

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA

DIEGO GODINA PRADO

Estudo químico e biológico de *Microlicia parviflora* (Melastomataceae): sazonalidade dos óleos essenciais, metabolômica comparativa e isolamento de metabólitos.

Uberlândia

2026

DIEGO GODINA PRADO

Estudo químico e biológico de *Microlicia parviflora* (Melastomataceae): sazonalidade dos óleos essenciais, metabolômica comparativa e isolamento de metabólitos.

Tese apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Química

Área de concentração: Química

Orientador: Alberto de Oliveira

Coorientador: Luís Carlos Scalon Cunha

Uberlândia

2026

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

P896 Prado, Diego Godina, 1992-
2026 Estudo químico e biológico de *Microlicia parviflora*
(Melastomataceae): sazonalidade dos óleos essenciais,
metabolômica comparativa e isolamento de metabólitos. [recurso
eletrônico] / Diego Godina Prado. - 2026.

Orientador: Alberto de Oliveira.

Coorientador: Luís Carlos Scalon Cunha.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-
graduação em Química.

Modo de acesso: Internet.

DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2026.569>

Inclui bibliografia.

1. Química. I. Oliveira, Alberto de, 1979-, (Orient.). II. Cunha,
Luís Carlos Scalon, 1976-, (Coorient.). III. Universidade Federal de
Uberlândia. Pós-graduação em Química. IV. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Tese de Doutorado Acadêmico, 185, PPGQUI				
Data:	Nove de julho de dois mil e vinte e seis	Hora de início:	14h	Hora de encerramento:	20h
Matrícula do Discente:	12213QMI004				
Nome do Discente:	Diego Godina Prado				
Título do Trabalho:	“Estudo químico e biológico de <i>Microlicia parviflora</i> (Melastomataceae): sazonalidade dos óleos essenciais, metabolômica comparativa e isolamento de metabólitos.”				
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 3	ODS 3 - Saúde e bem-estar: assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades.				

Reuniu-se, por webconferência, no *link*: <https://meet.google.com/qcm-ytmk-csy>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: **Marcos Pivatto**, da Universidade Federal de Uberlândia-IQUFU; **Clecio Sousa Ramos**, da Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE; **Aline Coqueiro**, Universidade Tecnológica Federal do Paraná - campus Ponta Grossa; **Adalberto Manoel da Silva**, do Instituto Federal Catarinense/IFC - Campus Araquari, e **Alberto de Oliveira**, orientador(a) do candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, **Dr. Alberto de Oliveira**, apresentou a Comissão Examinadora e o(a) candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao(à) Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) 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):

Aprovado.

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

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 09/07/2026, às 20:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcos Pivatto, Professor(a) do Magistério Superior**, em 09/07/2026, às 20:21, 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 **Aline Coqueiro, Usuário Externo**, em 09/07/2026, às 20:21, 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 **Clecio Sousa Ramos, Usuário Externo**, em 09/07/2026, às 20:21, 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 **ADALBERTO MANOEL DA SILVA, Usuário Externo**, em 09/07/2026, às 20:29, 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 **7311421** e o código CRC **BAFA0E50**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Uberlândia, ao Instituto de Química, ao Programa de Pós-graduação em Química e ao Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais, por disponibilizar a infraestrutura para a realização do trabalho.

Ao meu orientador Alberto de Oliveira por toda a orientação e todo o aprendizado desde minha iniciação científica.

Ao meu coorientador Luís Carlos Scalon Cunha por toda a ajuda e orientação no desenvolvimento do doutorado e outros projetos.

Ao professor Ludger A. Wessjohan pelo aceite no *Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie* (IPB) e pela orientação durante meu doutorado sanduíche e a Dra. Katrin Franke pela supervisão e orientação ao longo do meu doutorado sanduíche.

Às alunas de iniciação científica que me acompanharam ao longo do meu doutorado: Alessandra Medeiros, Júlia Damasceno, Yasmin Shiray, Júlia Vitor e Sophia Cardoso.

A todos os que me orientaram e me auxiliaram nos experimentos desenvolvidos no IPB: Henriette Uthe, Jonas Kappen, Annegret Laub e aos técnicos Marvin Hempel, Stefanie Dienemann, Martina Brode.

Aos professores Raquel Maria F. de Sousa e João Flávio Petrucí, pelas orientações, conselhos e parcerias ao longo do doutorado.

À professora Dra Rosana do herbário da UFU pela identificação da planta.

À Rede de Laboratórios Multiusuário (RELAM/PROPP) da Universidade Federal de Uberlândia por fornecer os equipamentos e suporte técnico para a realização dos experimentos.

Ao professor Dr. Carlos Henrique Gomes Martins, do Laboratório de Ensaios Antimicrobianos da UFU, e às alunas Sara Lemes de Souza, Anna Lívia Oliveira Santos e Mariana Brentini Santiago pela realização dos ensaios antimicrobianos.

Ao Dr. Mário Machado Martins e às Dra. Tiara da Costa Silva e Dra. Arlene Bispo dos Santos Nossol do Laboratório de nanobiotecnologia da UFU pelas análises de CLAE-EM e CG-EM.

À Dra. Daniela de Melo Resende pelos ensaios anti-trypanosoma, e as Dras. Mariza Gabriela Faleiro de Moura Lodi Cruz e Silvano Maria Fonseca Murta pelos ensaios anti-*Leishmania* conduzidos no Laboratório de Genômica Funcional de Parasitos (GFP) no Instituto René Rachou (FIOCRUZ Minas).

À minha família, aos meus pais Raul José e Elizabete Godina e às minhas irmãs Beatriz Godina e Luciene Aparecida pelo apoio e suporte ao longo da minha trajetória acadêmica.

À minha namorada Karinne Teixeira Gonçalves pelo apoio e incentivo ao longo do meu doutorado.

A todos os alunos e ex-alunos do NuPPeN que fizeram parte dessa jornada acadêmica, especialmente minhas amigas Tiara, Débora e Marília.

Aos meus amigos que fiz ao longo da minha graduação e pós-graduação.

A todos os amigos que fiz no IPB durante meu sanduíche

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

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

RESUMO

A *Microlicia parviflora* (Melastomataceae) é uma espécie pouco estudada, mas há plantas no gênero com atividades biológicas promissoras relatadas. Sendo assim, no presente trabalho, a composição química e o potencial biológico foram avaliados por meio de três abordagens distintas. Inicialmente, os óleos essenciais das folhas, coletadas ao longo de um ano, foram investigados quanto aos seus potenciais antimicrobianos e tiveram suas composições químicas determinadas por espectrometria de massas. Os óleos evidenciaram atividade antibacteriana promissora frente a diferentes patógenos da cavidade oral, destacando-se os resultados inibitórios obtidos para *Porphyromonas gingivalis* e *Actinomyces naeslundii*, com valores de concentração inibitória mínima (CIM) de 0,39 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Por meio de análises estatísticas multivariadas, foi possível agrupar os óleos obtidos em diferentes épocas do ano, relacionando-se a composição química às estações de chuva e seca; também foram avaliados o perfil químico e o potencial biológico dos óleos essenciais das flores, que apresentaram composição levemente distinta da das folhas e foram ativos contra as mesmas bactérias. Em uma segunda abordagem, foram obtidos extratos por maceração das folhas, flores e galhos utilizando hexano e etanol. Esses extratos foram testados contra as mesmas bactérias, contra espécies de *Candida* e contra os protozoários *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania infantum*. Os extratos hexânicos foram ativos contra seis das bactérias testadas, com valores de CIM entre 12,5 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e contra a *L. infantum*, com concentração efetiva (CE_{50}) variando de 0,9 a 3,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Já os extratos etanólicos dos três órgãos e as partições mais polares das folhas e galhos foram ativos contra espécies de *Candida*, incluindo a espécie multirresistente *C. auris*, com valores de CIM de 2,93 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Por fim, foi realizado um estudo comparativo da composição química de folhas, flores, galhos e raízes, utilizando técnicas metabolômicas. Com o auxílio da espectrometria de massas e de análises estatísticas, foi possível diferenciar os órgãos, mostrando que a composição química dos galhos e das raízes se assemelha, enquanto a das folhas e das flores é mais distinta. Esses resultados também foram observados por ressonância magnética nuclear. Os extratos metanólicos dos quatro órgãos foram testados contra fitopatógenos associados a diferentes cultivares e contra células humanas de câncer colorretal e de próstata. Os extratos foram ativos em ambos os ensaios, apresentando percentual de inibição de 100% contra o patógeno *Phytophthora infestans* e contra os dois tipos de células cancerígenas testadas. Além disso, o trabalho levou ao isolamento de dois compostos obtidos de órgãos diferentes: a quercitrina obtida da partição em acetato de etila das folhas e a tricoumaroil-espermidina obtida da partição em acetato de etila das flores. Ambos foram relatados pela primeira vez na espécie

e o derivado fenólico de espermidina, pela primeira vez no gênero. Este consistiu no primeiro estudo realizado com outros órgãos da espécie, além de ser o primeiro estudo para as atividades biológicas testadas.

Palavras-chave: metabolômica; óleos essenciais; antimicrobiano; antiparasitário; anticâncer.

ABSTRACT

Microlicia parviflora (Melastomataceae) is a poorly studied species, but plants of the genus have been reported to exhibit promising biological activities. Therefore, in the present study, the chemical composition and biological potential were evaluated through three distinct approaches. Initially, the essential oils from leaves collected throughout one year were investigated for their antimicrobial potential, and their chemical compositions were determined by mass spectrometry. The oils exhibited promising antibacterial activity against different oral pathogens, with the most notable inhibitory results obtained against *Porphyromonas gingivalis* and *Actinomyces naeslundii*, with minimum inhibitory concentration (MIC) values of 0.39 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Through multivariate statistical analyses, it was possible to group the oils obtained at different times of the year, relating their chemical composition to the rainy and dry seasons; the chemical profile and biological potential of the essential oils from the flowers were also evaluated, which showed a slightly different composition from that of the leaves and were active against the same bacteria. In a second approach, extracts were obtained by maceration of the leaves, flowers, and branches using hexane and ethanol. These extracts were tested against the same bacteria, *Candida* species, and the protozoa *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania infantum*. The hexane extracts were active against six of the bacteria tested, with MIC values ranging from 12.5 to 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, and against *L. infantum*, with an effective concentration (EC_{50}) ranging from 0.9 to 3.8 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The ethanolic extracts from the three organs and the more polar partitions of the leaves and branches were active against *Candida* species, including the multidrug-resistant species *C. auris*, with MIC values of 2.93 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Finally, a comparative study of the chemical composition of leaves, flowers, branches, and roots was performed using metabolomic techniques. With the aid of mass spectrometry and statistical analyses, it was possible to differentiate the organs, showing that the chemical composition of the branches and roots is similar, whereas that of the leaves and flowers is more distinct. These results were also observed by nuclear magnetic resonance spectroscopy. The methanolic extracts of the four organs were tested against phytopathogens associated with different cultivars and against human colorectal and prostate cancer cells. The extracts were active in both assays, showing 100% inhibition of the pathogen *Phytophthora infestans* and against both types of cancer cells tested. In addition, the study led to the isolation of two compounds obtained from different organs: quercitrin obtained from the ethyl acetate partition of the leaves and tricoumaroyl-spermidine obtained from the ethyl acetate partition of the flowers. Both were reported for the first time in the species, and the spermidine derivative was reported for the first

time in the genus. This was the first study conducted on other organs of the species, as well as the first study to investigate the biological activities tested.

Keywords: metabolomics; essential oils; antimicrobial; antiparasitic; anticancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Compostos isolados de plantas usados como fármacos	23
Figura 2 – Compostos derivados de produtos naturais ou obtidos através de produtos naturais	23
Figura 3 – Espécime de <i>Microlicia parviflora</i>	30
Figura 4 – Exemplos de fármacos utilizados contra infecções antifúngicas	36
Figura 5 – Média de índice pluviométrico para a cidade de Uberlândia nos últimos 30 anos	45
Figura 6 – Índice pluviométrico para a cidade de Uberlândia no ano de 2023	45
Figura 7 – TIC do óleo essencial obtido no mês de fevereiro (EOMP1)	46
Figura 8 – TIC do óleo essencial obtido no mês de abril (EOMP2)	46
Figura 9 – TIC do óleo essencial obtido no mês de agosto (EOMP3)	46
Figura 10 – TIC do óleo essencial obtido no mês de agosto (EOMP4)	47
Figura 11 – TIC do óleo essencial obtido no mês de outubro (EOMP5)	47
Figura 12 – TIC do óleo essencial obtido no mês de dezembro (EOMP6)	47
Figura 13 – TIC do óleo essencial das flores (EOMP7)	47
Figura 14 – Proposta de fragmentação para alguns compostos majoritários nos óleos essenciais	55
Figura 15 – Mapa de calor (heatmap) para os óleos das folhas da <i>Microlicia parviflora</i>	57
Figura 16 – Análise de agrupamento hierárquico para os óleos da <i>Microlicia parviflora</i>	58
Figura 17 – Análise de componentes principais (PCA) dos óleos das folhas de <i>Microlicia parviflora</i>	59
Figura 18 – Fármacos usados para tratamento de leishmaniose	69
Figura 19 – Fármacos utilizados no tratamento de doença de Chagas	71
Figura 20 – Fluxograma de preparo dos extratos hexânicos e etanólicos	74
Figura 21 – Fluxograma da obtenção das partições em diferentes solventes por extração do tipo líquido-líquido	76
Figura 22 – Cromatogramas de pico base para a partição acetato de etila das folhas (A), extrato etanólico das flores (B), e partição <i>n</i> -butanol (C) dos galhos.	83
Figura 23 – Estrutura dos compostos anotados por CLAE-IES-EM/EM nos extratos e partições da <i>Microlicia parviflora</i>	88
Figura 24 – Estrutura dos compostos anotados por CLAE-IES-EM/EM nos extratos e partições da <i>Microlicia parviflora</i>	89
Figura 25 – Proposta de fragmentação para a penduculagina	90

Figura 26 – Proposta de fragmentação para a quercetina.....	91
Figura 27 – Cromatoplaça do composto 1 revelado com NP/PEG.	93
Figura 28: Reação entre um flavonoide e o reagente NP/PEG.....	94
Figura 29 – Espectro de MS1 do composto I (t_R 5,77 minutos).....	94
Figura 30 – Espectro de fragmentação do m/z 447,0894.....	95
Figura 31 – Mecanismo de Retro Diels-Alder para um flavonoide	95
Figura 32 – Estrutura geral de um flavonoide e possíveis estruturas para o m/z 301 [M – H] ⁻	96
Figura 33 – Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CD ₃ COCD ₃) do composto I isolado da partição em acetato de etila das folhas de <i>M. parviflora</i>	97
Figura 34 – Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) do composto I isolado da partição acetato de etila das folhas de <i>M. parviflora</i>	99
Figura 35 – Expansão do mapa de contorno HMBC, ampliado na região do H-1”.	100
Figura 36 – Cromatogramas sobrepostos dos extratos em metanol e em solução de metanol:água (4:1) no modo negativo	125
Figura 37 – Cromatogramas sobrepostos dos extratos em metanol e em solução de metanol:água (4:1) no modo positivo	125
Figura 38 – Quantidade de amostra vs intensidade do sinal para o m/z 615	126
Figura 39 – Cromatogramas dos extratos etanólicos para os quatro órgãos no modo negativo	127
Figura 40– Cromatogramas dos extratos etanólicos para os quatro órgãos no modo positivo	127
Figura 41 – <i>Heatmap</i> para os dados de CLAE-EM obtidos em modo negativo	129
Figura 42 – Espectro de MS1 do ácido chebulágico (m/z 476,0410 Δ = 0,84 ppm)	134
Figura 43 – Análise de HCA para os extratos metanólicos no modo negativo	136
Figura 44 – Análise de PCA para os extratos metanólicos no modo negativo.....	137
Figura 45 – Análise de PCA para os extratos no modo positivo.....	138
Figura 46 – Espectro de RMN de ¹ H obtidos para os extratos das folhas extraídos em diferentes soluções de metanol e água	139
Figura 47 – Espectro de RMN de ¹ H (CD ₃ DH, 125 MHz) obtido para as folhas, flores, galhos e raízes da <i>M. parviflora</i>	140
Figura 48 – Expansão do mapa de contorno HSQC do extrato metanólico das flores na região entre δ 4,15 e 5,50 / 91 e 110 ppm.....	142
Figura 49 – Expansão do mapa de contorno HSQC do extrato metanólico das flores na região entre δ 5,9 e 8,3 / 90 e 135 ppm.....	143

Figura 50 – Figura 44 – Expansão do mapa de contorno HSQC do extrato metanólico das folhas na região entre δ 6,0 e 8,2 / 90 e 150 ppm.....	144
Figura 51 – Expansão do mapa de contorno HMBC do extrato metanólico das flores na região entre δ 5,3 e 8,4 / δ 100 e 180 ppm.....	145
Figura 52 – Cromatograma da fração B1-16	146
Figura 53 – Cromatograma de íons totais no modo negativo para o composto II	147
Figura 54 – Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz) para o composto II	147
Figura 55 – Estrutura do tricoumaroil-espermidina	148
Figura 56 – Cromatograma de íon extraído para o m/z 584 nos extratos dos quatro órgãos da <i>Microlicia parviflora</i>	150
Figura 57 – Foto de ramos de <i>Microlicia parviflora</i> (Melastomataceae) em período de floração	150

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Óleos essenciais com atividade contra espécies de <i>Candida</i>	37
Tabela 2 – Condições climáticas nos dias de coleta das folhas para preparo dos óleos essenciais.	43
Tabela 3 – Rendimento dos óleos essenciais das flores e folhas da <i>Microlicia parviflora</i>	44
Tabela 4 – Compostos anotados nos óleos essenciais das folhas e flores de <i>Microlicia parviflora</i>	48
Tabela 5 – Atividade antibacteriana dos óleos essenciais da <i>Microlicia parviflora</i>	61
Tabela 6 – Atividade anti- <i>Candida</i> dos óleos essenciais das flores e folhas da <i>Microlicia parviflora</i>	63
Tabela 7 – Porcentagem de extração no preparo dos extratos hexânicos e etanólicos.....	81
Tabela 8 – Rendimento das extrações líquido-líquido	82
Tabela 9 – Anotação dos compostos dos extratos e partições de <i>Microlicia parviflora</i>	84
Tabela 10 – Dados de RMN de ^1H , ^{13}C , HMBC e HSQC obtidos para a quercitrina e reportados na literatura	101
Tabela 11 – Atividade anti- <i>Candida</i> dos extratos e partições de <i>Microlicia parviflora</i>	103
Tabela 12 – Atividade antibacteriana dos extratos e partições de <i>Microlicia parviflora</i> contra espécies da cavidade oral.....	106
Tabela 13 – Atividade antiparasitária dos extratos e partições de <i>Microlicia parviflora</i>	109
Tabela 14 – Anotação dos compostos marcados como importantes pelo heatmap obtido para os extratos no modo negativo.....	130
Tabela 15 – Dados de RMN ^{13}C obtidos para o tricoumaroil-espermedina.....	149
Tabela 16 – Resultados obtidos para avaliação antibacteriana dos extratos de <i>Microlicia parvilofra</i>	151
Tabela 17 – Resultados de inibição de crescimento de células de câncer de colorretal e de próstata	152
Tabela 18 – Atividades biológicas contra fitopatógenos.....	153

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C.	Antes de Cristo
APCI	Ionização química à pressão atmosférica
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CBM	Concentração bactericida mínima
CC ₅₀	50% da concentração citotóxica
CCD	Cromatografia em camada delgada
CE ₅₀	50% da concentração efetiva
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
CI ₅₀	Concentração inibitória
CIM	Concentração inibitória mínima
CLAE-EM	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas
CLAE-IES-EM/EM	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas com ionização por eletrospray
CLUE	Cromatógrafos líquidos de ultraeficiência
CQ	Controle de qualidade
DDA	Aquisição Dependente de Dados
DMSO	Dimetilsulfóxido
DTNs	Doenças tropicais negligenciadas
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HCA	<i>Hierarchical Cluster Analysis</i>
HHDP	Hexahidroxidifenil
HMDSO	Hexametildissiloxano
HUFU	Herbário da Universidade Federal de Uberlândia
IES	Ionização por eletrospray
IS	Índice de seletividade
LDA	Análise discriminante linear
MEP	Metileritritol fosfato

MoNa	<i>Mass Bank of North America</i>
MPP	<i>Mass Profiler Professional</i>
MVA	Ácido mevalônico
NP/PEG	Reagente para flavonoides
NP	Difenilboriloxietilamina
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
IR	Índice aritmético
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCA	Análise de componentes principais
PEG	PEG4000 – Polietilenoglicol
PLS	Mínimos quadrados parciais
RDA	Retro Diels-Alder
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
TIC	Total Ion Chromatogram
t _R	Tempo de retenção
UV-vis	Ultravioleta e visível

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	21
2	CAPÍTULO 2 – REVISÃO DA ESPÉCIE <i>MICROLICIA PARVIFLORA</i> E DO GÊNERO <i>MICROLICIA</i>	25
2.1	Família Melastomataceae A. Juss	25
2.2	A tribo Lavoisiereae	26
2.3	O gênero <i>Microlicia</i>	26
2.3.1	<i>Estudos relacionados a óleos essenciais de espécies de Microlicia</i>	27
2.3.2	<i>Estudo com extratos de espécies de Microlicia e compostos isolados</i>	28
2.4	A espécie <i>Microlicia parviflora</i>	30
2.5	Conclusões	31
3	CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>MICROLICIA PARVIFLORA</i>	33
3.1	Introdução	33
3.1.1	<i>Óleos essenciais</i>	33
3.1.2	<i>Bactérias da cavidade oral</i>	34
3.1.3	<i>Fungos do gênero Candida</i>	35
3.2	Objetivos	38
3.3	Procedimentos experimentais	39
3.3.1	<i>Materiais e reagentes</i>	39
3.3.1.1	<i>Instrumentação</i>	39
3.3.1.2	<i>Reagentes</i>	39
3.3.2	<i>Procedimento experimental</i>	39
3.3.2.1	<i>Coleta e identificação do material vegetal</i>	39
3.3.2.2	<i>Obtenção dos óleos essenciais</i>	40
3.3.2.3	<i>Análise dos óleos essenciais por CG-EM</i>	40
3.3.2.4	<i>Análise estatística</i>	41
3.3.2.5	<i>Ensaio antimicrobianos</i>	42
3.4	Resultados e discussões.....	43
3.4.1	<i>Condições climáticas no dia das coletas.</i>	43
3.4.2	<i>Avaliação do rendimento e perfil sazonal dos óleos essenciais</i>	43

