁻)



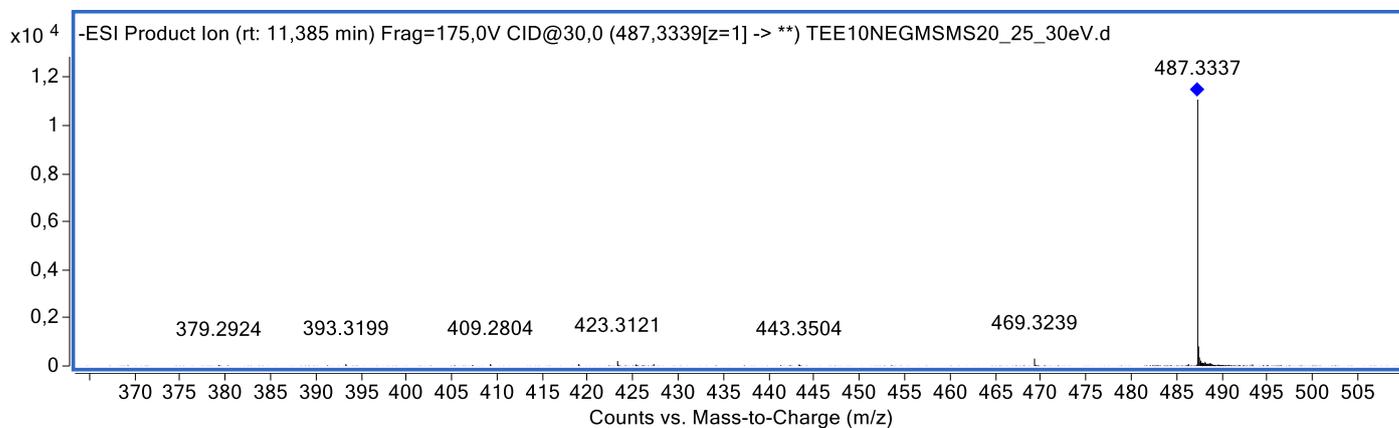
(-)-ESI-EM/EM mateucinol (22) (m/z 313,1081 $[M - H]^-$)



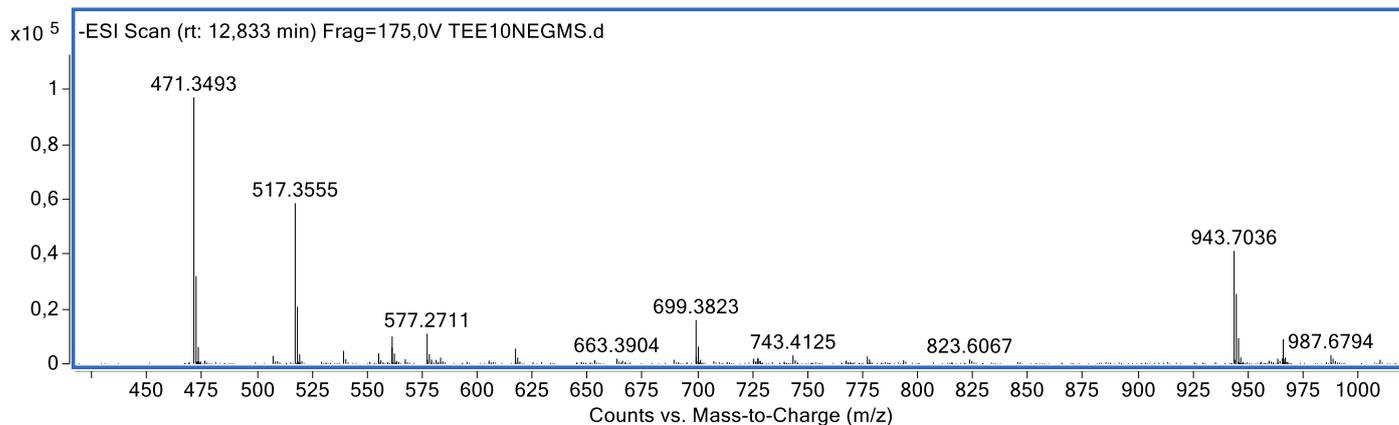
(-)-ESI-EM ácido trihidroxi-urs-12-en-28-óico (23) (m/z 487,3438 $[M - H]^-$)