3.4.3	<i>Identificação química por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).....</i>	45
3.4.4	<i>Avaliação estatística multivariada da composição volátil.....</i>	56
3.4.5	<i>Atividades biológicas dos óleos essenciais.</i>	60
3.4.5.1	<i>Potencial antibacteriano frente a microrganismos da cavidade oral.....</i>	60
3.4.5.2	<i>Potencial antifúngico frente a espécies do gênero Candida.....</i>	63
3.5	Conclusões	64
4	CAPÍTULO 4 – ATIVIDADES ANTIBACTERIANA, ANTIFÚNGICA E ANTIPARASITÁRIA DOS EXTRATOS DE MICROLICIA PARVIFLORA	65
4.1	Introdução	65
4.1.1	<i>Influência do método de extração na composição química dos extratos</i>	65
4.1.2	<i>Atividades antifúngica e antibacteriana</i>	66
4.1.3	<i>Doenças tropicais negligenciadas</i>	67
4.1.3.1	<i>Leishmaniose</i>	68
4.1.3.2	<i>Doença de Chagas.....</i>	70
4.2	Objetivos.....	72
4.3	Procedimentos experimentais	72
4.3.1	<i>Reagentes e equipamentos.....</i>	72
4.3.1.1	<i>Instrumentação</i>	72
4.3.1.2	<i>Reagentes.....</i>	72
4.3.2	<i>Coleta do material vegetal</i>	73
4.3.3	<i>Preparo dos extratos e partições.....</i>	73
4.3.3.1	<i>Preparo dos extratos.....</i>	73
4.3.3.2	<i>Preparo das partições a partir dos extratos etanólicos por extração líquido-líquido.....</i>	75
4.3.4	<i>Análise por CLAE-EM.....</i>	77
4.3.5	<i>Fracionamento da partição em acetato de etila das folhas.....</i>	77
4.3.6	<i>Preparo dos reagentes NP/PEG e anisaldeído.....</i>	78
4.3.6.1	<i>Preparo do reagente NP/PEG.....</i>	78
4.3.6.2	<i>Preparo do reagente anisaldeído</i>	78
4.3.7	<i>Atividades antimicrobianas e antiparasitárias.....</i>	78
4.3.7.1	<i>Atividade antifúngica e antibacteriana</i>	78
4.3.7.2	<i>Atividade antitripanossoma e antileishmania</i>	79
4.3.7.2.1	<i>Atividade antitripanossoma</i>	79
4.3.7.2.2	<i>Atividade anti-Leishmania</i>	79

4.3.7.2.3	Ensaio de citotoxicidade em macrófagos derivados de células THP-1	80
4.4	Resultados e discussões.....	81
4.4.1	Rendimento dos extratos.....	81
4.4.2	Rendimento das partições.....	81
4.4.3	Análise por CLAE-EM.....	82
4.4.4	Isolamento e elucidação do composto I.....	92
4.4.5	Ensaio biológico.....	102
4.4.5.1	Atividade antifúngica.....	102
4.4.5.2	Atividade antibacteriana	105
4.4.5.3	Atividades antiparasitárias dos extratos e partições de <i>Microlicia parviflora</i>	108
4.5	Conclusões	110
5	AVALIAÇÃO E COMPARAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO E DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS METANÓLICOS DE <i>MICROLICIA PARVIFLORA</i>	112
5.1	Introdução	112
5.1.1	Ciências ômicas e suas aplicações na química de produtos naturais.....	112
5.1.2	Atividade antibacteriana.....	114
5.1.3	Fungos e outros fitopatógenos no contexto de lavouras	115
5.1.4	Câncer colorretal e de próstata	116
5.2	Objetivos.....	116
5.3	Procedimentos experimentais	117
5.3.1	Coleta do material vegetal	117
5.3.2	Secagem e acondicionamento do material vegetal	117
5.3.3	Materiais e reagentes	117
5.3.3.1	Equipamentos	117
5.3.3.2	Reagentes	118
5.3.4	Análise metabolômica.....	118
5.3.4.1	Teste do solvente extrator e condições cromatográficas.....	118
5.3.4.2	Teste de quantidade de material vegetal utilizado no preparo do extrato	119
5.3.4.3	Análises de CLAE-EM para realização dos estudos metabolômicos	119
5.3.4.4	Metabolômica	120
5.3.5	Comparação dos órgãos de <i>Microlicia parviflora</i> por RMN.....	120
5.3.5.1	Escolha do solvente	120
5.3.5.2	Obtenção dos espectros de RMN.....	121

5.3.6	<i>Preparo de extratos para isolamento de compostos.....</i>	121
5.3.6.1	<i>Filtração em Diaion HP20</i>	121
5.3.7	<i>Isolamento do composto II.....</i>	122
5.3.8	<i>Análise de RMN para o composto isolado II.....</i>	122
5.3.9	<i>Ensaio biológico.....</i>	122
5.3.9.1	<i>Atividade anticâncer.....</i>	122
5.3.9.2	<i>Atividade antibacteriana</i>	123
5.3.9.3	<i>Atividade antifúngica.....</i>	124
5.4	<i>Resultados e discussões.....</i>	124
5.4.1	<i>Comparação dos órgãos da <i>Microlicia parviflora</i> por CLAE-EM.....</i>	124
5.4.1.1	<i>Escolha do solvente extrator e parâmetros cromatográficos.....</i>	124
5.4.1.2	<i>Determinação da quantidade de amostra vegetal na extração</i>	125
5.4.1.3	<i>Análise estatística</i>	126
5.4.2	<i>Análise comparativa dos extratos por RMN.....</i>	139
5.4.3	<i>Isolamento e elucidação do composto II.....</i>	145
5.4.4	<i>Atividades biológicas.....</i>	150
5.4.4.1	<i>Atividade antibacteriana</i>	150
5.4.4.2	<i>Inibição do crescimento de células de câncer colorretal e de próstata</i>	151
5.4.4.3	<i>Atividade contra fitopatógenos importantes em lavouras</i>	152
5.5	<i>Conclusões</i>	154
6	<i>REFERÊNCIAS.....</i>	155
	APÊNDICE A – Cromatogramas e espectros de massas referentes aos óleos essenciais.....	178
	APÊNDICE B – espectros de rmn da quercitrina	179
	apêndice c – IMAGENS REFERENTES AO ESTUDO METABOLÔMICO PARA A MICROLICIA PARVIFLORA.....	182
	apêndice d – espectros de rmn para o estudo comparativo de diferentes órgãos de <i>Microlicia parviflora</i>.....	186
	apêndice e – espectros referentes ao tricoumaoil-espermidina	189
	APÊNDICE F – dados referentes às frações dos extratos hidrometanólicos das flores.....	190

1 CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

A química de produtos naturais é uma área da química orgânica voltada ao estudo de substâncias produzidas por fontes naturais, como plantas, microrganismos e animais. Essas substâncias são classificadas como metabólitos especializados (secundários) e centrais (primários); algumas referências consideram como produtos naturais apenas os metabólitos especializados (Buchanan; Gruissem; Jones, 2015; Sharma *et al.*, 2022)

Os metabólitos centrais estão normalmente relacionados a funções primordiais dos seres vivos, como a fotossíntese, a respiração, a estrutura celular e tecidual, entre outras. Já os metabólitos especializados apresentam uma enorme diversidade entre os seres, mesmo dentro de um mesmo reino, ou até em níveis taxonômicos menores, como família ou gênero; possuem funções diversas e específicas, como propriedades antimicrobianas; defesa contra herbívoros e ação inseticida; auxiliam na proteção da planta contra a radiação UV-vis; atraem seres de interesse, como polinizadores, entre outras funções (Buchanan; Gruissem; Jones, 2015; Sharma *et al.*, 2022)

O uso e o foco dos estudos sobre essas substâncias abrangem diferentes campos. Produtos naturais podem ser usados na agricultura como pesticidas, herbicidas ou antimicrobianos (Catani *et al.*, 2022; Godlewska; Ronga; Michalak, 2021); em produtos cosméticos devido às suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas, entre outras (Liu, 2022), ou como fragrâncias, que representam uma aplicação mais relacionada aos óleos essenciais (Sharmeen *et al.*, 2021). Porém, provavelmente o principal uso e a maior fonte de pesquisas são para fins medicinais (Bernardini *et al.*, 2018; Yuan *et al.*, 2016).

No contexto das pesquisas para fins medicinais, essa área da química desempenha um papel fundamental na descoberta de substâncias que servem de base para o desenvolvimento de fármacos. Um estudo de revisão conduzido por Newman e Cragg (2020) mostra que 66,7% de todos os fármacos aprovados pela FDA (*Food and Drug Administration*) entre 1981 e 2019 estão relacionados à química de produtos naturais, incluindo compostos com estrutura idêntica à produzida pela fonte natural, ou compostos inspirados em alguma molécula natural, podendo, por exemplo, ter o grupo farmacofórico idêntico ao natural, porém com modificações estruturais.

A descoberta de fármacos a partir de plantas está diretamente ligada ao uso para fins medicinais que vem desde as civilizações mais antigas. São relatados escritos antigos com tratados médicos para diversas enfermidades utilizando diferentes espécies vegetais

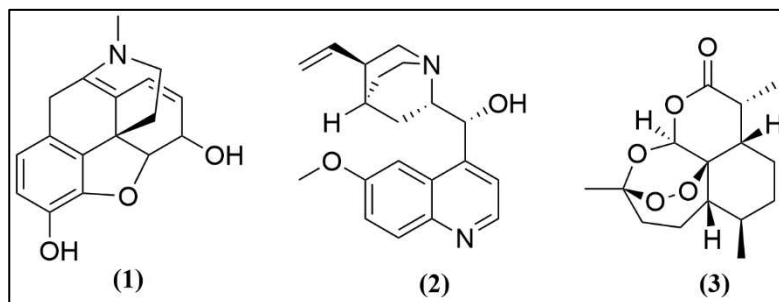
relacionados à China Antiga (2700 a.C.), no Egito Antigo (2900 a.C.), e na Índia (1000 a.C.), entre outros (Newman; Cragg, 2010).

A utilização de plantas para fins medicinais ainda se faz presente principalmente em países economicamente mais frágeis, nos quais o acesso a medicamentos é dificultado, como no continente africano, região onde estimativas indicam que em torno de 80% da população utiliza a medicina tradicional (WHO, 2022). Essa prática também ocorre em países que possuem essa tradição bastante difundida em sua cultura, como na China, onde a Medicina Tradicional Chinesa ainda é parte importante do sistema público de saúde (Zhou *et al.*, 2024).

Todo esse conhecimento agregado e difundido ao longo dos anos pelas diversas civilizações, aliado ao avanço da ciência, especialmente da química do carbono; o avanço das técnicas cromatográficas para possibilitar as separações e das técnicas de elucidação estrutural, como a espectrometria de massas e a ressonância magnética nuclear, tornou possível, nos dias atuais, o isolamento e a identificação dos compostos responsáveis pelo uso farmacológico dessas plantas (Bernardini *et al.*, 2018; Gashaw; Desta; Yaya, 2025).

São diversos exemplos de substâncias amplamente usadas relacionadas às fontes naturais. Alguns exemplos clássicos incluem a morfina (**1**), um alcaloide isolado da papoula (*Papaver somniferum*), considerado o primeiro composto de origem vegetal isolado e empregado como fármaco. Desde o seu isolamento, a morfina tem sido amplamente utilizada na prática clínica devido à sua potente propriedade analgésica. No contexto da malária, uma doença tropical negligenciada, destacam-se dois exemplos de fármacos de origem natural. A quinina (**2**), isolada das cascas de espécies do gênero *Cinchona*, foi utilizada por muito tempo no tratamento da doença, porém foi sendo substituída devido à sua toxicidade. Atualmente, a artemisinina (**3**), isolada da *Artemisia annua*, constitui um dos principais agentes antimaláricos. A artemisinina ainda é produzida por meio da extração da *Artemisia annua*, que permanece como a principal fonte dessa substância (Newman, 2022; Qamar *et al.*, 2024). As estruturas estão representadas na Figura 1.

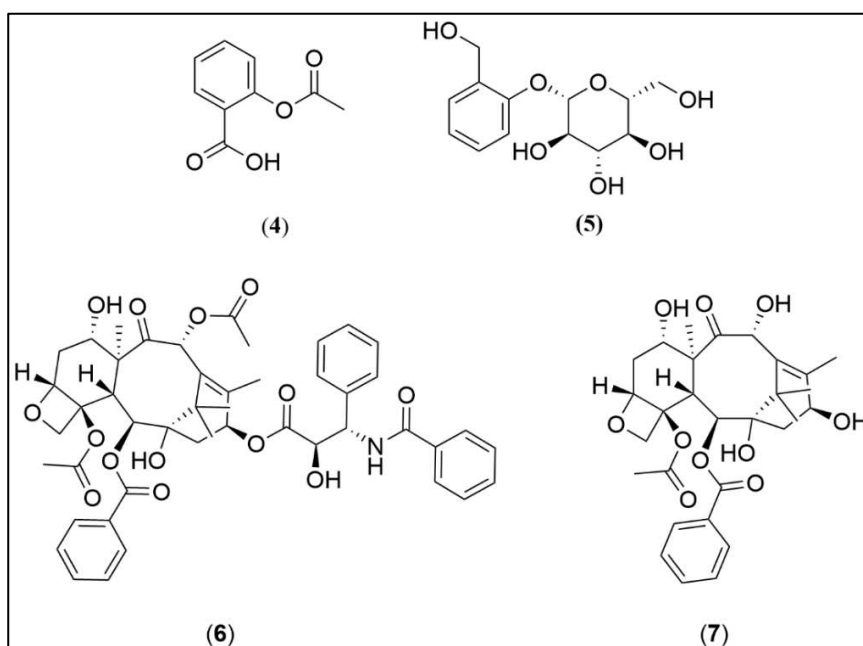
Figura 1 – Compostos isolados de plantas usados como fármacos



Fonte: O autor (2026)

Como já descrito, há também compostos inspirados em produtos naturais, como o ácido acetilsalicílico (4), que é um composto sintético, sendo usado ainda atualmente como analgésico, que foi sintetizado na tentativa de se obter a salicina (5), um composto natural extraído da casca do salgueiro (*Salix alba*) (Bernardini *et al.*, 2018). Alguns compostos também são obtidos por semissíntese, como o taxol (6), um fármaco utilizado no tratamento de câncer de ovário, mama e pulmão, extraído da casca da *Taxus brevifolia*, porém com baixo rendimento. Apesar do método de extração ainda ser o principal meio de obtenção do taxol, ele também é produzido a partir de precursores biossintéticos extraídos dos galhos de espécies do gênero *Taxus*, como a 10-desacetilbacatina III (7), ou por meio de precursores produzidos por bactérias modificadas geneticamente, como *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* e outras (Gallego-jara *et al.*, 2020). A Figura 2 traz uma representação dos compostos.

Figura 2 – Compostos derivados de produtos naturais ou obtidos através de produtos naturais



Fonte: O autor (2026)

Neste contexto, o Brasil pode desempenhar um papel fundamental na descoberta de novas substâncias. O país possui uma tradição de uso de plantas para fins medicinais proveniente dos povos originários, que empregam inúmeras espécies sendo utilizadas para as mais diversas enfermidades (Dutra *et al.*, 2016). Além disso, o território nacional detém uma grande biodiversidade, com elevado índice de endemismo e com inúmeras espécies ainda não estudadas (Ellwanger; Nobre; Chies, 2023; Ferreira; Arcanjo; Peron, 2023). O Cerrado, por exemplo, é o segundo maior bioma brasileiro em tamanho, porém é o maior em biodiversidade, sendo considerado a savana mais biodiversa do planeta (Alencar *et al.*, 2020).

2 CAPÍTULO 2 – REVISÃO DA ESPÉCIE *Microlicia parviflora* E DO GÊNERO *Microlicia*

Este capítulo apresenta uma revisão da literatura sobre a família Melastomataceae, a tribo Lavoisiereae, o gênero *Microlicia* e a espécie estudada neste trabalho, a *Microlicia parviflora* (D.Don) Versiane & R.Romero, abordando aspectos taxonômicos, distribuição geográfica, a composição química de extratos ou óleos essenciais obtidos dessas espécies, assim como avaliações do potencial biológico desses extratos ou óleos essenciais.

2.1 Família Melastomataceae A. Juss

A família Melastomataceae é uma das mais importantes entre as angiospermas, com aproximadamente 5.858 espécies, distribuídas em 173 gêneros. Essa família é amplamente distribuída nas regiões tropicais e neotropicais do planeta, especialmente nas áreas neotropicais, com 64% das espécies encontradas nas Américas (Ulloa Ulloa *et al.*, 2022).

No Brasil foram identificadas aproximadamente 1453 espécies, sendo em torno de 929 espécies endêmicas no país, com maior predominância nos biomas do Cerrado e da Mata Atlântica, podendo também ser encontradas nas bacias da região amazônica (Ulloa Ulloa *et al.*, 2022).

A família possui algumas espécies com uso na medicina tradicional, principalmente no gênero *Miconia*, que é o maior da família com aproximadamente 1.900 espécies (Ulloa Ulloa *et al.*, 2022). Um estudo de revisão realizado por da Silva *et al.*, (2022) cita algumas espécies de *Miconia* com relatos de uso na medicina tradicional, como a *Miconia albicans* (canela de velho) que é utilizada para o tratamento de dores, e a *Miconia rubiginosa* (capiroquinha), empregada em infecções na garganta. Além disso, devido ao histórico do uso tradicional, muitas espécies foram investigadas quanto ao seu potencial biológico; segundo o mesmo estudo, as atividades mais reportadas para o gênero são antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica, antiparasitária e antioxidante.

Além dos estudos sobre as propriedades biológicas de espécies da família, há também investigações relatando suas composições químicas. A revisão feita por Serna; Martínez, (2015) apresenta as principais classes de compostos isolados em diferentes espécies da família. No geral, as espécies de Melastomataceae se caracterizam por serem ricas em compostos fenólicos, tais como ácidos fenólicos, flavonoides, taninos hidrolisáveis e antocianinas. No entanto, existem estudos que relatam o isolamento de triterpenos e alquil-benzoquinonas.

Adicionalmente, a revisão de Umamaheswari; Asha, (2025) aponta a presença de alcaloides, saponinas e esteroides no grupo, expandindo as classes já citadas.

Apesar dos trabalhos relatados, esta é uma família ainda pouco explorada. Um trabalho de revisão feito por Cunha; Cruz; Severo Menezes, (2021) sobre o gênero *Miconia*, afirma que apenas 21 espécies do gênero possuem trabalhos reportados, o que evidencia a escassez de estudos na família, mesmo sendo este o gênero mais estudado e com o maior número de espécies.

2.2 A tribo Lavoisiereae

Atualmente, a tribo Lavoisiereae compreende três gêneros: *Rhynchanthera*, *Poteranthera* e *Microlicia*, com aproximadamente 270 espécies. O gênero *Microlicia* é o maior da tribo, com aproximadamente 250 espécies (Pacífico; Almeda, 2022).

A tribo passou por uma recente reclassificação em nível de gênero. Anteriormente, era composta por sete gêneros; além dos três já citados, incluía também *Chaetostoma*, *Lavoisiera*, *Stenodon* e *Trembleya*. Em um estudo filogenético feito por Versiane et al., (2021), os quatro gêneros foram reclassificados como *Microlicia*. Assim, a espécie em estudo, antes denominada *Trembleya parviflora* (D.Don) Cogn., agora está incorporada ao gênero *Microlicia*, passando a se chamar *Microlicia parviflora* (D.Don) Versiane & R.Romero. Este é o nome que será adotado neste trabalho, assim como os nomes atualizados das demais espécies que anteriormente pertenciam aos gêneros citados.

O próprio nome da tribo foi alterado recentemente. O termo Lavoisiereae já havia sido usado no passado, entretanto, durante determinado período, foi substituído por Microlicieae e, atualmente, voltou a ser adotado para a tribo (Pacífico; Almeda, 2022). Essa dificuldade de distinção entre os gêneros já era reportada anteriormente, com estudos que buscavam melhores formas de separar as espécies dentro da tribo. Dentre eles, destaca-se um trabalho cujo foco foi verificar as diferenças por meio do metabolismo de uma classe específica de metabólitos especializados, os flavonoides (Bomfim-Patricio et al., 2001; Pacífico; Almeda, 2022).

2.3 O gênero *Microlicia*

O gênero *Microlicia* é o segundo maior dentro da família, com cerca de 250 espécies. Sua distribuição geográfica abrange principalmente regiões desde o sul do México até o Brasil e o Paraguai, com predominância em regiões de campos rupestres e no Cerrado, ambientes que

abrigam inúmeras espécies endêmicas nessas regiões. Estima-se que em torno de 95% das espécies sejam endêmicas no Brasil, ocorrendo principalmente nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás, com grande índice de endemismo no estado de Minas Gerais (Pacífico; Almeda, 2022; Penneys *et al.*, 2022).

Em relação às espécies com uso na medicina tradicional, não foram encontrados relatos para o gênero. O único uso reportado para o grupo é o das folhas de *Microlicia phlogiformis* (antiga *Trembleya phlogiformis*) como corante amarelo na confecção de tecidos de lã e algodão (Sá; Senna-valle; Almeida, 2007).

O gênero *Microlicia* é pouco explorado quanto à composição química e ao potencial biológico. Porém, há algumas espécies com estudos reportados, tanto em relação à composição química de extratos e óleos essenciais quanto à atividade biológica frente a diferentes patógenos, incluindo as espécies recentemente incorporadas ao gênero.

2.3.1 Estudos relacionados a óleos essenciais de espécies de *Microlicia*

Em relação aos óleos essenciais de espécies de *Microlicia*, algumas delas possuem trabalhos reportados quanto à sua composição química. A *Microlicia graveolens* possui dois trabalhos, em um deles, o óleo essencial das partes aéreas foi analisado por CG-EM e foram anotados 13 compostos, sendo o acetato de *trans*-pinocarveol o composto majoritário, representando 78,9% da composição (Toudahl *et al.*, 2012). Já no segundo trabalho, foi realizada a extração dos óleos essenciais em dois diferentes meses, março e junho, e atribuiu-se o acetato de *cis*-pinocarveol como composto majoritário, com porcentagens de 83,59% e 76,89%; os autores sugerem que, por se tratar de isômeros constitucionais, a anotação no primeiro trabalho pode ter sido feita de forma incorreta (Seibert *et al.*, 2025).