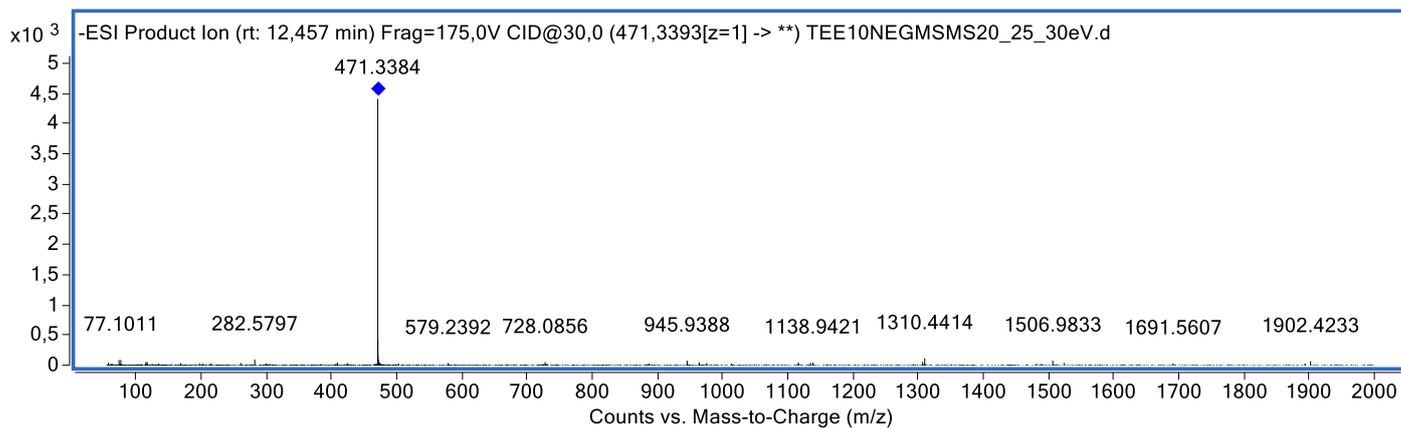
(-)-ESI-EM/EM ácido trihidroxi-urs-12-en-28-óico (23) (m/z 487,3438 $[M - H]^-$)



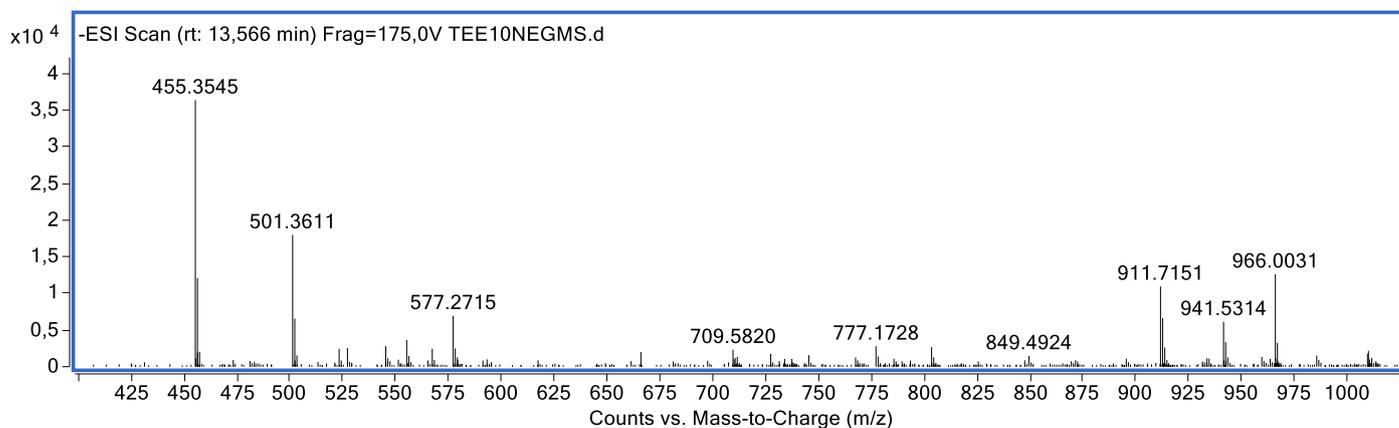
(-)-ESI-EM ácido maslínico (24) (m/z 471,3493 [$M - H$]⁻)