Outra espécie com dois trabalhos reportados é a *M. phlogiformis*. Um primeiro trabalho reportou a obtenção dos óleos essenciais das folhas por hidrodestilação. A anotação por CG-EM, resultou em um total de 36 compostos, apresentando como majoritários os seguintes compostos: álcool oleico (7,76%), ácido dodecanoico (4,01%), neril acetona (3,92%) e α -santaleno (3,72%). Esse perfil metabólico foi considerado mais diversificado quando comparado com o da *M. graveolens* (Fernandes *et al.*, 2016). Já o segundo trabalho verificou a variação da composição química desses óleos em diferentes meses do ano. Foram preparados 12 óleos. Estatisticamente, os óleos apresentaram diferenças em relação à composição química, variando tanto qualitativamente, na presença de alguns compostos, quanto quantitativamente, na maioria dos compostos, inclusive nos majoritários. Além disso, esse trabalho também

realizou a extração dos óleos essenciais das flores, apresentando os seguintes compostos majoritários: *n*-heneicosano (33,5%), fitol (12,3%), *n*-tricosano (8,4%) e ácido linoleico (6,1%) (Fernandes *et al.*, 2017).

A *Microlicia crenulata* também foi estudada quanto aos seus óleos essenciais. O trabalho de Pereira *et al.*, (2015) realizou a extração dos óleos das partes aéreas na estação chuvosa e na estação seca. Os óleos apresentaram uma composição variada, com diferenças qualitativas e quantitativas entre as duas coletas. Os compostos em maior concentração foram o *trans*-pinocarveol (6,3–8,9%), α -terpineol (3,8–7,5%) e o mirtenal (5,4–7,8%) (Pereira *et al.*, 2015).

Alguns desses trabalhos citados também verificaram o potencial biológico desses óleos. Os óleos obtidos da *M. graveolens* mostraram-se ativos contra cinco diferentes espécies de bactérias Gram-positivas (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*) com valores de CIM (concentração inibitória mínima) variando de 15,6 a 250 mg mL⁻¹ para os óleos testados na sua forma livre e de 3,12 a 25 mg mL⁻¹ quando testados em nanoemulsões. O óleo também foi ativo contra o protozoário *Trypanosoma cruzi*, com CE₅₀ (concentração inibitória) de 2,3 mg mL⁻¹ para o óleo puro e 60,4 para a nanoemulsão (Seibert *et al.*, 2025).

O óleo essencial da *M. crenulata* apresentou atividade promissora contra *Pseudomonas aeruginosa*, com CIM de 128 µg mL⁻¹. O óleo também apresentou atividade contra os fungos *Aspergillus niger* (CIM entre 500 e 1000 µg mL⁻¹), *Aspergillus flavus* e *Saccharomyces cerevisiae* (CIM entre 250 e 500 µg mL⁻¹) (Pereira *et al.*, 2015).

2.3.2 Estudo com extratos de espécies de *Microlicia* e compostos isolados

Em relação a extratos de *Microlicia*, há também alguns trabalhos reportados, com alguns deles levando ao isolamento de compostos. O trabalho que compreendeu o maior número de espécies e compostos isolados foi realizado por Bomfim-Patrício *et al.*, (2001). Na tentativa de verificar as diferentes classes de flavonoides presentes em espécies de três gêneros da tribo Lavoisiereae, foram preparados extratos hidrometanólicos de 33 diferentes espécies do gênero *Microlicia* e dos extintos *Lavoisiera* e *Trembleya*. O trabalho isolou 116 diferentes flavonoides, sendo 69 flavonóis e 47 flavonas, tanto nas formas agliconas quanto nas glicosiladas.

A *Microlicia pulcherrima* (antiga *Lavoisiera pulcherrima*) está entre as espécies presentes no trabalho de Bomfim-Patrício *et al.*, (2001), no qual 19 flavonoides foram isolados da espécie. Além disso, em outro trabalho foram isolados do extrato em clorofórmio dos galhos,

o ácido betulínico, a betulina e uma mistura de ésteres de ácido ferúlico; do extrato etanólico dos frutos foi isolado o hexadecanoato de hexadecila (Jamal *et al.*, 1997).

Em relação à *Microlicia hatschbachii*, foram isolados dois diterpenos labdânicos do extrato hexânico das folhas, o ácido labd-8(17)-en-15-oico e o ácido labd-8(17),13-dien-15-oico (Cassiano *et al.*, 2014). Da espécie *Microlicia laniflora* (antiga *Trembleya laniflora*), foram isoladas uma flavona, a 5-hidroxi-7,40-dimetoxiflavona, e uma mistura de três triterpenos, a α -amirina, β -amirina, e o lupeol (Ventura *et al.*, 2007). Ainda em relação a essa espécie, no trabalho de Bomfim-Patrício *et al.*, (2001), nove flavonóis foram isolados.

Da *M. phlogiformis*, foram isolados dez flavonoides das folhas no estudo realizado por Bomfim-Patrício *et al.*, (2001). A espécie também possui outro estudo, no qual foi realizada uma prospecção dos extratos e partições utilizando reagentes específicos para diferentes classes de metabólitos especializados. Os extratos apresentaram em sua composição a presença de flavonoides, cumarinas, taninos hidrolisáveis, antraquinonas e saponinas (Fernandes *et al.*, 2016).

Algumas espécies tiveram trabalhos em que só o potencial biológico foi avaliado. Os extratos etanólicos e hexânicos da espécie *M. phlogiformis*, assim como as partições obtidas a partir do extrato etanólico, foram testados contra algumas espécies de fungos e bactérias. As partições em *n*-butanol, acetato de etila e água foram ativas contra as diferentes espécies de fungos testadas. Foram testadas espécies dos gêneros *Candida*, *Cryptococcus* e *Trichophyton*. Já em relação às bactérias, os extratos etanólicos e hexânicos e as partições em acetato de etila e *n*-butanol foram ativos contra três espécies: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* e *Micrococcus luteus* (Fernandes *et al.*, 2016).

Os extratos hexânicos da *M. hatschbachii* apresentaram promissora atividade antibacteriana contra sete espécies de diferentes gêneros testadas, com valores de CIM entre 39,06 e 78,12 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e CBM (Concentração Bactericida Mínima) entre 78,12 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Cassiano *et al.*, 2014). Um estudo realizado por Cota *et al.*, (2002) testou a atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de três espécies, a *Microlicia confertiflora* (*Lavoisiera confertiflora*), a *Microlicia cordata* (*Lavoisiera cordata*) e a *Microlicia laniflora* (*Trembleya laniflora*); os extratos foram ativos contra as espécies *Micrococcus luteus* e *Staphylococcus aureus*. Em outro estudo, os extratos das folhas e galhos da *M. laniflora* também se mostraram ativos contra as mesmas bactérias (Ventura; De Oliveira; Braga, 2007).

2.4 A espécie *Microlicia parviflora*

A espécie em estudo neste trabalho é a *Microlicia parviflora* (D.Don) Versiane & R.Romero. É uma espécie da família Melastomataceae, endêmica no Brasil, que se encontra distribuída nos biomas Cerrado e Mata Atlântica, nos estados da Bahia, do Distrito Federal, de Goiás, de Minas Gerais, do Espírito Santo, do Rio de Janeiro, de São Paulo e do Paraná, em vegetações do tipo campo de altitude, campo limpo, campo rupestre, florestas pluviais e ciliar (Baumgratz; Souza; Tavares, 2007; Pacifico; Almeda, 2022).

Microlicia parviflora é um arbusto ou pequena árvore com 1 – 4 m de altura, apresentando ramos, hipanto e sépalos recobertos por glândulas esféricas. As folhas são pecioladas, de consistência cartácea, lanceoladas a espatuladas, com margens inteiras e revolutas, três nervuras principais bem evidentes e abundantes glândulas em ambas as faces. As inflorescências são terminais ou laterais, organizadas em dicásios. As flores são pentâmeras ou hexâmeras, com pétalas brancas a branco-rosadas e estames dimórficos, apresentando anteras ovadas bicolores: as maiores (antesépalas) são vináceas a avermelhadas, enquanto as menores (antepétalas) são amarelas. O ovário é súpero e os frutos são cápsulas globosas, castanhas, com dez costelas (Versiane *et al.*, 2022). Na Figura 3 encontra-se uma foto da espécie.

Figura 3 – Espécime de *Microlicia parviflora*



Fonte: Flora e Funga do Brasil (JBRJ), fotografia de R. Penati (2017). Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/consulta/ficha.html?idDadosListaBrasil=9983>. Acesso em: 25 jul. 2026.

A *Microlicia parviflora* possui alguns estudos relatados, porém ainda apresenta amplo potencial a ser explorado, tanto no aspecto químico quanto no biológico. No que diz respeito aos órgãos vegetativos avaliados, por exemplo, há registros na literatura científica referentes apenas às folhas.

Em relação ao potencial biológico, há um estudo conduzido por Antinarelli et al., (2015), no qual o extrato metanólico das folhas foi avaliado contra diferentes espécies de *Leishmania* causadoras de leishmaniose cutânea e visceral na região amazônica. O referido estudo apresentou resultados promissores; o extrato se mostrou ativo contra *Leishmania amazonensis*, *Leishmania braziliensis* e *Leishmania chagasi*, com valores de CE₅₀ de 19,7; 17,1; e 83,8 µg mL⁻¹, respectivamente.

Outro trabalho, realizado por Borghetti et al., (2005), avaliou o efeito alelopático do extrato aquoso das folhas no crescimento de gergelim (*Sesamum indicum*). O extrato, na concentração de 1% v v⁻¹, causou inibição do crescimento das raízes. Também foi observada redução no crescimento dos brotos em comparação com o grupo controle, mas não foi possível concluir se esse efeito está diretamente ligado à ação do extrato no broto ou se é consequência das transformações causadas nas raízes.

Quanto à composição química, há dois trabalhos disponíveis: o primeiro referente aos óleos essenciais e o segundo voltado ao isolamento de uma classe específica de metabólitos especializados, os flavonoides. No estudo sobre os óleos essenciais, foi avaliada a variação da composição química ao longo de um ano. Além disso, autores avaliaram a presença de algumas classes de metabólitos especializados nas folhas através de testes colorimétricos, detectando a presença de cumarinas, triterpenos, flavonoides e taninos (Farias et al., 2018).

Por fim, o trabalho já citado, realizado por Bomfim-Patrício et al., (2001), que buscou comparar diferentes espécies da tribo Lavoisiereae com base nos metabólitos produzidos, particularmente nas diferentes classes de flavonoides, isolou alguns desses compostos a partir das folhas de *M. parviflora*. Foram isolados oito flavonoides, pertencentes a duas diferentes subclasses. Três glicosídeos de luteolina (flavonas) e cinco flavonóis, sendo uma quercetina aglicona e quatro glicosídeos.

2.5 Conclusões

Todos esses estudos mostram que tanto a família quanto a espécie em estudo apresentam um amplo potencial a ser explorado. A família possui espécies com uso na medicina tradicional e estudos que evidenciam o potencial biológico de alguns representantes; porém, ainda

apresenta poucos estudos publicados. Por se tratar de uma das famílias com maior riqueza de espécies entre as angiospermas, existe uma vasta quantidade de táxons a serem estudados.

Outro fator importante é o fato dessas plantas serem endêmicas ou nativas do Brasil e principalmente do bioma Cerrado, que é uma região reconhecida pela sua biodiversidade, com inúmeras espécies importantes na medicina tradicional. Entretanto, o bioma sofre com o desmatamento, o que cria uma urgência em estudar a flora ali presente.

Quanto à espécie estudada, os levantamentos mostram que há lacunas a serem preenchidas. Apenas um estudo avaliou o potencial biológico dos extratos da espécie contra *Leishmania*, e o estudo dos óleos essenciais se restringiu somente ao perfil químico dos óleos; assim, carece de mais estudos em que extratos e óleos possam ser avaliados quanto ao potencial biológico para outras atividades biológicas. Em relação à composição química, além dos óleos essenciais, um único estudo realizou o estudo dos metabólitos de extratos, porém voltado exclusivamente para os flavonoides, carecendo assim de outros estudos que avaliem outras classes de compostos que possam ser produzidos pela espécie. Além disso, todos os estudos concentram-se nas folhas, levantando assim a necessidade de que novos estudos avaliem a composição química e o potencial biológico de outros órgãos da espécie, podendo assim também contribuir com a quimiosistemática da espécie.

3 CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Microlicia parviflora*

3.1 Introdução

3.1.1 Óleos essenciais

A definição do que seria um óleo essencial apresenta algumas divergências na literatura, mas, em geral, trata-se de uma mistura complexa de compostos voláteis extraídos de material vegetal, podendo ser obtida a partir de folhas, flores, galhos ou de qualquer outra parte da planta. São misturas oleosas, incolores ou de coloração amarelada, caracterizadas por apresentarem odores característicos. Algumas definições classificam como óleo essencial somente produtos obtidos por destilação, seja seca ou aquosa, empregando técnicas como arraste a vapor, hidrodestilação ou destilação seca assistida por micro-ondas. Entretanto, consideram como exceção a extração do óleo de frutas cítricas através de prensagem mecânica. Algumas referências também incluem o produto obtido por enfleurage, que normalmente é empregado para extrair óleos de flores. É uma técnica que consiste em colocar as flores em um recipiente com glicerina ou algum tipo de material graxoso para que os compostos sejam solubilizados nesse material. Essa técnica, inclusive, é a mais antiga para obtenção de óleos essenciais (Asbahani *et al.*, 2015; Dhifi *et al.*, 2016; Sadgrove; Padilla-González; Phumthum, 2022; Shrivastav *et al.*, 2025)

Do ponto de vista biossintético, os compostos que compõem esses óleos pertencem principalmente à classe dos terpenos, subdivididos em monoterpenos e sesquiterpenos, sintetizados pelas vias do ácido mevalônico (MVA) e do fosfato de metileritritol (MEP). Além deles, os óleos podem conter derivados oxigenados (álcoois, aldeídos, ácidos e ésteres) e fenilpropanoides, estes últimos originados pela via do ácido chiquímico. De modo geral, essas moléculas são voláteis e apresentam baixo peso molecular, comumente menor que 300 Da (Dhifi *et al.*, 2016; Sadgrove; Padilla-González; Phumthum, 2022).

Os óleos são amplamente empregados na indústria devido à sua característica de apresentar odores característicos, sendo bastante utilizados em formulações de perfumes. Eles também são utilizados em cosméticos de forma geral, pois, além do cheiro, devido à mistura de compostos existentes, possuem propriedades de interesse para esse tipo de produto, como ação

antimicrobiana, antioxidante, proteção contra radiação UV-Vis, entre outras (Sadgrove; Padilla-González; Phumthum, 2022; Sharmeen *et al.*, 2021).

Algumas espécies de *Microlicia* possuem estudos quanto ao potencial biológico de seus óleos essenciais, como descrito no Capítulo 2 (página 27). Foram reportados estudos quanto ao potencial antibacteriano, antifúngico e antiparasitário desses óleos, com diversos resultados promissores. Esses estudos, ainda que realizados somente *in vitro*, mostram o potencial dos óleos essenciais de espécies do gênero frente a diferentes patógenos. Entretanto, considerando a quantidade de espécies catalogadas para o gênero, são poucas as que possuem estudos quanto ao potencial biológico de seus óleos essenciais, incluindo a *Microlicia parviflora*, sobre a qual o único estudo reportado não realizou nenhum ensaio biológico (Farias *et al.*, 2018). Isso mostra que há lacunas a serem preenchidas tanto em relação à espécie quanto ao gênero. Assim, esse capítulo se propõe a avaliar a atividade biológica dos óleos essenciais das folhas e flores da *M. parviflora*.

3.1.2 Bactérias da cavidade oral

Infecções bacterianas estão entre as principais causas de doenças em humanos. Apesar da grande variedade de antibióticos disponíveis, existe uma preocupação em relação ao surgimento de cepas resistentes aos antibióticos já existentes. A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera esse fenômeno como um dos principais problemas de saúde da atualidade. Esse surgimento de espécies resistentes é um processo comum decorrente de mutações que os organismos podem sofrer, porém vem se intensificando com algumas práticas humanas, como o uso incorreto ou indevido de antibióticos, descarte incorreto, uso na agricultura e na pecuária de antimicrobianos, entre outros fatores (WHO, 2023a). Assim, a busca por novas substâncias que possam levar ao desenvolvimento de novos antibióticos ou até mesmo de extratos que possam ser utilizados como fitoterápicos se faz necessária.

Entre os diversos nichos microbiológicos de interesse para a avaliação desses compostos, destaca-se a cavidade oral, que abriga uma vasta microbiota e representa a segunda comunidade microbiana mais diversa do corpo humano, com aproximadamente 700 espécies bacterianas conhecidas. Essas bactérias, assim como outros microrganismos ali presentes, desempenham um papel importante na proteção da cavidade oral contra patógenos que podem causar doenças na região. Porém, quando em condições de desequilíbrio, podem levar ao surgimento de patógenos nocivos e acarretar o desenvolvimento de doenças na boca, como cáries, periodontite, abscessos bucais, gengivite, mau hálito, entre outras. Essas infecções por

muitas vezes são consideradas leves, mas causam perda da qualidade de vida e gastos financeiros, sendo um problema de saúde a ser considerado (Rajasekaran *et al.*, 2024).

Além das doenças causadas na cavidade oral, essas bactérias estão relacionadas ao surgimento de doenças em outros sistemas do corpo humano. Estudos relacionam o desequilíbrio dessas bactérias ao surgimento de doenças nos sistemas nervoso, cardiovascular e respiratório (Peng *et al.*, 2022; Rajasekaran *et al.*, 2024).

Dentre as espécies que serão avaliadas no presente trabalho, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus mutans* estão ligadas diretamente ao surgimento de biofilmes na superfície dos dentes. Esse biofilme torna o ambiente propício para a proliferação de outras bactérias causadoras de cáries. As espécies *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, diversas espécies de *Streptococcus* spp., *Fusobacterium* spp. e *Actinomyces* spp. estão diretamente relacionadas a casos de gengivite, e a *Fusobacterium nucleatum* é uma das espécies associadas a periodontites (Rajasekaran *et al.*, 2024).

Como mostrado no Capítulo 2 (página 27), os óleos essenciais de algumas espécies de *Microlicia* tiveram resultados promissores contra algumas espécies de bactérias, porém nenhum óleo foi testado contra espécies presentes na cavidade oral. Entretanto, alguns óleos de outras espécies mostraram resultados promissores frente a essas bactérias, como mostra um trabalho de revisão feito por Faccin; Leite; Pilati, (2025), o qual realizou um levantamento de estudos nos quais óleos essenciais foram testados contra espécies de bactérias da cavidade oral.

3.1.3 Fungos do gênero *Candida*

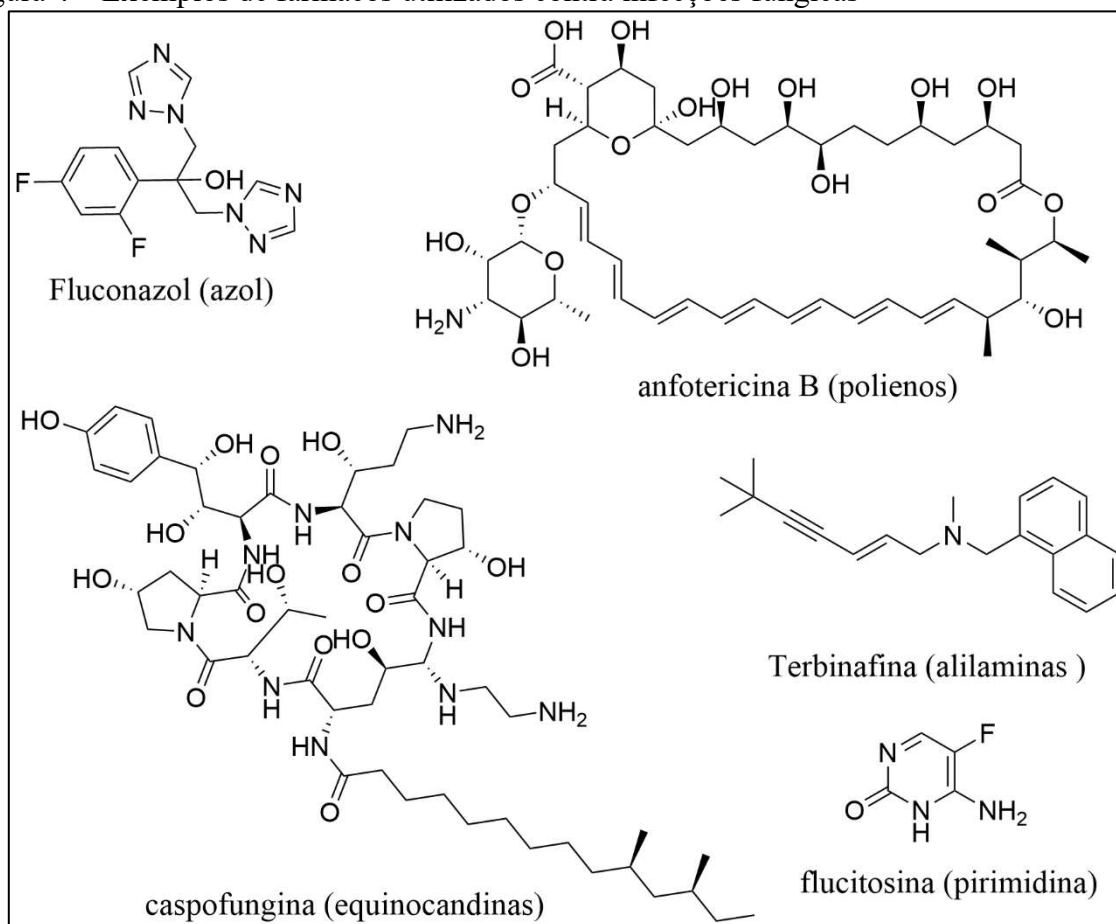
Infecções fúngicas normalmente ocorrem em pessoas com baixa imunidade, como idosos e crianças, pessoas que passaram recentemente por transplantes, pacientes com uso prolongado de antibióticos, soropositivos, entre outros (Reddy; Padmavathi; Nancharaiah, 2022). Normalmente, são infecções leves como candidíase e outras infecções na pele. Mas, em alguns casos, podem se desenvolver infecções mais graves chamadas de infecções invasivas, levando ao óbito. Há estimativas de que cerca de 1,6 milhão de pessoas morram por ano em decorrência de infecções por fungos (Fang *et al.*, 2023).

As espécies do gênero *Candida* são as que mais comumente causam infecções em humanos, e a *Candida albicans* é a mais comum, sendo também parte da microbiota humana. A maioria das infecções causadas por *Candida* são consideradas leves, como as candidíases genital e oral, porém, quando em maior desequilíbrio, podem causar infecções invasivas como a candidemia, que é uma infecção mais grave ocorrendo no sangue, podendo levar ao óbito. Em

torno de 70% das infecções invasivas causadas por fungos estão relacionadas a espécies de *Candida* (Fang *et al.*, 2023; Kaur; Nobile, 2023; Lass-Flörl; Steixner, 2023).

Além disso, assim como as bactérias, há o problema da resistência aos fármacos já existentes, o que no caso dos fungos se torna uma problemática maior, uma vez que a disponibilidade de fármacos para infecções fúngicas é mais escassa em relação aos antibióticos, havendo apenas cinco classes de antifúngicos disponíveis, os azóis, polienos, equinocandinas, alilaminas e análogos de pirimidina, a Figura 4 tem exemplos de antifúngicos das cinco classes (Reddy; Padmavathi; Nancharaiah, 2022; WHO, 2023a).

Figura 4 – Exemplos de fármacos utilizados contra infecções fúngicas



Fonte: O autor (2026)

Uma espécie multirresistente abordada nesse trabalho é a *Candida auris*. Essa espécie caracteriza-se por alto grau de infecção e alta letalidade, sendo responsável por surtos em ambientes hospitalares. Além da multirresistência, outros fatores que fazem com que a *C. auris* seja uma espécie de preocupação são: a dificuldade de identificação, que leva a diagnósticos errôneos, a facilidade de formação de biofilme e a fácil adesão e difícil remoção em superfícies hospitalares, o que implica no aumento de casos (Lionakis; Chowdhary, 2024).

O primeiro caso foi registrado no Japão em 2009. No Brasil foram registrados alguns surtos relacionados à *C. auris*: o primeiro caso foi reportado em 2020, e o maior surto foi registrado em um hospital em Pernambuco entre os anos de 2021 e 2022, com 47 casos confirmados (de Melo *et al.*, 2023; Jeffery-Smith *et al.*, 2018).

O surgimento de espécies mais invasivas também está relacionado às mudanças climáticas. Ao se adaptarem às elevações da temperatura, esses fungos acabam se adaptando também à temperatura do corpo humano. Há indícios de que, com o avanço do aquecimento global, esse tipo de problemática se torne mais comum. A *C. auris* é o principal exemplo de espécie em que o surgimento pode estar relacionado às mudanças climáticas (Lionakis; Chowdhary, 2024; Seidel *et al.*, 2024).

Em relação à atividade biológica de óleos essenciais contra fungos, há trabalhos que mostram a atividade de alguns óleos essenciais contra diferentes espécies fúngicas. Um estudo de revisão realizado por Palmeira-de-Oliveira *et al.*, (2009) traz um levantamento das atividades anti-*Candida* dos óleos essenciais mais comumente estudados tanto em relação à composição química quanto a ensaios biológicos, com muitos desses óleos apresentando valores promissores em testes feitos *in vitro* e *in vivo*. Esse estudo demonstra que óleos essenciais podem ser fonte de compostos bioativos contra fungos. Na Tabela 1 estão relacionados os óleos e as atividades levantadas pelo estudo de revisão.

Tabela 1 – Óleos essenciais com atividade contra espécies de *Candida*

Óleo essencial	Planta de origem	Compostos majoritário	Atividade contra <i>Candida</i>
Óleo de orégano	<i>O. virens</i> <i>O. vulgare</i>	Carvacrol	Inibição da germinação e alongamento de micélio de <i>C. albicans</i> ; efeito fungicida
	<i>O. vulgare spp vulgare</i>	cariofileno; espatulenol	Boa atividade contra <i>C. albicans</i>
Óleo de tomilho	<i>T. pulegioides</i> <i>T. vulgaris</i> <i>T. zygis</i>	timol; carvacrol	Efeito potente; atividade fungicida
	<i>T. mastichina</i> <i>T. capitellatus</i>	1,8-cineol	Baixa atividade
Óleo de Thymbra	<i>T. capitata</i>	carvacrol	Concentrações abaixo do CIM (sub-CIM) inibem a formação de tubo germinativo; efeito fungicida
Óleo de melaleuca	<i>M. alternifolia</i>	terpinen-4-ol	Boa atividade
	<i>M. alternifolia</i>	1,8-cineol	Baixa atividade
	<i>M. armillaris</i>	1,8-cineol; terpinen-4-ol	Atividade acentuada

Óleo de menta	<i>M x piperita</i>	mentol; mentona; 1,8-cineol	Atividade potente
	<i>M x piperita M.</i>	linalol; carvona	Atividade moderada
	<i>M. cervina</i>	pulegona; isomentona	Amostras com diferenças na composição química apresentaram atividades semelhantes
Óleo de canela	<i>C. camphora</i>	linalol	Moderada atividade
	<i>C. verum</i>	eugenol	Atividade potente
Óleo de cravo da Índia	<i>S. aromaticum</i>	eugenol	Atividade potente

Fonte: Adaptado de Palmeira-de-Oliveira et al., (2009)

Em relação a óleos de espécies de *Microlicia*, como relatado no Capítulo 2 (página 27), alguns óleos foram testados contra diferentes espécies de fungos. O óleo da *M. crenulata* foi ativo contra os fungos *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Saccharomyces cerevisiae*, porém se mostrou inativo contra algumas espécies de *Candida* (Pereira et al., 2015), assim como a *M. phlogiformis* que também foi inativa (Fernandes et al., 2016).

3.2 Objetivos

Os objetivos deste trabalho foram investigar o efeito da sazonalidade no metabolismo de compostos voláteis das folhas de *Microlicia parviflora* através da obtenção de óleos essenciais e análises metabolômicas desses óleos, além de avaliar como a variação no metabolismo influencia o potencial biológico desses óleos contra fungos do gênero *Candida* e bactérias presentes na cavidade oral. Além disso, o trabalho também se propõe a avaliar a composição química e o potencial biológico dos óleos essenciais das flores de *M. parviflora*.

3.3 Procedimentos experimentais

3.3.1 Materiais e reagentes

3.3.1.1 Instrumentação

- Três mantas aquecedoras;
- Três conjuntos de vidraria do tipo Clevenger;
- Balança de luz infravermelha para determinação da umidade QUIMIS, modelo Kett FD-600;
- Balança analítica SHIMADZU, modelo ATX224;
- Cromatógrafo gasoso Agilent modelo 7890B GC System/5977B GC/MSD;
- Coluna cromatográfica Agilent modelo 19091S-433 HP-5ms (30 m x 250 µm x 0.25 µm);
- Termômetro higrômetro digital da marca Incoterm.

3.3.1.2 Reagentes

- Diclorometano PA – Dinâmica.
- Padrão de alcanos (n₇ - n₄₀) – Sigma Aldrich

3.3.2 Procedimento experimental

3.3.2.1 Coleta e identificação do material vegetal

As folhas e flores da *M. parviflora* foram coletadas em Uberlândia–MG, no Parque do Sabiá (18° 54' 28.27" S, 48° 14' 17.94" W). A espécie foi identificada pela professora Dra. Rosana Romero, curadora do Herbário da Universidade Federal de Uberlândia (HUFU) e especialista na família Melastomataceae. Uma exsicata da planta foi depositada no referido herbário com o número de registro HUFU 88902.

O acesso ao patrimônio genético foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número A5FE856.

As folhas foram coletadas ao longo de 2023, a cada dois meses, iniciando no mês de fevereiro e terminando no mês de dezembro. Já as flores foram coletadas no mês de agosto de 2024, período de floração da espécie. O primeiro óleo das folhas obtido em fevereiro e foi denominado EOMP1 e os óleos obtidos na sequência seguem a numeração até o óleo de dezembro, EOMP6. O óleo das flores foi denominado EOMP7.

As coletas foram realizadas sempre no início da manhã, por volta das 9 horas da manhã. Os dados de temperatura e umidade do ar foram aferidos no local de coleta com um termohigrômetro digital da marca Incoterm. A umidade das folhas foi mensurada com uma balança termogravimétrica. Para isso, 1 g do material vegetal foi colocado em uma balança por 15 minutos, com aquecimento a 105 °C. No final, descontou-se a massa de água evaporada e obteve-se a umidade do material. Os dados de precipitação na região nas 72 horas anteriores à coleta foram obtidos na plataforma do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) a partir dos registros da estação automática de Uberlândia (A507).

3.3.2.2 *Obtenção dos óleos essenciais*

Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação com a utilização de um aparelho do tipo Clevenger. No que diz respeito às folhas, em cada mês a extração foi realizada em triplicata. Para cada balão de 2 L, foram utilizados 150 g de folhas frescas e 1,25 L de água destilada; o sistema foi submetido a aquecimento até que se observasse a ebulição. O processo ocorreu por quatro horas e, após esse período, o óleo com a água foi coletado e transferido para um funil de separação, onde o óleo foi então extraído com diclorometano. Uma solução saturada de NaCl foi utilizada para facilitar a separação entre o óleo e a água. A fase orgânica foi secada em temperatura ambiente e, após toda a evaporação do solvente, os óleos foram acondicionados em freezer (Oliveira *et al.*, 2020).

Quanto às flores, a extração foi realizada somente uma vez, utilizando-se de 150 g de flores frescas e 1,25 L de água destilada. O processo de extração foi similar ao adotado para as folhas, porém não foi realizado em triplicata.

3.3.2.3 *Análise dos óleos essenciais por CG-EM*

Para a identificação dos compostos presentes nos óleos essenciais, as amostras foram submetidas a uma análise de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Os óleos, na concentração de 5 mg mL⁻¹ em diclorometano, foram injetados em um cromatógrafo

gasoso da Agilent, modelo 7890B GC System/5977B GC/MSD, utilizando uma coluna cromatográfica da Agilent, modelo 19091S-433 HP-5ms (30 m x 250 μ m x 0,25 μ m). A temperatura do injetor foi de 210 °C e o hélio foi usado como gás de arraste com fluxo de 0,9 mL min⁻¹. A corrida teve início com o forno a 60 °C, com incrementos de temperatura de 3 °C por minuto durante 62 minutos, até atingir a temperatura de 246 °C. Após esse tempo, a temperatura foi mantida constante por mais 30 minutos. Foram injetados 0,2 μ L no modo Split (1:10). A fonte de ionização utilizada foi a ionização por elétrons, que se manteve a 280 °C, e o analisador do tipo quadrupolo, a 150 °C. Foi empregada energia de colisão de 70 eV e utilizado modo scan no intervalo m/z de 35 a 350 u para registro das massas.

Para a anotação dos compostos, foi utilizado o software da Agilent, Unknowns Analysis; os espectros foram comparados com a biblioteca NIST 2023, e a anotação foi validada utilizando os índices aritméticos. Estes foram calculados utilizando um padrão de alcanos (n₇-n₄₀), o qual também foi injetado sob as mesmas condições, seguindo a metodologia proposta por (Van Den Dool; Kratz, 1963)

$$\text{Equação 1} - \text{IA}(x) = 100 \left(\frac{n \text{ de carbonos do Pz} + 100((t(x) - t(\text{Pz})) / (t(\text{Pz} + 1) - t(\text{Pz})))}{n} \right)$$

Onde: IA = índice aritmético, x = composto no tempo t, t = tempo de retenção, Pz = alcano anterior ao x e Pz + 1 = alcano posterior ao x.

3.3.2.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram feitas utilizando o software da Agilent, MPP (*Mass Profiler Professional*), e foram usados os dados de CG-EM após a anotação realizada no software Unknowns Analysis. Os dados foram normalizados utilizando log₂, e um teste ANOVA foi aplicado utilizando $p < 0,05$ com fold change de 2. Além disso, o teste de Benjamini–Hochberg foi aplicado. Assim, foi possível obter as análises de PCA (*Principal Component Analysis*), HCA (*Hierarchical Cluster Analysis*) e o *heatmap* com os compostos que foram importantes para diferenciar as amostras. Essas análises foram realizadas somente para os óleos obtidos das folhas.

3.3.2.5 Ensaios antimicrobianos

Os ensaios antifúngicos e antibacterianos foram realizados no Laboratório de Ensaios Antimicrobianos (LEA) da Universidade Federal de Uberlândia.

Os óleos foram testados contra quatro espécies de *Candida*, três das quais são as mais comuns em infecções humanas: *C. albicans* (ATCC 28366), *C. glabrata* (ATCC 15126), *C. tropicalis* (ATCC 13803) e a espécie multirresistente *C. auris* (isolado clínico). Em relação às bactérias, foram testadas sete espécies causadoras de infecções na cavidade oral, sendo quatro aeróbicas: *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus mitis* (ATCC 49456), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ATCC 43717) e *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), e três espécies anaeróbicas: *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586) e *Actinomyces naeshlundii* (ATCC 19039).

Para a obtenção dos valores de CIM (concentração inibitória mínima), foi utilizado o método da microdiluição em caldo em placas de 96 poços; o procedimento adotado foi similar ao descrito por Siqueira et al., (2025).

Para os ensaios antibacterianos, o volume final do poço foi de 100 μL para as bactérias aeróbicas e 200 μL para as anaeróbicas. Em cada poço, foram adicionados o inóculo, o caldo triptona de soja para as bactérias aeróbicas e o caldo Schaedler para as bactérias anaeróbicas, além das soluções com as amostras dissolvidas em DMSO (dimetilsulfóxido). As concentrações nos poços variaram de 0,195 a 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para as bactérias aeróbicas, a incubação foi de 24 h a 36 °C, e, para as anaeróbicas, de 48 a 72 h em câmara de anaerobiose a 36 °C. Após o período de incubação, foram adicionados 30 μL de solução aquosa de resazurina a 0,01% m v^{-1} .

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 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foram utilizadas para validação da técnica com o controle positivo metronidazol (0,0115 a 5,9 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Além disso, foram feitos os controles de esterilidade dos caldos, do inóculo, dos controles, das amostras e do solvente DMSO (1 a 5%).

Para os ensaios antifúngicos, o volume final de cada poço foi ajustado para 200 μL , contendo o inóculo, o meio de cultura e as amostras em diferentes concentrações, variando de 1,46 a 3000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As placas foram incubadas a 37 °C por 48 h e, após o período de incubação, foram adicionados 30 μL de solução aquosa de resazurina a 0,02% m v^{-1} .

O controle da técnica foi realizado utilizando as cepas de referência *Candida parapsilosis* (ATCC 25285) (faixa de CIM = 0,25 – 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *Candida krusei* (ATCC 29741) (faixa de CIM = 0,25 – 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$), com a anfotericina B como controle positivo nas

concentrações de $0,031 - 16 \mu\text{g mL}^{-1}$. Também foram realizados os controles de esterilidade do meio de cultura (caldo RPMI), do inóculo, das amostras e do solvente DMSO (1 a 5%).

3.4 Resultados e discussões

3.4.1 Condições climáticas no dia das coletas.

A cada coleta, foram levantados alguns dados que são relatados como responsáveis pelas alterações no metabolismo vegetal, como a temperatura e a umidade do ar, que foram coletados diretamente no local; a umidade das folhas, que foi aferida em uma balança termogravimétrica logo após a coleta; e o índice pluviométrico obtido através da plataforma do INMET. Os dados são apresentados na Tabela 2 – Condições climáticas nos dias de coleta das folhas para preparo dos óleos essenciais.

Tabela 2 – Condições climáticas nos dias de coleta das folhas para preparo dos óleos essenciais.

Data	Temperatura (°C)	Umidade do ar (%)	Umidade das folhas (%)	Chuva acumulada nas 24 horas anteriores à coleta	Chuva acumulada nas 48 horas anteriores à coleta	Chuva acumulada nas 72 horas anteriores à coleta
09/02	25,5	70	63,9	0	0	3,2
05/04	24,9	62	61,8	0,8	0	0
05/06	23,3	55	61,7	0	0,8	0,8
08/08	25,4	54	60,3	0	0	0
05/10	28,9	65	66,3	5,2	5,4	5,4
12/12	31,5	67	63,9	18	18	37,4

Fonte: O autor (2026)

3.4.2 Avaliação do rendimento e perfil sazonal dos óleos essenciais

A Tabela 3 apresenta a média dos rendimentos dos óleos para cada mês do ano, considerando as triplicatas realizadas a cada mês. O rendimento dos óleos essenciais foi expresso em porcentagem de óleo em relação à massa seca do material vegetal ($\% m m^{-1}$), calculada após a correção pelo teor de umidade. Os rendimentos dos óleos essenciais das folhas não apresentaram diferença significativa entre as coletas (ANOVA, teste de Tukey, $p > 0,05$).

Para os óleos essenciais das flores, os resultados são apresentados como valores individuais, uma vez que as extrações não foram realizadas em triplicata, impossibilitando o cálculo da média, do desvio padrão e a realização de análises estatísticas.

Tabela 3 – Rendimento dos óleos essenciais das flores e folhas da *Microlicia parviflora*

	Amostra						
	EOMP1	EOMP2	EOMP3	EOMP4	EOMP5	EOMP6	EOMP7
Rendimento	0,0544 ± 0,048	0,0366 ± 0,0058	0,0324 ± 0,0072	0,0391 ± 0,0116	0,0439 ± 0,0136	0,0484 ± 0,0059	0,019

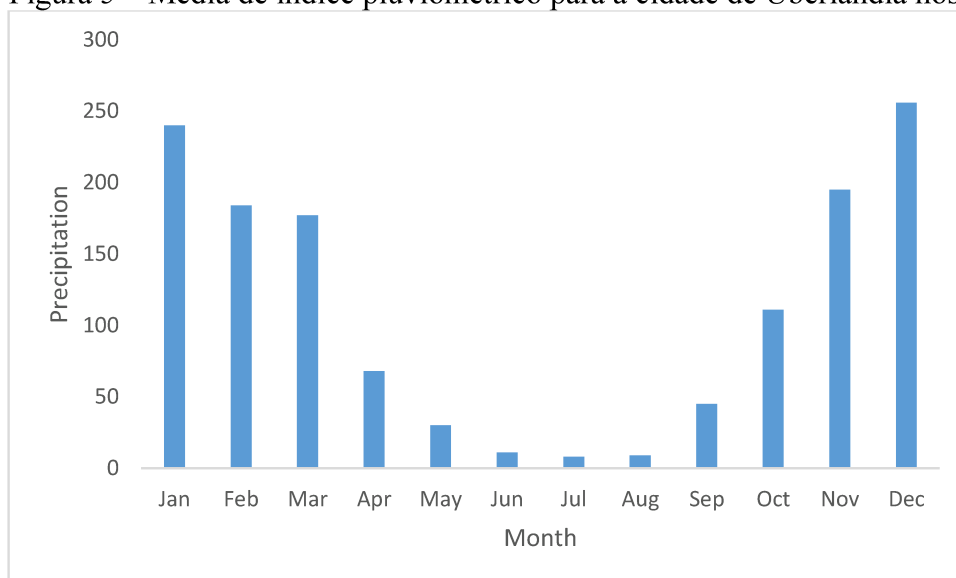
Nota: EOMP1: óleo obtido em fevereiro; EOMP2: abril; EOMP3: junho; EOMP4: agosto; EOMP5: outubro; EOMP6: dezembro; EOMP7: óleo obtido das flores.

Fonte: O autor (2026).

O óleo com maior rendimento foi o obtido em fevereiro (EOMP1), com 0,0544% ($m\ m^{-1}$), enquanto o menor rendimento para as folhas foi observado em junho (EOMP3), com 0,0324% ($m\ m^{-1}$).

Pode-se tentar relacionar o rendimento às estações de seca e chuva na região onde o material foi coletado. A Figura 5 traz a média histórica do índice pluviométrico dos últimos 30 anos para a cidade de Uberlândia e a Figura 6 traz o índice pluviométrico do ano de 2023, ano em que foi realizada a coleta das folhas. Os maiores rendimentos foram em fevereiro (EOMP1) e dezembro (EOMP6), que são meses chuvosos, e em outubro (EOMP5), que é um mês de transição entre as estações de seca e de chuva. Já o menor rendimento entre as folhas foi no mês de junho (EOMP3), que é um mês de seca, seguido por abril (EOMP2), um mês de transição, e agosto (EOMP4), que também é um mês considerado seco. O óleo das flores (EOMP7) obteve um rendimento bem inferior quando comparado aos óleos das folhas.

Figura 5 – Média de índice pluviométrico para a cidade de Uberlândia nos últimos 30 anos

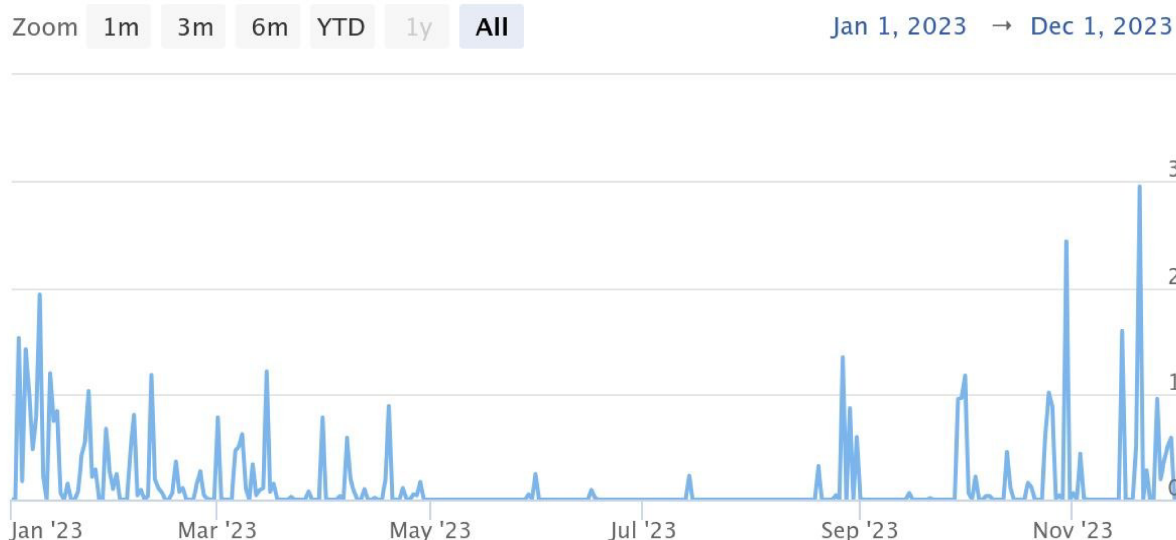


Fonte: Adaptado do website Climatempo, acessado dia 05/11/2026. Disponível em:

<https://www.climatempo.com.br/climatologia/203/uberlandia-mg>

Figura 6 – Índice pluviométrico para a cidade de Uberlândia no ano de 2023

Estação: UBERLANDIA (A507)



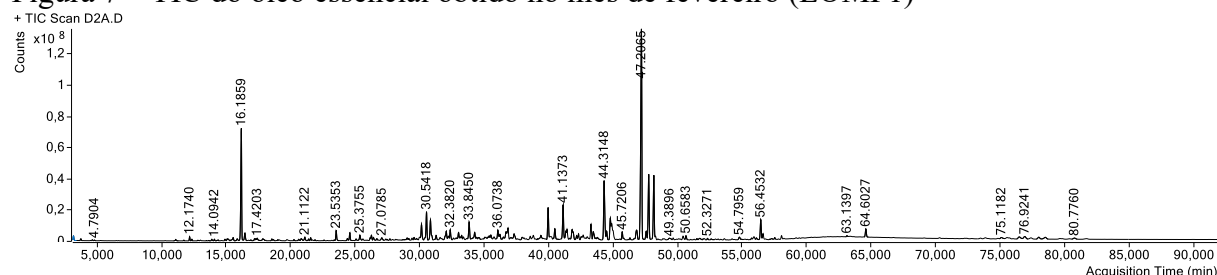
Fonte: Disponível em: <https://tempo.inmet.gov.br>. Acessado dia 05/11/2026.