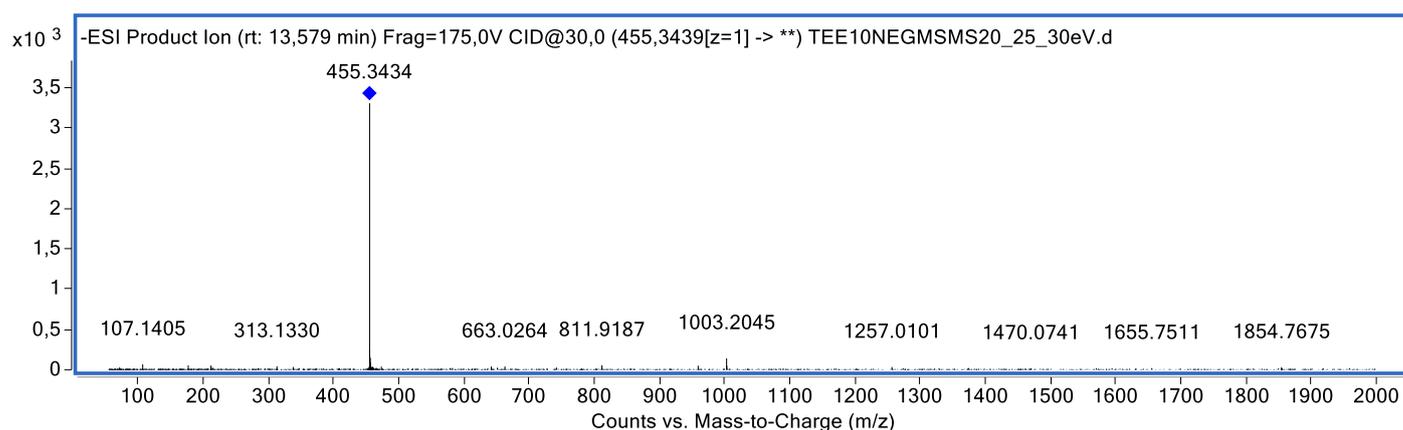
(-)-ESI-EM/EM ácido maslínico (24) (m/z 471,3493 [$M - H$]⁻)



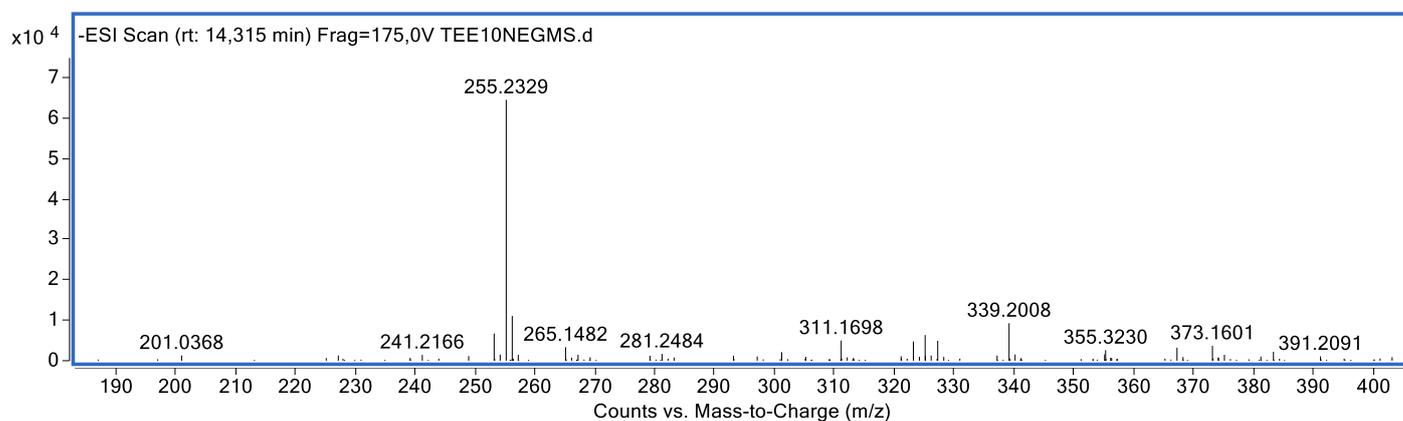
(-)-ESI-EM ácido ursólico (25) (m/z 455,3545 [$M - H$]⁻)



(-)-ESI-EM/EM ácido ursólico (25) (m/z 455,3545 $[M - H]^-$)



(-)-ESI-EM ácido palmítico (26) (m/z 255,2329 $[M - H]^-$)



(-)-ESI-EM/EM ácido palmítico (26) (m/z 255,2329 $[M - H]^-$)