3.4.3 Identificação química por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

Os óleos essenciais das folhas e flores foram analisados por CG-EM. Os espectros obtidos foram comparados com a biblioteca NIST 2023. A Tabela 4 traz a anotação dos compostos, a classe de metabólito especializado, assim como a porcentagem relativa do

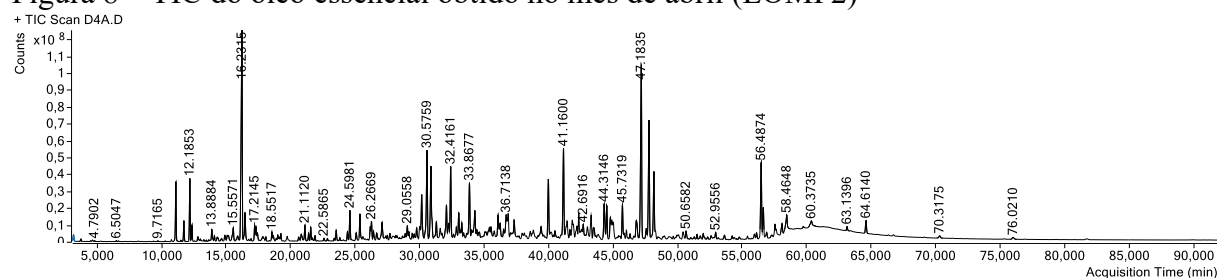
composto em cada amostra, calculada pelo cromatograma de íons totais (TIC) no programa *Unknowns Analysis*. A tabela também apresenta o índice aritmético tabelado para cada composto e o calculado para validação da anotação, além do fator de correspondência (FC), também obtidos no software *Unknowns Analysis*. As Figuras 7 a 13 apresentam um cromatograma de íons totais para cada mês de coleta, além do cromatograma dos óleos essenciais das flores.

Figura 7 – TIC do óleo essencial obtido no mês de fevereiro (EOMP1)



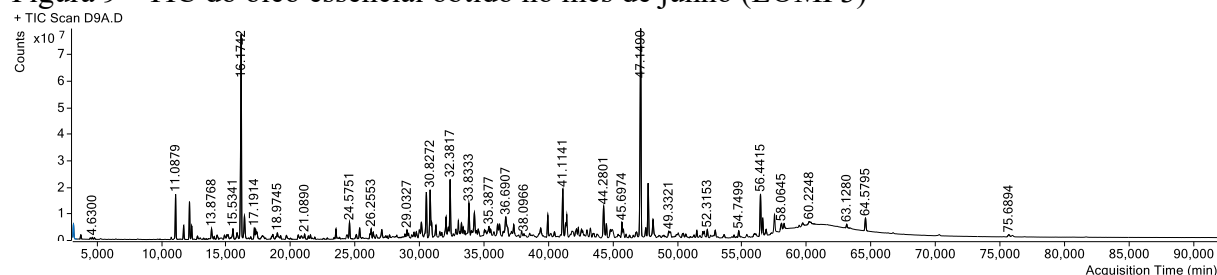
Fonte: O autor (2026)

Figura 8 – TIC do óleo essencial obtido no mês de abril (EOMP2)



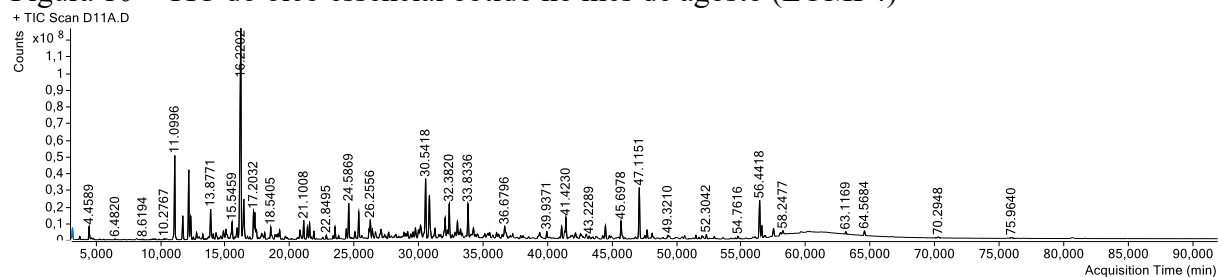
Fonte: O autor (2026)

Figura 9 - TIC do óleo essencial obtido no mês de junho (EOMP3)



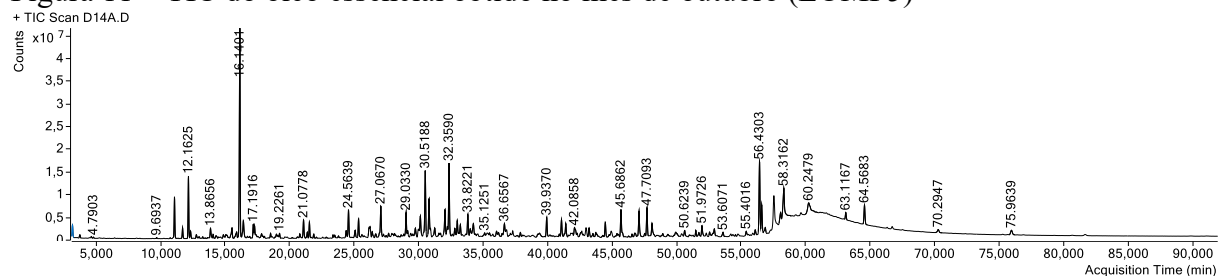
Fonte: O autor (2026)

Figura 10 – TIC do óleo essencial obtido no mês de agosto (EOMP4)



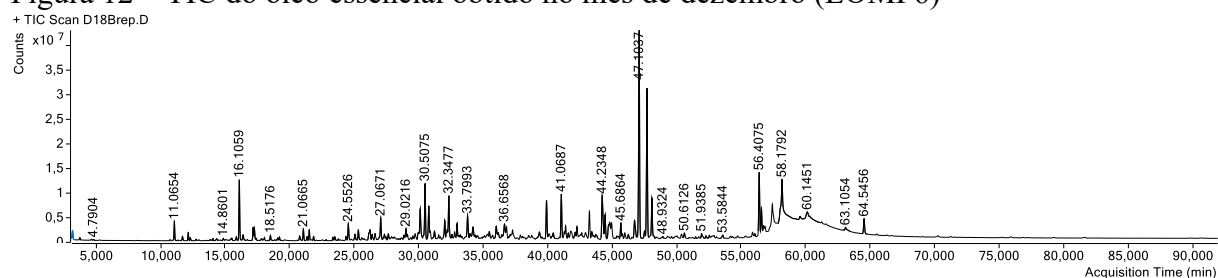
Fonte: O autor (2026)

Figura 11 – TIC do óleo essencial obtido no mês de outubro (EOMP5)



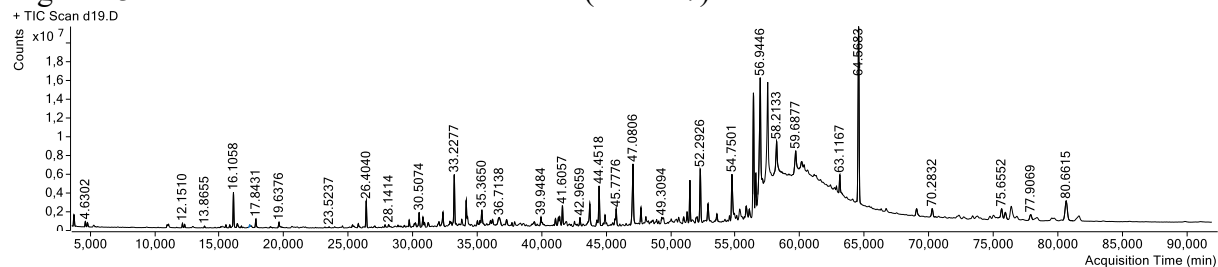
Fonte: O autor (2026)

Figura 12 – TIC do óleo essencial obtido no mês de dezembro (EOMP6)



Fonte: O autor (2026)

Figura 13 – TIC do óleo essencial das flores (EOMP7)



Fonte: O autor (2026)

Tabela 4 – Compostos anotados nos óleos essenciais das folhas e flores de *Microlicia parviflora*

tr	Nome dos compostos	Classe	FC	IR	IR*	Amostras (%)						
						EOMP1	EOMP2	EOMP3	EOMP4	EOMP5	EOMP6	EOMP7
4,46	(3Z)-Hex-en-1-ol	AL	98,3	857	850		0,019	0,065	0,609			
6,48	ácido 3-metilvalérico	AO	90,2	944	939		0,031	0,025	0,042			
9,42	limoneno	MH	91,3	1035	1024				0,042			
11,11	óxido de <i>cis</i> -linalol (furanoide)	MO	99,0	1079	1067	0,1	1,673	1,811	3,654	1,711	0,692	
11,73	óxido de <i>trans</i> -linalol (furanoide)	MO	99,1	1095	1084	0,035	0,568	0,569	1,09	0,457	0,184	
12,19	linalol	MO	99,5	1107	1095	0,205	1,624	1,493	2,941	2,499	0,296	0,16
12,36	3,7-dimetilocta-1,5,7-trien-3-ol	MO	95,7	1110	1110	0,088	0,386	0,579	1,211	0,369		0,131
12,79	fenchol	MO	97,9	1121	1114	0,046	0,16	0,201	0,429	0,216		
13,28	α -canfolenal	MO	92,3	1132	1122		0,029	0,069	0,287	0,069	0,009	
13,47	4-acetil-1-metilciclohexeno	MO	93,3	1136	1135	0,014	0,031	0,036	12,45	0,017	0,013	
13,66	1-terpineol	MO	93,0	1141	1130	0,02	0,026	0,046	0,076	0,034	0,017	
13,88	<i>trans</i> -pinocarveol	MO	97,3	1146	1135	0,101	0,349	0,615	1,643	0,583	0,088	0,07
13,90	(3Z)-hexenil-isobutanoato	E	85,0	1146	1142						0,185	
14,09	β - <i>cis</i> -Terpineol	MO	97,8	1151	1140	0,082	0,096	0,13	0,259	0,177	0,085	
14,31	2-Furanoacetaldeído	MO	91,2	1156			0,173	0,304	0,508	0,207		
14,36	<i>cis</i> -ocimenol	MO	94,2	1157	1141	0,069					0,108	
14,91	<i>trans</i> -ocimenol	MO	94,1	1169	1169		0,169	0,302		0,257	0,127	
15,04	borneol	MO	96,1	1174	1165	0,249	0,14		0,897	0,443	0,042	
15,55	terpinen-4-ol	MO	97,5	1184	1174	0,313	0,499	0,677	1,185	0,734	0,193	0,124

Continuação da Tabela 4 – Compostos anotados nos óleos essenciais das folhas e flores de *Microlicia parviflora*

tr	Nome dos compostos	Classe	FC	IR	IR*	EOMP1	EOMP2	EOMP3	EOMP4	EOMP5	EOMP6	EOMP7
15,87	cimen-8-ol	MO	95,6	1192	1176	0,168	0,169	0,511				0,114
16,19	α -terpineol	MO	99,6	1199	1186	7,172	8,508	10,336	13,07	10,033	2,348	1,407
16,46	(-)-mirtenol	MO	97,5	1205	1194	0,6	1,033	1,498	2,537	1,342		0,271
17,01	γ -terpineol	MO	90,0	1204	1199						0,33	
16,92	verbenona	MO	91,1	1215	1204		0,05	0,154	0,119	0,134		
17,20	<i>p</i> -ment-1-en-9-al (isômero I)	MO	96,7	1221	1217	0,131	0,383	0,504	1,263	0,645		
17,29	<i>p</i> -ment-1-en-9-al (isômero II)	MO	93,3	1224	1217	0,114	0,407	0,423	1,173	0,859	0,546	
17,36	<i>trans</i> -carveol	MO	90,5	1225				0,513				0,163
17,41	β -ciclocitral	MO	90,1	1226	1217	0,25	0,238		0,529		0,105	
17,83	nerol	MO	90,3	1236	1227		0,14	0,484		0,32	0,115	
19,02	geraniol	MO	93,7	1262	1249	0,066	0,138	0,37	0,23	0,32		
19,08	β -ciclohomicitral	MO	83,6	1263	1261				0,127		0,139	
19,10	1-ciclohexeno-1-acetaldeído, 2,6,6-trimetil	DMO	92,2	1264	1251		0,086		0,258		0,139	
19,25	<i>Z</i> -2-Decenal	A	92,6	1267	1250		0,157	0,182	0,447	0,241	0,167	
19,64	ácido nonanóico	AO	92,2	1276	1267						0,072	0,366
20,60	<i>p</i> -menta-1(7),8(10)-dien-9-ol	MO	90,7	1298	1287			0,304	0,113			
20,83	<i>E</i> -5,8-Decadien-2-ona, 5,9-dimetil	MO	90,9	1303		0,203	0,337	0,294	0,555	0,091	0,245	
21,08	4,4,8-trimetil-non-7-en-2-ona	MO	90,2	1308		0,29				0,955	0,475	

Continuação da Tabela 3 – Compostos anotados nos óleos essenciais das folhas e flores de *Microlicia parviflora*

tr	Nome dos compostos		FC	IR	IR*	EOMP1	EOMP2	EOMP3	EOMP4	EOMP5	EOMP6	EOMP7
22,59	trimetil-1-ciclohexeno-1-etanol	DMO	91,0	1343		0,036	0,092	0,05		0,053	0,048	
22,86	1a,2,5,5-tetrametil-trans-1a,4a,5,6,7,8-hexa-hidro- δ -cromeno	NOR	91,0	1360		0,01	0,072	0,057	0,171		0,034	
23,38	1,2-di-hidro-1,5,8-trimetilnaftaleno	DSH	93,2	1360	1354	0,038	0,079	0,07	0,135	0,127	0,133	
23,54	eugenol	FP	98,5	1364	1356	0,662	0,354	0,488	0,575		0,225	0,038
23,82	2-undecenal	A	93,1	1370	1361		0,107	0,092	0,162	0,077	0,077	
25,09	7- <i>epi</i> -sesquitujeno	SH	92,9	1399	1390		0,183			0,36	0,234	
25,35	2-butanona, 4-(2,2-dimetil-6-metilenociclohexil)	NOR	96,2	1405	1417	0,396	0,727	0,544	1,25	0,823	0,394	0,143
25,79	dodecanal	A	91,9	1416	1408							0,202
26,16	4-(2,2-dimetil-6-metilenociclohexil)butan-2-ona	NOR	96,5	1424	1411	0,134	0,326	0,188	0,403	0,417		
26,27	ambrinol	SD	94,8	1427	1415	0,317	0,485	0,48	0,928	0,491	0,728	
26,40	<i>E</i> -cariofileno	SH	99,0	1430	1417	0,201	0,183	0,298	0,538	0,209	0,241	1,137
27,08	<i>trans</i> - α -bergamoteno	SH	96,6	1446	1432	0,228	0,626	0,497	0,827	1,637	1,078	0,048
27,36	1-(2,3-di-hidro-1,1-dimetil-1H-inden-4-il)etan-1-ona	SD	91,0	1453		0,071	0,056	0,075	0,242		0,325	
28,14	óxido de cabreuva C	SO	84,0	1471	1466					0,258		0,127
29,03	γ -curcumeno	SH	98,3	1492	1481	0,163	0,398	0,328	0,325	1,016	0,519	
30,14	β -guaieno	SH	91,2	1519	1492	1,161	1,647	0,838	1,063	1,765	1,765	

Continuação da Tabela 3 – Compostos anotados nos óleos essenciais das folhas e flores de *Microlicia parviflora*

tr	Nome dos compostos	Classe	FC	IR	IR*	EOMP1	EOMP2	EOMP3	EOMP4	EOMP5	EOMP6	EOMP7
30,54	1,1,4,5,6-pentametil-2,3-di-hidro-1H-indeno	DSO		1528	1523	1,193	3,395	2,319	3,303	3,241	2,657	0,714
30,83	cis-4a,7,7-trimetil-octa-hidro-2(1H)-naftalenona	DSO	87,7	1535		1,165	3,118	2,485	2,722	1,86	1,984	
31,27	5,5,8a-trimetildecalin-1-ona	DSO	89,7	1546		0,333	0,569	0,503	0,741	0,336	0,442	
32,07	2,4,5,5,8a-pentametil-4a,5,6,7,8,8a-hexa-hidro-2H-cromeno	DSO	91,4	1566		0,823	1,291	0,986	1,428	1,149	0,961	0,204
32,36	<i>E</i> -nerolidol	SO	97,8	1567	1561	0,709	2,371	2,64	1,791	3,934	2,135	0,638
32,6	benzoato de (z)-hex-3-enila	E	88,0	1579	1565						0,160	
33,23	óxido de cariofileno	SO	97,6	1593	1582	0,304	0,453	0,511	0,546	0,694	0,235	2,124
33,51	hexadeceno	H	94,3	1601	1588			0,083				
34,15	acetato de dodecila	E	92,6	1618	1607							0,82
35,06	isoespatulenol	SO	92,4	1641	1623	0,199	0,171	0,177				0,142
35,35	cariofila-4(12),8(13)-dien-5-β-ol	SO	96,4	1649	1639	0,523		0,562				0,453
35,53	τ.-cadinol	SO	93,0	1653	1638	0,431	0,369	0,237	0,382	0,251	0,436	
36,05	α-cadinol	SO	90,5	1667	1652	0,846		0,563	0,397	0,385		0,301
36,69	14-hidroxicariofileno	SO	91,0	1683	1677		1,008		1,187	0,991	1,032	0,929
39,97	ambrox	DDO	97,1	1771	1756	2,268	2,024	0,979	0,381	1,049	1,787	
41,14	drimenona	SO	97,3	1803	1792	2,589	3,27	2,638	0,646	0,944	2,073	0,339

Continuação da Tabela 3 – Compostos anotados nos óleos essenciais das folhas e flores de *Microlicia parviflora*

tr	Nome dos compostos	Classe	FC	IR	IR*	EOMP1	EOMP2	EOMP3	EOMP4	EOMP5	EOMP6	EOMP7
42,78	<i>cis</i> -di-hidro-maiorona	SO	81,9	1609	1595		0,154				1,192	
44,31	(7a-Isopropenil-4,5-dimetilocta-hidroinden-4-il)metanol isômero 1	DDO	91,2	1893		4,798	1,375	1,813			2,736	
44,49	15,16-dinorlabd-12-eno, 8,13-epóxi	DO	94,3	1898	1894	0,621	1,097	0,599	0,646	0,735	1,139	
45,78	hexadecanoato de metila	E	91,7	1937	1921							0,755
46,81	14-oxatriciclo[9.2.1.0 ¹ , ¹⁰]tetradecano, 2,6,6,10,11-pentametil (isômero i)	DSO	91,1	1967		1,161	1,006	0,342		0,316	1,154	
46,92	esclareolida	DO	81,7	2084	2065	0,234						
47,21	(7a-isopropenil-4,5-dimetilocta-hidroinden-4-il)metanol isômero 2	DDO	89,4	1979		17,466	6,81	11,614			9,614	3,848
47,57	(7a-isopropenil-4,5-dimetilocta-hidroinden-4-il)metanol isômero 3	DDO	85,8	1990		0,663	0,399	0,425			0,319	
47,77	14-oxatriciclo[9.2.1.0 ¹ , ¹⁰]tetradecano, 2,6,6,10,11-pentametil (isômero ii)	DSO	89,7	1996		4,678	4,52	2,755	0,41	1,501	7,04	0,789
51,28	esclareolida	E	93,8	2105	2095			0,098				0,413
51,49	heneicosano	H	92,6	2112	2100	0,071	0,136	0,239	0,15	0,226	0,043	1,678

Continuação da Tabela 3 – Compostos anotados nos óleos essenciais das folhas e flores de *Microlicia parviflora*

tr	Nome dos compostos		FC	IR	IR*	EOMP1	EOMP2	EOMP3	EOMP4	EOMP5	EOMP6	EOMP7
56,94	(7a-Isopropenil-4,5-dimetil-octa-hidroinden-4-il)metanol isômero 4	DDO	82,8	2293								6,941
58,46	ácido catávico	DO	94,0	2347	2335		0,708	0,32	0,433	4,038	5,186	3,366
60,25	ácido 3-metil-5-(1,2,3,4,4a,7,8,8a-octa-hidro-1,2,4a,5-tetrametil-1-naftalenil)-2-pentenoico	DO	91,8	2390	2372			0,525	0,097	2,184	2,883	2,377

Nota: --: composto não identificado na amostras; r_t: tempo de retenção; FC: Fator de correspondência; IR: índice aritmético calculado pela equação 1; IR*: índice aritmético tabelado (ADAMS, 2017, Biblioteca Willey online, NIST online ; Os valores numéricos expressam a porcentagem relativa de cada constituinte volátil obtida via integração eletrônica de picos no cromatograma de íons totais (TIC); EOMP1 : Óleo obtido em Fevereiro/2023 ; EOMP2: Abril/2023 ; EOMP3: Junho/2023; EOMP4: Agosto/2023 ; EOMP5: Outubro/2023 ; EOMP6: Dezembro/2023 ; EOMP7: Óleo obtido das flores (Agosto/2024); AL: Álcool; A: Aldeído; AO: Ácido orgânico; DDO: Derivado de diterpeno oxigenado; DMO: Derivado de monoterpene oxigenado; DO: Diterpeno oxigenado; DSO: Derivado de sesquiterpeno oxigenado; E: Éster; FP: Fenil propanoide; H: Hidrocarboneto; MH: Monoterpeno hidrocarboneto; MO: Monoterpeno oxigenado; SH: Sesquiterpeno hidrocarboneto; SO: Sesquiterpeno oxigenado.

No total, foram anotados 84 compostos nos óleos das folhas, com a ocorrência de variações qualitativas e quantitativas entre as amostras. Já para as flores, foram anotados 34 compostos.

Em relação às classes de compostos, a maioria dos constituintes das folhas foi de monoterpenos oxigenados, mas também foram anotados compostos pertencentes às classes dos monoterpenos não oxigenados, sesquiterpenos oxigenados e não oxigenados e alguns diterpenos. Além disso, foram anotados alguns compostos de outras classes, com funções orgânicas como álcoois, aldeídos, ésteres, cetonas, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos. No óleo das flores, foram encontrados principalmente monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos oxigenados e não oxigenados, além de diterpenos oxigenados e derivados diterpênicos.

Os óleos essenciais das folhas de *M. parviflora* revelaram a predominância de α -terpineol, com teores variando de 2,35 a 13,07%, sendo o composto majoritário em praticamente todas as épocas de coleta. O composto anotado como (7a-isopropenil-4,5-dimetilocta-hidroinden-4-il)metanol (isômero II), pertencente à classe dos derivados de diterpenos oxigenados (DDO), atingiu 17,47% na amostra EOMP1, permanecendo em concentrações expressivas nas demais coletas das folhas. Destacam-se, ainda, como majoritários no óleo essencial das folhas, os monoterpenos oxigenados, óxido de *cis*-linalol e linalol, o sesquiterpeno oxigenado, (*E*)-nerolidol e o diterpeno oxigenado, ácido catávico. O óxido de *cis*-linalol apresentou valores entre 0,69 e 3,65%, enquanto o linalol variou de 0,16 a 2,94%, sendo observados os maiores teores na coleta realizada em agosto (EOMP4). O composto (*E*)-nerolidol foi presente em todas as amostras das folhas, alcançando 3,93% na coleta de outubro (EOMP5). O ácido catávico apresentou concentrações expressivas, principalmente nas últimas coletas das folhas (4,04–5,19%).

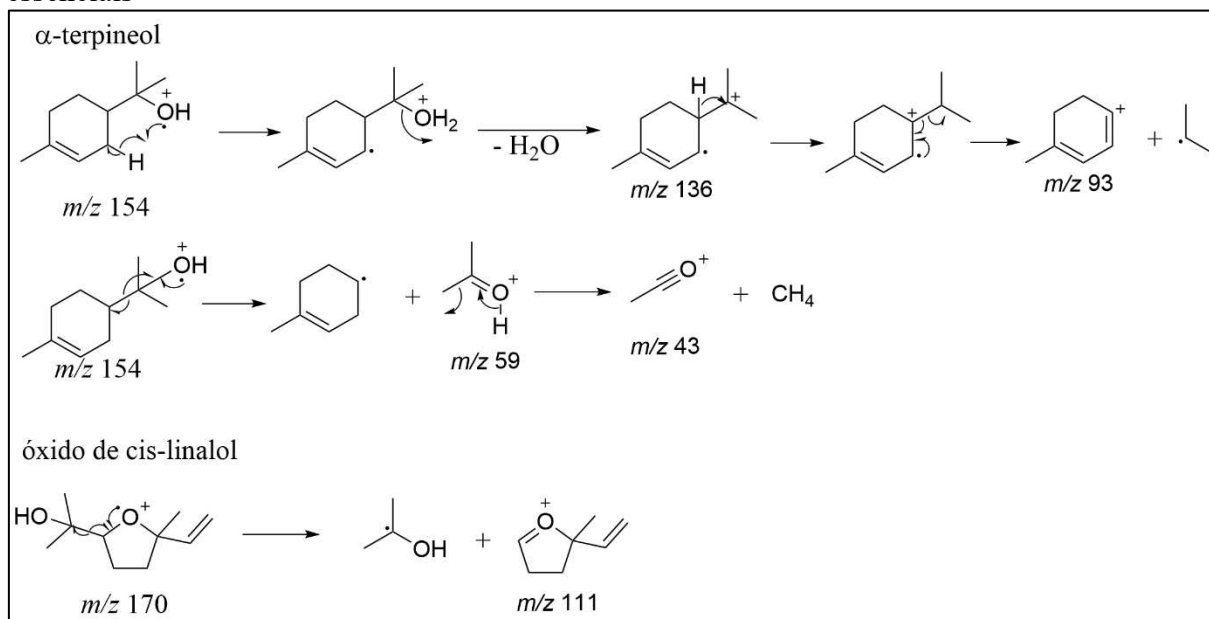
Em um primeiro estudo com os óleos essenciais da *M. parviflora* realizado por (Farias *et al.*, 2018) o α -terpienol também foi um dos compostos majoritários, variando de 2,7 a 16,5%. Outros compostos anotados no primeiro trabalho também foram anotados no trabalho presente, como o limoneno, linalol, *trans*-pinocarveol, terpinen-4-ol, α -*trans*-bergamoteno, (*E*)-nerolidol, cariofileno, entre outros (Farias *et al.*, 2018).

O óleo essencial das flores (EOMP7) apresentou composição distinta das folhas, caracterizada pela redução do teor de α -terpineol (1,41%) e pelo aumento de alguns derivados diterpênicos, como o isômero IV de (7a-isopropenil-4,5-dimetiloctahidroinden-4-il)metanol (6,94%), ácido catávico (3,37%) e óxido de cariofileno (2,12%). Essa diferença evidencia uma variação química entre os órgãos vegetais, que está relacionada às funções ecológicas

específicas de folhas e flores, bem como às diferenças na regulação das vias biossintéticas dos terpenoides.

Foram propostos mecanismos para alguns dos compostos majoritários, a fim de confirmar as anotações (Figura 14).

Figura 14 – Proposta de fragmentação para alguns compostos majoritários nos óleos essenciais



Fonte: O autor (2026)

Para o α -terpineol, o íon fragmento m/z 136 ocorre após um rearranjo de hidrogênio e a perda de uma molécula de água (H_2O , 18 u), sequencialmente com a perda de um grupo propil radicalar, forma-se o íon fragmento m/z 93. O íon fragmento m/z 59 ocorre pela com a perda do anel hexano, com uma cisão homolítica entre o anel e o grupo propanol ligado ao anel, resultando em uma cetona protonada, deste grupo, com um rearranjo de hidrogênio e a perda de uma molécula de metano, tem-se o íon acílio (m/z 43).

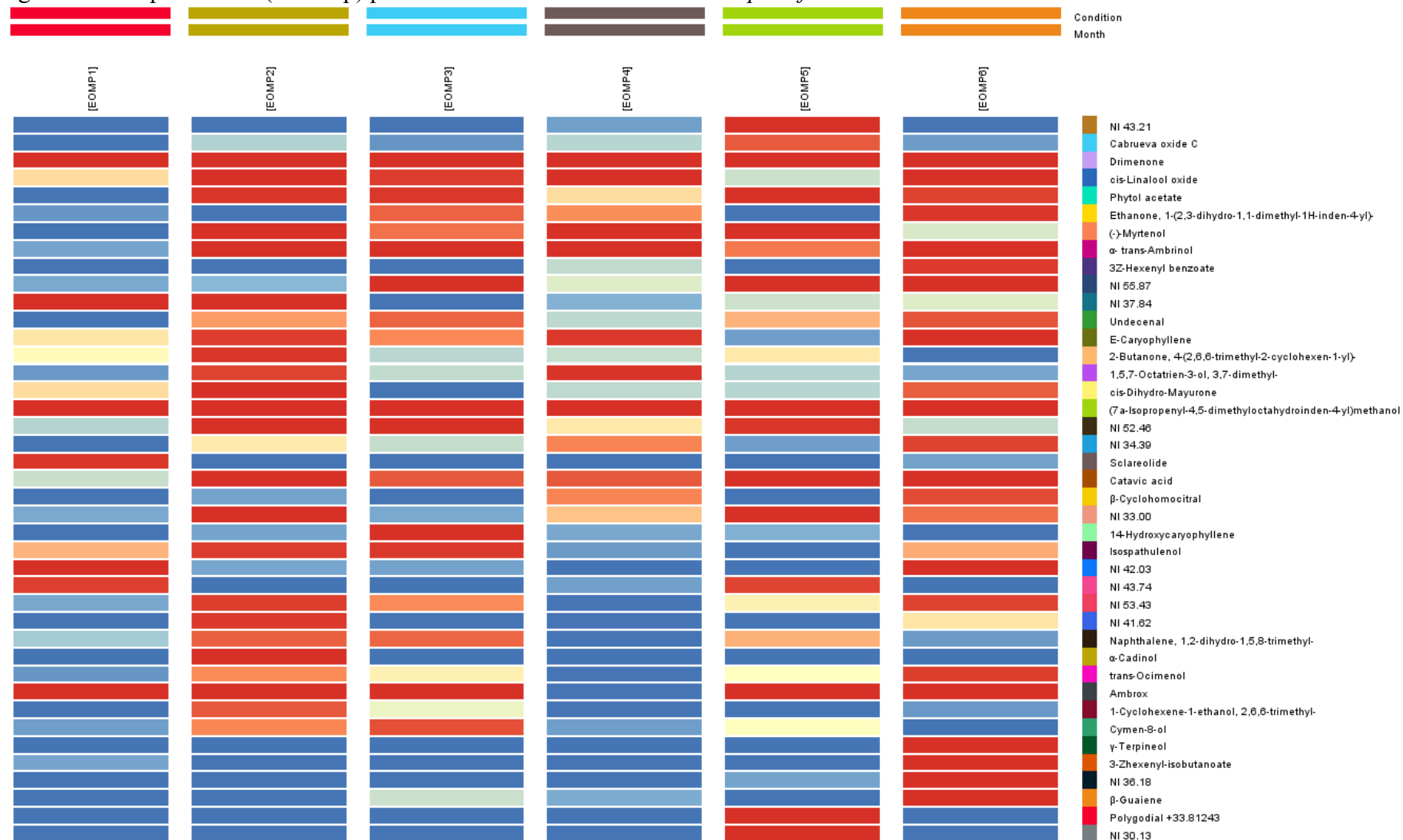
Para o óxido de linalol, os íons fragmento m/z 59 e 43 são formados similarmente ao demonstrado para o α -terpineol. Já o íon fragmento m/z 111 é formado pela perda de uma molécula de álcool propílico radical (59 u).

3.4.4 Avaliação estatística multivariada da composição volátil

Com o intuito de avaliar a variação da composição química dos óleos essenciais das folhas ao longo do ano, foram realizadas algumas análises estatísticas utilizando os dados obtidos por CG-EM e a anotação realizada pelo *software Unknowns Analysis*.

A Figura 15 traz o mapa de calor (*heatmap*) indicando os compostos que foram importantes para diferenciar as amostras. A análise foi realizada utilizando o óleo EOMP5 (outubro/2023) como referência devido ao fato de ser o óleo com os melhores resultados biológicos, como será mostrado na próxima seção. Conforme representado na legenda abaixo da Figura 15, as cores vermelhas indicam que aquele composto, que foi considerado estatisticamente importante, está presente em proporções maiores na amostra, enquanto as cores azuis indicam que o composto ou não está presente na amostra ou está em baixa concentração em relação ao óleo de referência. Ao lado direito está a anotação dos compostos destacados pela análise e, em alguns casos, quando não foi possível a identificação a legenda traz o tempo de retenção do composto.

Figura 15 – Mapa de calor (heatmap) para os óleos das folhas da *Microlicia parviflora*



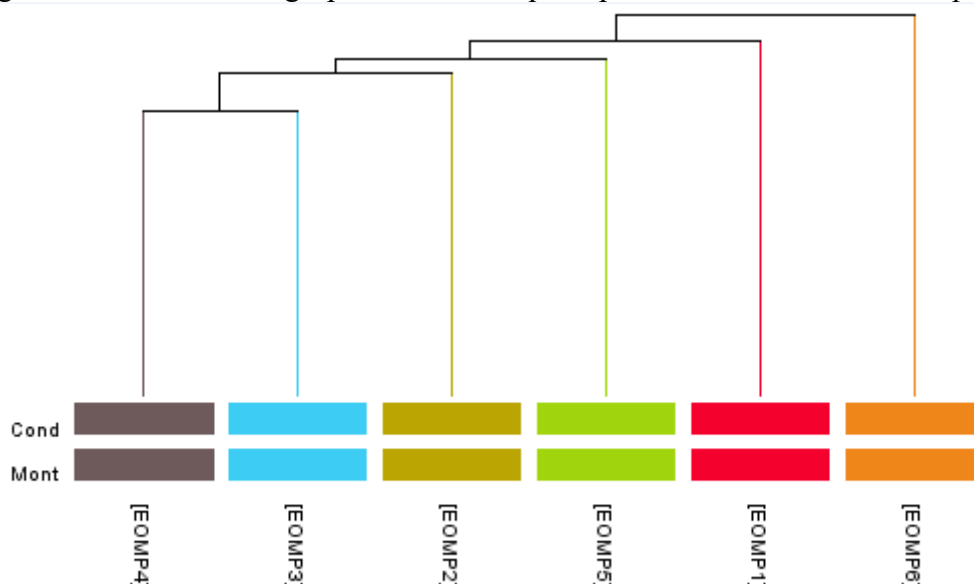
Fonte: O autor (2026)

Legenda da Figura 15 – Mapa de calor (heatmap) para os óleos das folhas da *Microlicia parviflora*



Além do *heatmap*, foi realizada uma análise hierárquica de agrupamentos (HCA) para que se possa ter uma melhor visão de como os óleos se agrupam em relação à sua composição química. A Figura 16 traz o dendrograma de HCA obtido para os óleos.

Figura 16 – Análise de agrupamento hierárquico para os óleos da *Microlicia parviflora*



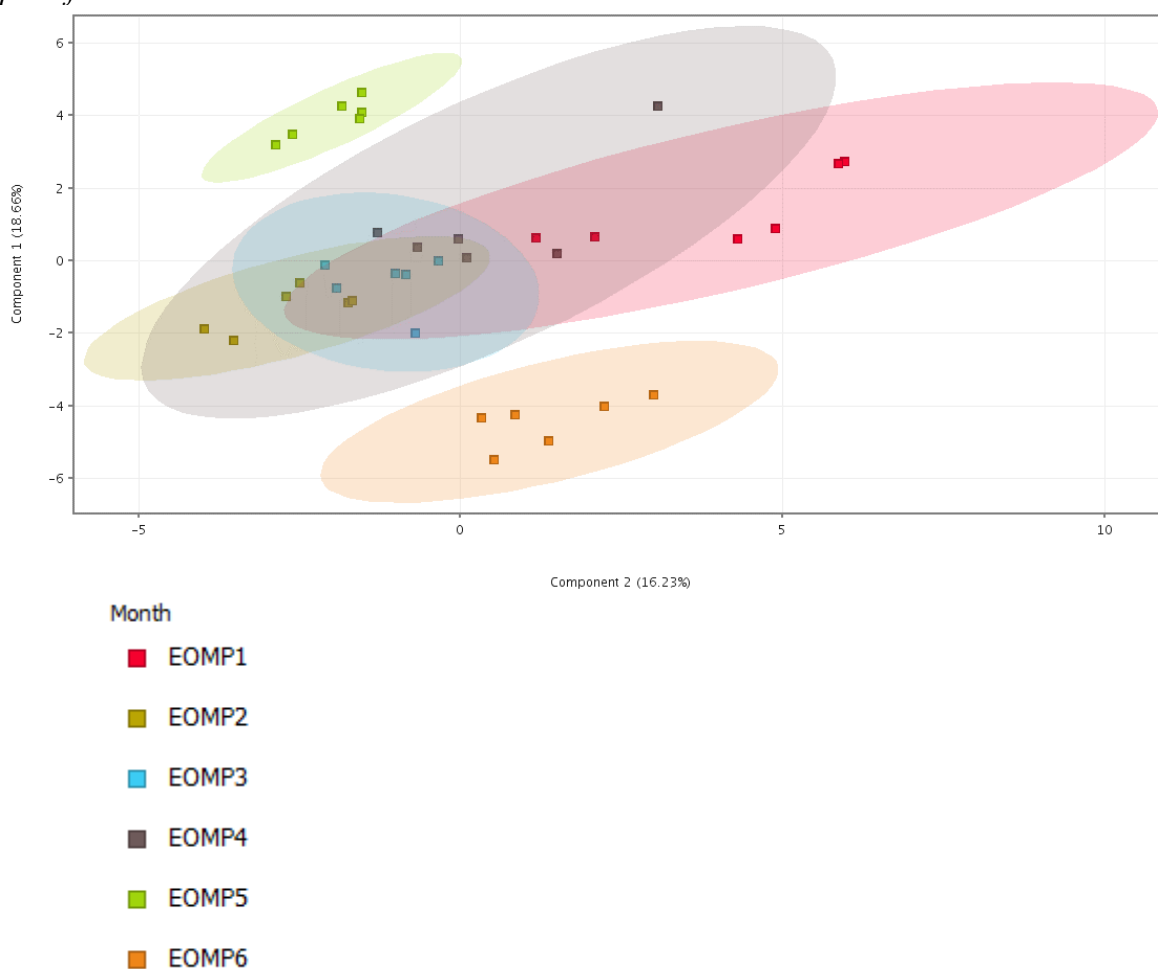
Fonte: O autor (2026)

Através da HCA, é possível perceber que o óleo com composição química mais diferente é o óleo obtido no mês de dezembro (EOMP6), e que sua composição química está

mais próxima à do mês de fevereiro (EOMP1) do que à dos demais meses. Já os óleos obtidos em junho (EOMP3) e agosto (EOMP4) foram os mais parecidos entre si. Os meses de junho (EOMP3) e agosto (EOMP4), na região onde a coleta foi realizada, são os meses mais frios e secos, enquanto os meses de fevereiro e dezembro são os meses mais chuvosos, como pode ser observado na Figura 5 e na Figura 6.

Além da HCA, também foi realizada a análise de componentes principais (PCA) para obter uma melhor confirmação da distribuição da composição química ao longo dos meses. A Figura 17 traz o gráfico de escores da PCA obtido para os óleos.

Figura 17 – Análise de componentes principais (PCA) dos óleos das folhas de *Microlicia parviflora*



Fonte: O autor (2026)

Através da Figura 17, é possível perceber que, assim como na análise de HCA, os óleos essenciais EOMP3 (junho) e EOMP4 (agosto) são os mais parecidos em relação à composição química, apresentando maior sobreposição entre os grupos. Já o óleo EOMP2 (abril) também

se mostrou mais semelhante a esses dois óleos do que aos demais, porém um pouco mais próximo ao óleo EOMP3 (junho), assim como observado na HCA, reforçando que os óleos obtidos nos meses de seca foram mais semelhantes.

Na PCA, os óleos EOMP5 (outubro), EOMP6 (dezembro) e o óleo EOMP1 (fevereiro) apareceram separados dos demais. Porém, os óleos obtidos em fevereiro e dezembro estão mais próximos entre si do que em relação aos demais, principalmente ao se considerar a componente principal 1 (PC1). Essa relação também foi observada na análise de HCA, na qual o óleo obtido em dezembro se mostrou o mais diferente, porém com leve semelhança com o OEMP1 (fevereiro). Ambos os óleos foram obtidos em meses de chuva, porém em épocas diferentes do mesmo ano, uma vez que todos os óleos foram preparados em 2023.

Assim, a PCA também demonstra que os óleos obtidos nos meses chuvosos e secos ficaram mais agrupados em relação à composição química. O óleo EOMP5, que foi obtido no mês de outubro, que compreende uma transição entre a estação seca e a estação chuvosa, ficou mais próximo dos óleos obtidos nos meses de seca, principalmente quando considerada a componente PC2. Esse resultado foi similar ao observado na HCA, onde esse óleo apresentou maior semelhança à amostra EOMP2, obtida em abril, um mês de transição entre as estações chuvosa e seca.

3.4.5 Atividades biológicas dos óleos essenciais.

3.4.5.1 Potencial antibacteriano frente a microrganismos da cavidade oral

Os óleos essenciais foram testados contra sete diferentes espécies de bactérias relacionadas a doenças na cavidade oral, como cárie, periodontite, gengivite, mau hálito, entre outras. Foram testadas três bactérias anaeróbicas e quatro aeróbicas. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Atividade antibacteriana dos óleos essenciais da *Microlicia parviflora*.

Amostras	Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g mL}^{-1}$)						
	Anaeróbicas			Aeróbicas			
	<i>P. gingivalis</i>	<i>F. nucleatum</i>	<i>A. naeshundii</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. mitis</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>S. sanguinis</i>
EOMP1	3,12	>400	1,56	12,25	12,25	25	25
EOMP2	1,56	>400	3,12	50	25	50	50
EOMP3	1,56	>400	3,12	12,5	12,5	12,5	25
EOMP4	3,12	>400	1,56	25	25	25	25
EOMP5	0,39	>400	0,39	25	25	25	25
EOMP6	3,12	>400	1,56	12,5	12,5	12,5	25
EOMP7	3,12	>400	1,56	12,5	12,5	25	12,5
Clorexidina	3,68	1,84	1,84	0,92	3,68	0,46	0,92

Notas: -- não testado; Clorexidina: Controle positivo; O controle da técnica para as bactérias foi realizado utilizando o controle positivo metronidazol, contra as cepas de referência, *Bacteroides fragilis* (CIM = $0,74 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *B. thetaiotaomicron* (CIM $2,95 \mu\text{g mL}^{-1}$)

As bactérias mais suscetíveis aos óleos essenciais foram as bactérias *P. gingivalis* e *A. naeslundii*, apresentando valores de CIM entre 0,39 e 3,12 $\mu\text{g mL}^{-1}$, sendo o melhor valor de CIM (0,39 $\mu\text{g mL}^{-1}$), encontrado para o óleo extraído no mês de outubro (EOMP5). Os óleos não apresentaram atividade contra a bactéria anaeróbica *F. nucleatum*, dentro das concentrações utilizadas no protocolo adotado. Em relação às bactérias aeróbicas, os óleos também foram ativos, porém com valores de CIM relativamente maiores, variando entre 12,25 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Alguns autores consideram a atividade *in vitro* como forte quando os valores de CIM são inferiores a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, moderada com valores entre 100 e 625 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e fraca quando acima de 625 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Kuate, 2010; Ríos; Recio, 2005; Sezener Kabay *et al.*, 2024). Considerando esses critérios, os óleos apresentaram valores de inibição de forte contra as todas as bactérias testadas, com exceção da *F. nucleatum*, o que pode, assim, ser considerado como resultados promissores para os óleos da espécie. Além disso, os valores obtidos para os óleos, principalmente em relação às bactérias anaeróbicas foram próximos ou menores que os observados para o padrão clorexidina, reforçando quão promissores foram os resultados apresentados.

Comparando com os resultados obtidos para outras espécies de *Microlicia*, não há estudos em relação às bactérias da cavidade oral. Porém, algumas espécies foram testadas contra outras linhagens bacterianas; *M. phlogiformis*, teve como melhor resultado um valor de CIM de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra as espécies *Bacillus cereus* e *Micrococcus luteus* (Fernandes *et al.*, 2016). A *M. crenulata* apresentou CIM de 128 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *Pseudomonas aeruginosa* (Pereira *et al.*, 2015). Assim, em comparação com outras espécies do gênero, os resultados obtidos para a *M. parviflora* também podem ser considerados promissores e reforçam o potencial que o gênero possui de ser investigado.

Em relação à composição química, as atividades biológicas podem ser explicadas pelos compostos presentes nos óleos. O α -terpineol, um dos majoritários na maioria dos óleos, foi testado contra algumas espécies de bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas. O composto se mostrou ativo contra algumas das bactérias testadas, incluindo a *P. gingivalis*, *F. nucleatum* e *A. actinomycetemcomitans*, com valores de CIM variando entre 100 e 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra diferentes cepas de cada uma das espécies. Ainda, no mesmo trabalho, o linalol, outro composto majoritário no presente trabalho, também se mostrou ativo contra as mesmas bactérias. A contribuição desses compostos, assim como a de outros presentes nos óleos, pode justificar as atividades observadas.

3.4.5.2 Potencial antifúngico frente a espécies do gênero *Candida*

Os óleos foram testados contra três das espécies de *Candida* mais comuns em infecções em humanos e contra a espécie multirresistente *C. auris*. A Tabela 6 traz os resultados obtidos.

Tabela 6 – Atividade anti-*Candida* dos óleos essenciais das flores e folhas da *Microlicia parviflora*

Amostra	Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			
	<i>C. auris</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>
EOMP1	750	3000	3000	375
EOMP2	750	3000	3000	3000
EOMP3	750	3000	3000	750
EOMP4	750	3000	3000	375
EOMP5	375	3000	3000	375
EOMP6	750	3000	3000	1500
EOMP7	750	1500	3000	750
Controle positivo	--	0,25	0,12	0,25

Notas: O controle da técnica foi realizado utilizando o controle positivo anfotericina B, contra as cepas de referência, *Candida krusei* (CIM = $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. parapsilosis* (CIM $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$)

Fonte: O autor

Os resultados antifúngicos não foram tão promissores quanto os antibacterianos, principalmente em relação às espécies *C. albicans* e *C. tropicalis*, que apresentaram maior resistência aos óleos, com CIM de $3000 \mu\text{g mL}^{-1}$. Porém, o óleo EOMP5 mostrou atividade moderada contra a espécie *C. auris*, considerando os valores adotados por outros autores, mencionados acima. Os óleos essenciais testados também apresentaram de moderada a fraca atividade contra a *C. glabrata* (Kuate, 2010; Ríos; Recio, 2005; Sezener Kabay *et al.*, 2024).

Ao comparar com os resultados obtidos para outras espécies de *Microlicia*, os óleos da *M. crenulata* foram testados anteriormente contra seis espécies de *Candida* e não apresentaram atividade contra esses fungos (Pereira *et al.*, 2015). Assim, apesar de os óleos essenciais da *M. parviflora* não terem apresentado forte atividade de inibição contra os fungos, os resultados ainda são relevantes dentro do gênero da espécie.

3.5 Conclusões

Os óleos essenciais das folhas e das flores da *Microlicia parviflora* apresentaram fraca ou moderada atividade contra espécies de *Candida*, sendo mais ativos contra as espécies *C. glabrata* e *C. auris*. Em relação às atividades antibacterianas, os óleos apresentaram valores promissores para seis das espécies avaliadas, com os melhores resultados contra as espécies anaeróbicas *P. gingivalis* e *A. naeslundii*, com valores de CIM variando de 0,39 a 3,12 $\mu\text{g mL}^{-1}$ que obtiveram valores de CIM próximos ou menores que o controle clorexidina (3,86 e 1,84 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente).

A composição química dos óleos apresentou variação ao longo dos meses e variou de acordo com os meses de seca e chuva na região de coleta, conforme evidenciado pelas análises de PCA e HCA. Os compostos majoritários estiveram presentes em todos os óleos, porém em concentrações diferentes. O óleo das flores apresentou diferenças em relação à sua composição química quando comparado às folhas, com menos compostos anotados e com diferenças em relação aos compostos majoritários.

Foi a primeira vez que os óleos da espécie foram testados em relação ao potencial antimicrobiano e este constitui o primeiro estudo sobre o óleo essencial das flores da *M. parviflora*.

4 CAPÍTULO 4 – ATIVIDADES ANTIBACTERIANA, ANTIFÚNGICA E ANTIPARASITÁRIA DOS EXTRATOS DE *Microlicia parviflora*

4.1 Introdução

4.1.1 Influência do método de extração na composição química dos extratos

Como mencionado nos capítulos anteriores, a *Microlicia parviflora* é uma espécie com poucos estudos na literatura científica sobre sua composição química. Existe um trabalho sobre óleos essenciais das folhas (Farias et al., 2018), e outro em relação ao extrato metanólico das folhas, embora esse estudo tenha sido voltado a uma classe específica de metabólitos, os flavonoides (Bomfim-Patício *et al.*, 2001).

Os estudos têm se concentrado em um único órgão da planta, as folhas; entretanto, os metabólitos podem variar qualitativamente ou quantitativamente em diferentes órgãos. Os flavonoides, por exemplo, tendem a se acumular mais nas flores e folhas (Ma *et al.*, 2024). Portanto, estudos abordando diferentes órgãos da espécie são importantes para um melhor entendimento do metabolismo da planta, assim como para avaliar o potencial biológico de diferentes partes. Há plantas na medicina tradicional ou até mesmo fitoterápicos que têm seu uso limitado a uma parte específica da planta, devido ao fato de as propriedades serem mais evidenciadas naquele órgão.

Alguns exemplos do uso de órgãos distintos são: a canela de velho (*Miconia albicans*), abordada no Capítulo 2 (página 25), em que o chá das folhas é utilizado para combater dores agudas (da Silva *et al.*, 2022); o fedegoso (*Senna macranthera*), que possui relatos de uso das sementes para labirintite e controle da pressão alta (Magalhães *et al.*, 2022), o barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), cujas cascas do caule e galhos são usadas como cicatrizante, sendo comercializadas como fitoterápicos (Oliveira *et al.*, 2026; Ricardo *et al.*, 2018); e a copaíba, proveniente de árvores do gênero *Copaifera* spp., cujo uso para o tratamento de feridas, emprega a oleorresina do caule (Ricardo *et al.*, 2018), entre outros exemplos.

Outro fator que pode influenciar a composição do produto obtido de um organismo vegetal é o método adotado ao se extrair os metabólitos. Diferentes processos de extração resultarão em uma composição química diferente. (Sun *et al.*, 2025). Existem diversas técnicas de extração, como as técnicas empregadas em compostos voláteis, como arraste a vapor e hidrodestilação, técnicas usando solventes orgânicos, como maceração a frio ou o uso de

ultrassom, micro-ondas ou até mesmo aquecimento para facilitar a extração (Abubakar; Haque, 2020).

No capítulo anterior, foi abordado um estudo dos óleos essenciais da planta, obtidos por hidrodestilação; esse tipo de extração resulta em amostras oleosas, com forte presença de compostos voláteis, de baixa massa molecular, e com grande concentração de compostos menos polares.

Em técnicas como a maceração, a escolha do solvente também irá influenciar a composição química do produto obtido. Solventes menos polares, como o hexano, tendem a extrair compostos de polaridade baixa, enquanto solventes mais polares, como a água ou álcoois, tendem a concentrar compostos mais polares e, no caso dos álcoois, até compostos de polaridade média (Abubakar; Haque, 2020).

No presente trabalho, foi escolhido o método da maceração com solvente a frio, sendo selecionados dois solventes distintos: o hexano, com características menos polares, para gerar um extrato mais concentrado em compostos não polares, e o etanol, que é um solvente polar e é considerado um solvente capaz de extrair uma maior variedade de classes de compostos, pois extrai tanto compostos polares quanto compostos de polaridade média (Abubakar; Haque, 2020; Lee *et al.*, 2024).

4.1.2 Atividades antifúngica e antibacteriana

Como já abordado, a busca por novas substâncias que possam ser utilizadas como antimicrobianos é uma necessidade constante na sociedade. O surgimento de cepas resistentes aos fármacos atualmente utilizados é uma problemática contemporânea, com diversos casos e surtos de cepas resistentes ao redor do mundo, sendo considerado pela OMS um dos principais problemas de saúde da atualidade (WHO, 2023a). Como demonstrado, a química de produtos naturais desempenha um papel relevante na busca por novos compostos que possam ser utilizados como fármacos ou que sirvam de inspiração em estudos voltados ao desenvolvimento de novas moléculas com potencial medicinal (Newman; Cragg, 2020).

A *M. parviflora* ainda não possui estudos quanto a esse tipo de atividade. Porém, existem espécies na família e no gênero que se mostraram promissoras quanto às atividades antimicrobiana e antifúngica. Alguns extratos e partições das folhas da espécie *M. phlogiformis* foram ativos contra fungos dos gêneros *Candida*, *Cryptococcus* e *Trichophyton*, bem como contra as bactérias *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* e *Micrococcus luteus* (Fernandes *et al.*, 2016). Os extratos da *M. hatschbachii* apresentaram resultados antibacterianos promissores

contra espécies de diferentes gêneros, destacando os resultados contra *Bacillus cereus* e *Enterococcus faecalis*, (Cassiano *et al.*, 2014). Os extratos metanólicos das espécies *M. confertiflora*, *M. cordata* e *M. laniflora* foram ativos contra as espécies *Micrococcus luteus* e *Staphylococcus aureus* (Cota *et al.*, 2002).

Esses estudos mostram que o gênero possui potencial frente a diferentes patógenos, mas também expõem a necessidade de mais estudos, uma vez que poucas espécies foram investigadas. A *M. parviflora* não possui estudos nos quais seus extratos tenham sido avaliados quanto ao seu potencial antifúngico e antibacteriano, e no gênero não há estudos contra bactérias da cavidade oral. Assim, neste capítulo será abordada a avaliação do potencial antifúngico contra espécies de *Candida*, visto que outra espécie do gênero já se mostrou ativa frente a esses patógenos, e contra bactérias da cavidade oral, o que será inédito para a espécie e para o gênero, ampliando assim os estudos frente a diferentes patógenos para espécies do gênero, contribuindo para um melhor entendimento do potencial que o gênero possa ter.

4.1.3 Doenças tropicais negligenciadas

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são um conjunto de 20 doenças comuns nas regiões tropicais e neotrópicas do planeta, predominantemente nos continentes americano, asiático e africano. Essas doenças estão diretamente ligadas a populações mais vulneráveis, nas quais o acesso ao saneamento básico e à água tratada é escasso e, principalmente, o contato com animais vetores transmissores das doenças é frequente. Estima-se que mais de 1 bilhão de pessoas sejam afetadas por essas doenças no mundo (Ferreira; de Moraes; Andricopulo, 2022).

As DTNs são caracterizadas pela falta de tratamento eficaz para muitas delas e pela ausência de novas terapias, frequentemente devido à falta de investimento em pesquisas. Muitas dessas doenças não são letais em grande parte dos casos, sendo este um dos fatores pelos quais não são o foco principal de muitas pesquisas, que normalmente priorizam doenças com letalidade mais elevada. Porém, mesmo não possuindo um índice elevado de letalidade, são doenças que causam deformidades, comprometendo a qualidade de vida; algumas também, apesar de não causarem o óbito diretamente, causam uma diminuição na expectativa de vida dos infectados (Ferreira; de Moraes; Andricopulo, 2022).

Apesar dessas doenças serem mais comuns nas regiões tropicais do planeta, o aquecimento global vem fazendo com que muitas delas comecem a ser relatadas em regiões onde antes não eram. Um levantamento feito por Tidman; Abela-Ridder; De Castañeda, (2021) mostra estimativas de expansão de doenças tropicais em decorrência das mudanças provocadas

pelo aquecimento global. Segundo esses autores, há potencial para a disseminação de doenças como dengue, chikungunya, doença de Chagas e leishmaniose para regiões mais ao norte dos Estados Unidos, bem como para a expansão da dengue, chikungunya, leishmaniose e esquistossomose em direção às áreas temperadas da Europa Central. O estudo ainda aponta que no Nepal, por exemplo, já ocorre um avanço da dengue, chikungunya e filariose linfática para regiões mais ao norte do país, localidades que antes eram livres dessas doenças.

Várias dessas doenças são comuns no Brasil. Entre os anos de 2016 e 2020, 600 mil novos casos de DTNs foram registrados e há estimativas de que em torno de 28,9 milhões de pessoas estejam em risco de contrair alguma dessas doenças (Pinheiro *et al.*, 2026).

4.1.3.1 *Leishmaniose*

A leishmaniose é um conjunto de doenças tropicais negligenciadas causadas por parasitas do gênero *Leishmania*. Esses parasitas são capazes de infectar diversos tipos de animais, como humanos, cachorros, roedores, entre outros. O parasita é transmitido por fêmeas infectadas de algumas espécies de mosquitos do gênero *Phlebotomus* (Lodi *et al.*, 2024; WHO, 2023b)

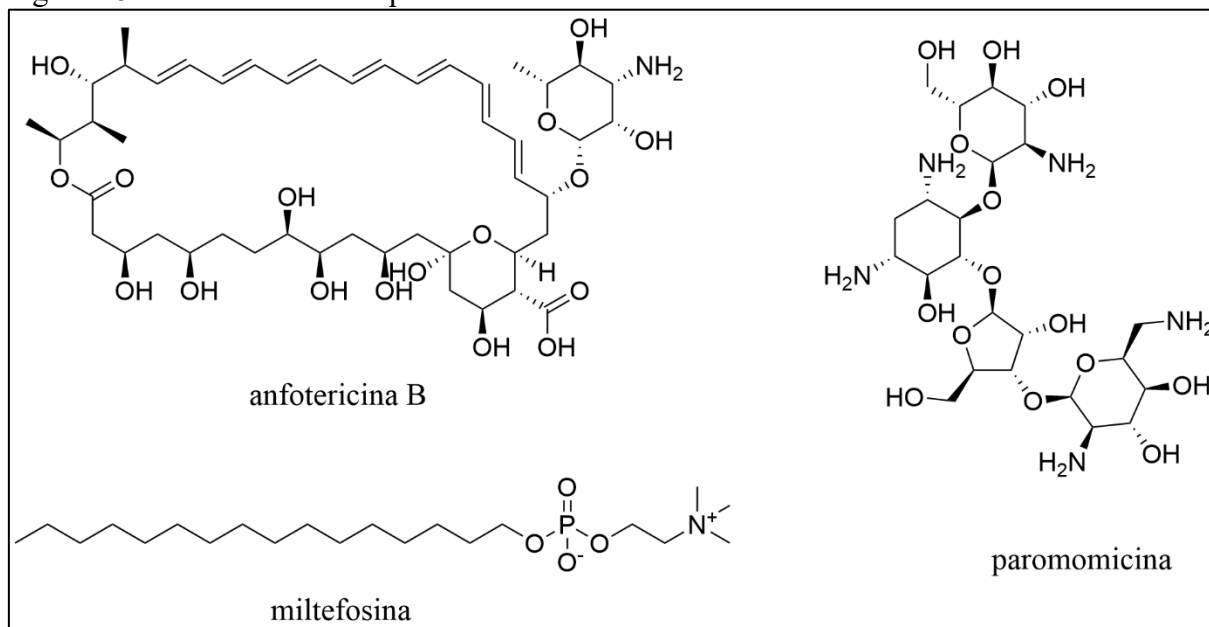
É uma doença presente nas regiões tropicais e subtropicais do planeta. A OMS estima que por ano ocorram entre 700 mil e 1 milhão de novos casos. Porém, com o avanço do aquecimento global, os habitats naturais dos mosquitos transmissores estão sendo expandidos para outras regiões (Carvalho *et al.*, 2024).

Além de representar uma grande problemática para humanos, a leishmaniose também é uma doença bastante comum em cachorros, os quais contribuem significativamente para o ciclo de transmissão da doença; estimativas apontam que somente na Europa há 2,5 milhões de cachorros infectados apenas com a espécie *L. infantum*, causadora da leishmaniose visceral (Kaempfle; Hartmann; Bergmann, 2025).

A doença se manifesta de três diferentes formas: a leishmaniose cutânea, a leishmaniose mucocutânea e a leishmaniose visceral. E a forma da doença está intimamente ligada à espécie de *Leishmania* (Lodi *et al.*, 2024). A forma mais comum é a leishmaniose cutânea e a visceral é a forma mais agressiva das três. Apesar de ser a mais agressiva, a leishmaniose visceral pode ocorrer de forma assintomática, porém, em casos de infecção sintomática, possui uma taxa de letalidade superior a 95% (Pradhan *et al.*, 2022). Neste trabalho, será estudada a espécie *L. infantum* (também chamada de *L. chagasi*) que é causadora da leishmaniose visceral em diversas localidades, incluindo a América do Sul e o Brasil (Sasidharan; Saudagar, 2021)

São poucos os fármacos disponíveis para a doença, e os existentes possuem uma eficácia baixa, além de altos custos e de severos efeitos colaterais (Pradhan *et al.*, 2022). Atualmente há sete fármacos disponíveis, sendo o mais utilizado a anfotericina B lipossomal (Figura 18). Outros fármacos já foram utilizados e vêm sendo descontinuados devido à toxicidade e ao crescente aparecimento de cepas resistentes. Outra problemática é o fato de as medicações serem intravenosas ou intramusculares, o que demanda injeções que em certas localidades não são tão fáceis de se encontrar. O único fármaco via oral é a miltefosina, que possui restrições em mulheres grávidas por ser teratogênica. E o fármaco aprovado mais recentemente foi aprovado ainda em 2006, a paromomicina, porém também possui efeitos colaterais, (Majoor *et al.*, 2025).

Figura 18 – Fármacos usados para tratamento de leishmaniose



Fonte: o autor (2026)

Além disso, a doença é classificada como negligenciada devido ao pouco investimento em estudos para o seu tratamento, o que torna a necessidade de busca por novas substâncias ou novas terapias para a doença urgente (Pradhan *et al.*, 2022).

No gênero *Microlicia*, a única espécie testada contra espécies de *Leishmania* é a *M. parviflora*, que foi testada *in vitro* contra quatro espécies nas suas formas promastigotas. O extrato metanólico das folhas se mostrou ativo contra três dessas espécies, com valores de CE_{50} de $19,7 \mu\text{g mL}^{-1}$ contra a espécie *L. amazonensis*, $17,1 \mu\text{g mL}^{-1}$ para a *L. braziliensis* e $64 \mu\text{g mL}^{-1}$ para a *L. chagasi*, sendo inativo contra a *L. major* (Antinarelli *et al.*, 2015). Os resultados foram promissores, o que demonstra o potencial da *M. parviflora* para determinadas espécies

desse parasita, mas o estudo em questão não realizou nenhuma investigação da composição química desse extrato para tentar, de alguma forma, identificar os compostos responsáveis pela atividade observada. Entre as espécies testadas, a *L. chagasi* é causadora da leishmaniose visceral, enquanto as demais causam a forma cutânea da doença.

Todos esses fatores mostram a importância de estudos que busquem alternativas de tratamento para a doença. É uma doença com baixa disponibilidade de fármacos. O fármaco aprovado mais recentemente foi aprovado há 20 anos. Os fármacos disponíveis são tóxicos e o surgimento de cepas resistentes é uma problemática também para esses patógenos.

4.1.3.2 Doença de Chagas

A doença de Chagas é uma doença endêmica na América, sendo encontrada em 21 países ao longo do continente. É uma doença causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi*. O parasita é transmitido a humanos por um inseto conhecido popularmente como barbeiro, que é um percevejo. Estima-se que em torno de 160 espécies de percevejos da subfamília Triatominae sejam responsáveis pela transmissão do parasita (Cucunubá *et al.*, 2024). Levantamentos apontam que no mundo existem de 6 a 8 milhões de pessoas infectadas pelo parasita (Martín-Escolano *et al.*, 2022).

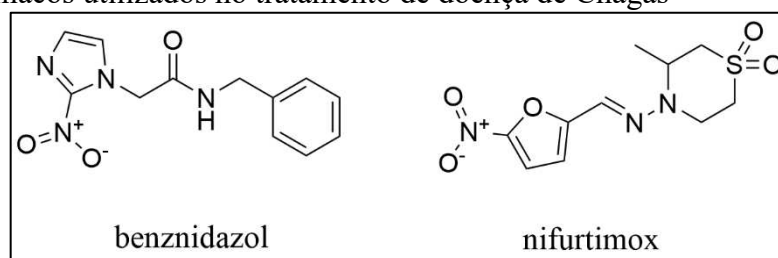
Outra problemática relacionada à doença de Chagas é o fato de ser mais comum em regiões pobres desses países; isso ocorre devido às condições de vida dessas pessoas. O tipo de moradia que essas pessoas possuem é propício para que o percevejo se aloje, causando assim uma proximidade entre o vetor e as pessoas em risco; falta de saneamento básico, e práticas precárias de higiene, favorecem a contaminação por outras formas além da contaminação pelo barbeiro; o acesso limitado a cuidados de saúde faz com que o diagnóstico seja lento ou inexistente, diminuindo a possibilidade de cura (Cucunubá *et al.*, 2024; Nunes *et al.*, 2024).

O ciclo do parasita também envolve uma série de mamíferos, desde humanos, macacos, roedores até animais de estimação como cachorro e gato, entre outros. O ciclo de transmissão principal ocorre quando o percevejo se alimenta do sangue do humano e, ao se alimentar, pode liberar fezes ou urina infectadas com parasitas que aí atingem a corrente sanguínea pela ferida. Outras formas de infecção são por transfusão de sangue ou transplante de órgão; transmissão cruzada da mãe para o feto; transmissão oral pela ingestão de comida ou água contaminada; e, para outros tipos de animais, pela ingestão de presas infectadas com o parasita (Cucunubá *et al.*, 2024; Swett *et al.*, 2024).

Uma vez que o paciente é infectado, a doença possui duas fases. A primeira fase, chamada fase aguda, é normalmente caracterizada por alta parasitemia, tendo como principais sintomas a febre, cefaleia e diarreia. Após essa fase, boa parte dos infectados progride para uma fase assintomática, enquanto em torno de 30% desenvolvem a chamada fase crônica, levando à infecção em vários órgãos, principalmente no coração e no intestino, podendo levar a óbito, sendo a cardiomiopatia chagásica a principal causa. A doença de Chagas é a principal causadora de cardiomiopatia infecciosa no mundo, com aproximadamente 1,2 milhão de pessoas afetadas (Martín-Escolano *et al.*, 2022; Nunes *et al.*, 2024).

A doença possui apenas dois fármacos disponíveis para o tratamento, benznidazol e nifurtimox (Figura 19), porém ambos são fármacos com inúmeros efeitos colaterais. Na fase aguda, a chance de tratamento é maior, porém estima-se que apenas 1% dos pacientes descubram a doença nessa fase. Na fase crônica, as chances de tratamento diminuem e muitos pacientes abandonam o tratamento devido aos efeitos colaterais (Martín-Escolano *et al.*, 2022).

Figura 19 – Fármacos utilizados no tratamento de doença de Chagas



Fonte: O autor (2026).

Em relação a estudos de espécies de *Microlicia* contra o parasita *T. cruzi*, há somente um estudo em que o óleo essencial da *M. graveolens* foi testado. Nesse estudo, testaram tanto o óleo essencial na sua forma livre quanto em emulsões de nanopartículas. O óleo puro apresentou um CE_{50} de $60,4 \text{ g mL}^{-1}$ e a nanoemulsão de $2,3 \text{ mg mL}^{-1}$ (Seibert *et al.*, 2025). Sendo assim, nenhum trabalho reportou qualquer avaliação de extratos para esse patógeno, sendo o estudo presente inédito para o gênero.

Esses dados mostram a importância de estudos que busquem novas terapias para a doença. Trata-se de uma doença que, na fase crônica, possui alta mortalidade, possui poucos fármacos disponíveis e os disponíveis possuem baixa eficácia em casos crônicos, além de serem tóxicos.

4.2 Objetivos

Os objetivos deste capítulo foram avaliar o potencial biológico dos extratos das folhas, flores e galhos de *Microlicia parviflora* contra bactérias da cavidade oral, fungos do gênero *Candida* e os protozoários *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania infantum*. Além disso, também analisar a composição química dos extratos ou partições mais ativos de cada órgão por espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida e isolar compostos da amostra mais ativa a fim de investigar a atividade biológica dos compostos isolados.

4.3 Procedimentos experimentais

4.3.1 Reagentes e equipamentos

4.3.1.1 Instrumentação

- Balança de luz infravermelha para determinação da umidade QUIMIS, modelo Kett FD-600;
- Balança analítica SHIMADZU, modelo ATX224;
- Evaporador rotatório IKA modelo RV 10 com banho de aquecimento e controle digital;
- Liofilizador TERRONI, modelo LS3000;
- Espectrômetro (Genesys™ 10 S UV-Vis);
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência AGILENT®, modelo Infinity 1260, acoplado a um Espectrômetro de Massas de alta resolução tipo Quadrupole-Time of Flight (Q-TOF) AGILENT®, modelo 6520 B com fonte de ionização por electrospray (IES);
- Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) BRUKER®, modelo Ascend™ 400 Avance III HD (9,4 Tesla).

4.3.1.2 Reagentes

- Solventes utilizados no preparo dos extratos, partições e na coluna semipreparativa: hexano, diclorometano, acetato de etila, *n*-butanol, metanol, etanol. Os solventes foram de marcas diversas: Synth, Vetec, Merck, Neon. O etanol, o hexano e o acetato de etila foram destilados para um maior grau de pureza.

- Ácido acético, ácido sulfúrico, e fórmico também foram de marcas diversas: Isofar, J. T. Baker, Synth, Merck, Vetec.
- Difenilboriloxietilamina: Sigma-Aldrich;
- Polietilenoglicol-4000: Vetec;
- Anisaldeído: Vetec.

4.3.2 Coleta do material vegetal

As folhas, os galhos e as flores da *M. parviflora* foram coletados no Parque do Sabiá na cidade de Uberlândia. A espécie foi identificada pela bióloga e professora Dra. Rosana Romero, especialista na família Melastomataceae. Uma exsicata foi depositada no herbário da Universidade Federal de Uberlândia (HUFU), sob código de registro HUFU 88902.

O acesso ao patrimônio genético foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número A5FE856.

4.3.3 Preparo dos extratos e partições

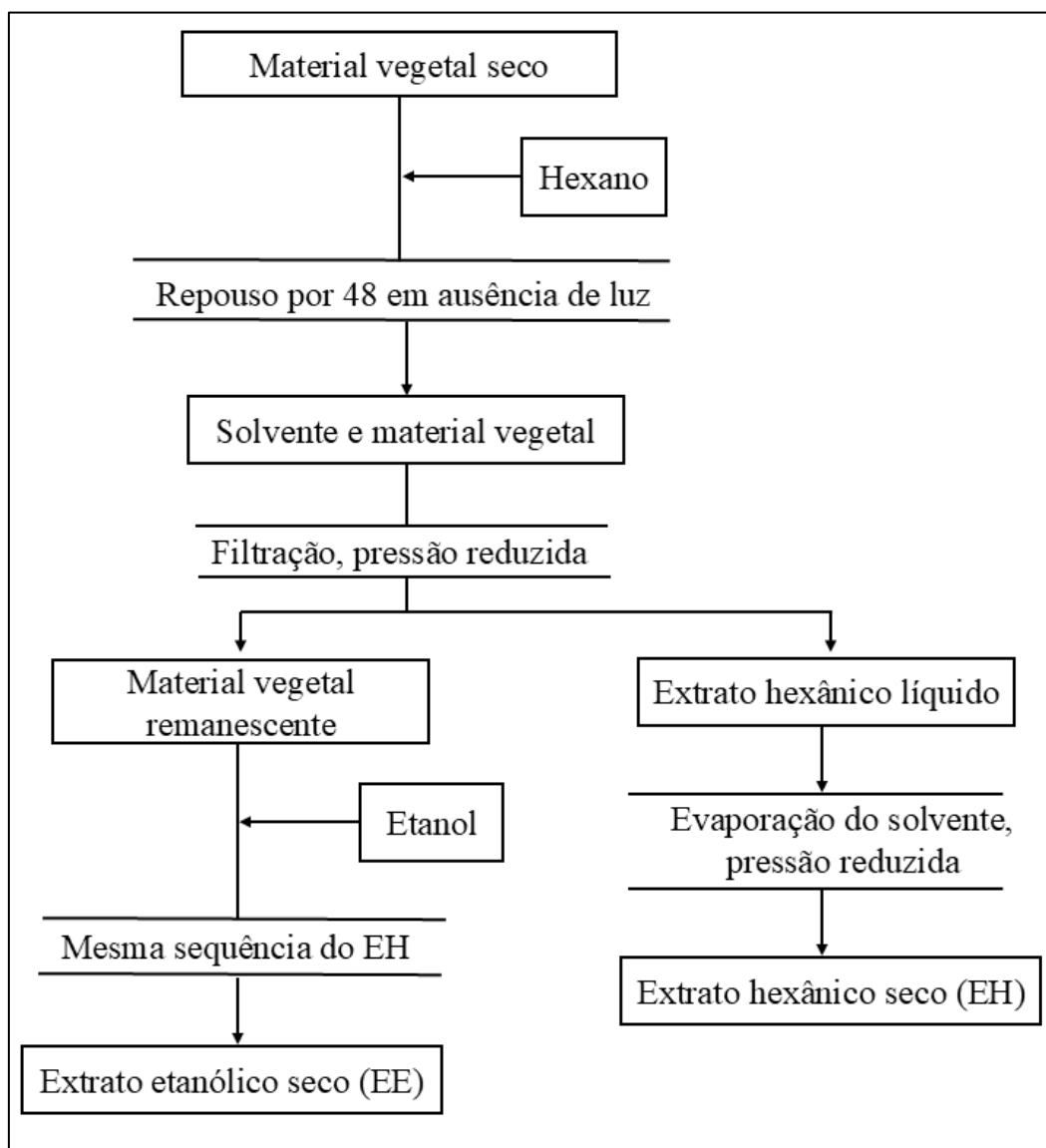
4.3.3.1 Preparo dos extratos

O material vegetal foi levado ao Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais (NuPPeN) e foi colocado para secar em estufa com circulação de ar a 35 °C, até que a umidade atingisse valor menor ou igual a 10%. Para a medição da umidade, foi utilizada uma balança termogravimétrica, onde 1 g do material vegetal foi colocado na balança por 15 minutos a 105 °C e ao final, foi descontada a massa de água evaporada, obtendo-se a umidade do material.

Os extratos foram obtidos por maceração. Para isso, o material vegetal de cada órgão da planta, seco e triturado, foi colocado em um recipiente fechado e, na ausência de luz, com o solvente extrator (hexano) por 48 horas. Foram utilizados 114,70 g de folhas, 142,4 g de galhos e 12,33 g de flores. Para as folhas e galhos foi usado 250 mL de solvente, e para as flores 50 mL. Posteriormente, o material foi filtrado, o solvente foi evaporado utilizando um evaporador rotatório e o extrato foi obtido. Primeiramente, foram obtidos os extratos hexânicos e, após a extração, foi utilizado o material remanescente da extração com hexano para a obtenção dos

extratos etanólicos, o volume de etanol para cada órgão foi o mesmo usado para o hexano. Para cada extrato, o procedimento foi repetido cinco vezes (Figura 20) .

Figura 20 – Fluxograma de preparo dos extratos hexânicos e etanólicos



Fonte: O autor (2026)

4.3.3.2 Preparo das partições a partir dos extratos etanólicos por extração líquido-líquido

O fracionamento com diferentes solventes foi realizado somente para os extratos etanólicos obtidos das folhas e dos galhos, devido a quantidade de extrato das flores obtido. Para a obtenção das partições, o extrato etanólico foi solubilizado em uma solução de metanol:água (9:1). Posteriormente, com auxílio de um funil de extração, foi adicionado à solução o solvente extrator, iniciando com diclorometano e, sequencialmente, acetato de etila e *n*-butanol, restando ao final a partição hidrometanólica. Para o extrato etanólico das folhas foram usados 13 g de extrato e 250 mL da solução hidrometanólica para solubilização do extrato, e para o extrato dos galhos foram utilizados 5 g de extrato 150 mL de solvente. Para as folhas, foi usado 50 mL de solvente extrator para cada extração e a extração foi realizada cinco vezes para cada solvente, já para os galhos foi usado 25 mL por extração. A Figura 21 traz um fluxograma do particionamento dos extratos.

4.3.4 Análise por CLAE-EM

Os extratos e partições mais ativos dos três órgãos foram analisados por espectrometria de massas. Para isso, as amostras solubilizadas em metanol (5 mg mL^{-1}) foram submetidas a uma análise de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um espectrômetro de massas da marca Agilent, modelo Infinity 1260, acoplado a um espectrômetro de massas de alta resolução tipo Quadrupole Time of Flight (Q-TOF) AGILENT®, modelo 6520 B, com fonte de ionização por electrospray (IES). Foi utilizada uma coluna de fase reversa (C18) da Agilent modelo Zorbax ($50,0 \times 2,1 \text{ mm}$, $1,8 \mu\text{m}$). Para a análise, usou-se um gradiente de 5 a 98% do solvente B, em 15 minutos, no qual o solvente A foi água acidificada a 0,1% com ácido fórmico e o solvente B foi metanol. Após esse período, a porcentagem de B foi para 100% e mantida por mais 2 minutos, retornando então às condições iniciais em 2 minutos. Os espectros foram obtidos nos modos positivo e negativo.

Os cromatogramas e os espectros de fragmentação foram analisados no software da Agilent, MassHunter. Para a anotação dos compostos, foi considerado o erro de $\pm 5 \text{ ppm}$ nos valores de m/z obtidos em alta resolução, utilizando a Equação 2. Além disso, os espectros de fragmentação foram comparados com espectros disponíveis em bibliotecas virtuais, como o MoNa e o Metlin, entre outras, e também com espectros publicados na literatura.

$$\text{Equação 2 } \textit{Erro} = \left(\frac{m/z \text{ exp} - m/z \text{ teo}}{m/z \text{ teo}} \right) \times 1 \times 10^6$$

Onde: $m/z \text{ exp}$ = valor de m/z obtido experimentalmente; $m/z \text{ teo}$ = valor de m/z calculado no software ChemDraw

4.3.5 Fracionamento da partição em acetato de etila das folhas

A partição em acetato de etila das folhas foi submetida a uma coluna de bancada para tentativa de isolar compostos presentes na partição. Foi utilizada uma coluna de $75 \times 3 \text{ cm}$, com 150 g de Sephadex LH20 como fase estacionária e o metanol como fase móvel. A Sephadex foi dissolvida no metanol e vertida dentro da coluna de vidro; o volume morto foi calculado em 250 mL , e $1,5 \text{ g}$ da partição de acetato de etila foram solubilizados e aplicados no topo da fase estacionária dentro da coluna de vidro. Posteriormente, a coluna foi eluída com metanol, e o eluente foi coletado em frascos de vidro na base da coluna. As frações foram monitoradas

utilizando a cromatografia em camada delgada (CCD). Para isso, foram utilizadas cromatoplasas de sílica gel fixadas em alumínio, e foram usados os reveladores anisaldeído (anisaldeído-ácido sulfúrico) e NP/PEG (do inglês *natural products-polyethylene glycol reagent*). As frações foram reunidas conforme o perfil semelhante entre elas na cromatoplasa. A fase móvel utilizada foi composta por: 2,6 mL de acetato de etila, 10 mL de água, 1,1 mL de ácido fórmico e 1,1 mL de ácido acético (Wagner; Bladt, 1996).

4.3.6 Preparo dos reagentes NP/PEG e anisaldeído

Os reagentes NP/PEG e anisaldeído foram preparados de acordo com a metodologia descrita por Wagner; Bladt, (1996).

4.3.6.1 Preparo do reagente NP/PEG

Foram preparadas duas soluções: uma solução 1% (m v^{-1}) de difenilboriloxietilamina (NP) em metanol, denominada A, e uma solução B contendo 5% (m v^{-1}) de polietilenoglicol-4000 (PEG4000) em etanol. O reagente é preparado misturando 10 mL da solução A e 8 mL da solução B. O reagente é borrifado sob a cromatoplasa com o auxílio de um borrifador e a placa é então observada em câmara UV em 254 nm.

4.3.6.2 Preparo do reagente anisaldeído

Inicialmente foi preparada uma solução de 5% (v v^{-1}) de anisaldeído em ácido acético glacial. Em seguida, foram adicionados, em ordem, 85 mL de metanol e 5,0 mL de ácido sulfúrico concentrado. O reagente é borrifado na cromatoplasa e aquecido a 100 °C por aproximadamente 15 minutos até o aparecimento de manchas.

4.3.7 Atividades antimicrobianas e antiparasitárias

4.3.7.1 Atividade antifúngica e antibacteriana

Os ensaios antifúngicos e antibacterianos foram realizados no Laboratório de Ensaios Antimicrobianos (LEA) da Universidade Federal de Uberlândia. Os procedimentos adotados e as espécies testadas foram os mesmos do Capítulo 3, seção 3.3.2.5 (página 42).

4.3.7.2 Atividade antitripanossoma e antileishmania

Os ensaios antiparasitários foram realizados pela Plataforma de Bioensaios para Triagem de Compostos contra *T. cruzi* e *Leishmania* spp. (RPT11F) da Rede de Plataformas Tecnológicas (RPT) da FIOCRUZ no Laboratório de Genômica Funcional de Parasitos (GFP) no Instituto René Rachou, FIOCRUZ Minas.

4.3.7.2.1 Atividade antitripanossoma

Os ensaios foram realizados de acordo com o protocolo estabelecido por Romanha et al. (2010). Utilizaram-se células L929 (fibroblastos de camundongo) infectadas com *T. cruzi* da linhagem Tulahuen expressando β -galactosidase de *Escherichia coli* como gene repórter. O procedimento foi realizado em microplaca de 96 poços, em que 4.000 células L929 foram adicionadas a cada poço e incubadas durante a noite. Após a incubação, em cada poço foram adicionados 40.000 parasitos na forma de tripomastigotas e incubados por 2 horas. Em seguida, o meio contendo parasitos extracelulares foi descartado e foram adicionados 200 μ L de meio fresco, incubando-se por mais 48 horas para estabilizar a infecção. Para verificação da atividade, a diferença na inibição do crescimento de parasitos na presença do composto e em células não tratadas foi calculada. Para isso, foram usadas quatro diferentes concentrações (12,5; 25; 50 e 100 μ g mL⁻¹), a solução contendo os extratos e partições foi adicionada aos poços com parasitos e incubada por 96 horas. Após esse período, foram adicionados 50 μ L de β -D-galactopiranosídeo de clorofenol vermelho (500 μ M) e incubados por mais 16 a 20 h, e então a absorbância foi medida em 570 nm. O CE₅₀ foi calculado por interpolação linear. Os ensaios foram realizados em quadruplicata e repetidos ao menos uma vez. Foram realizados os controles de células não infectadas, células infectadas não tratadas e células infectadas tratadas com benznidazol (38 μ M), que é o controle positivo, ou tratadas com DMSO 1%.

4.3.7.2.2 Atividade anti-*Leishmania*

O procedimento adotado foi realizado conforme descrito por Cruz et al., (2024). Inicialmente, células derivadas da linhagem monocítica THP-1 foram cultivadas em meio RPMI-1640 (Rowell Park Memorial Institute), suplementado com 10% de soro fetal bovino, 100 U mL⁻¹ de penicilina e 100 μ g mL⁻¹ de estreptomicina. Os monócitos foram diferenciados em macrófagos com a adição de 50 ng mL⁻¹ de PMA (Forbol 12-miristato-13-acetato). Após

72 h de diferenciação, os macrófagos (5×10^4 células/poço) foram infectados com formas promastigotas de *Leishmania infantum* (MHOM/BR/1974/PP75) transfectadas com o gene tdTomato (Cruz et al., 2024). Após 4 h de infecção, os parasitos extracelulares foram removidos por três lavagens consecutivas com PBS. Em seguida, as células infectadas foram incubadas por 72 h em meio RPMI-1640 contendo os extratos ou partições nas concentrações de 25 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A atividade antiparasitária foi determinada pela redução da fluorescência emitida pelos parasitos após o período de incubação, utilizando comprimento de onda de excitação de 554 nm e emissão de 581 nm. Para as amostras que apresentaram atividade antiparasitária na triagem inicial, avaliamos a concentração efetiva capaz de inibir 50% do crescimento parasitário (CE_{50}). Os macrófagos infectados foram incubados por 72 h em RPMI-1640 contendo diferentes concentrações dos compostos (80, 40, 20, 10 e 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$). O CE_{50} foi determinado pela diminuição da fluorescência do parasito, na ausência e presença dos compostos, após 72 h de exposição, utilizando o leitor de microplacas Varioskan LUX (Thermo Scientific) com excitação/emissão de 554/581 nm. Os valores de CE_{50} foram calculados por regressão não linear usando um modelo de inclinação variável ($\log(\text{concentração})$ versus resposta) no software GraphPad Prism v8.2.0 (CA, EUA). Foram realizados os controles de células não infectadas, infectadas não tratadas e tratadas com anfotericina B e DMSO 1%. Os ensaios foram realizados em quadruplicatas e repetidos em dois experimentos independentes.

4.3.7.2.3 Ensaios de citotoxicidade em macrófagos derivados de células THP-1

As células monocíticas THP-1 foram diferenciadas em macrófagos em microplacas de 96 poços por 72 h, conforme descrito acima. Em seguida, o meio foi substituído e as células foram expostas aos compostos em concentrações crescentes, iniciando pelo valor de CE_{50} determinado contra *L. infantum*. Após 72 h de incubação com os compostos, Alamar Blue foi adicionado e a absorbância a 570 e 600 nm foi medida após 4 h. Controles com células não tratadas e tratadas com DMSO 1% foram incluídos paralelamente. Os resultados foram expressos como a diferença percentual na redução entre células tratadas e não tratadas. A concentração capaz de inibir 50% da viabilidade celular (CC_{50}) foi determinada. Os valores de CC_{50} foram calculados por regressão não linear usando modelo de inclinação variável ($\log(\text{concentração})$ versus resposta) no GraphPad Prism v8.2.0. Triplicatas foram processadas na mesma placa, e os experimentos foram repetidos em triplicata biológica. O índice de seletividade (IS) foi calculado como a razão entre o valor de CC_{50} obtido no ensaio de citotoxicidade e o valor de CE_{50} determinado no ensaio de atividade anti-*Leishmania*.

4.4 Resultados e discussões

4.4.1 *Rendimento dos extratos*

A Tabela 7 traz o rendimento dos extratos hexânicos e etanólicos dos três órgãos da planta. O rendimento foi calculado considerando a quantidade de material seco usado na extração.

Tabela 7 – Porcentagem de extração no preparo dos extratos hexânicos e etanólicos

Amostras	Órgãos de <i>Microlicia parviflora</i>		
	Galhos (142,40 g)	Flores (12,33 g)	Folhas (114,70 g)
Extrato hexânico	5,890 (4,14%)	0,5015 (4,07%)	17,7148 (15,44%)
Extrato etanólico	10,8982 (7,65%)	0,5837 (4,73%)	16,6312 (14,13%)

Fonte: O autor (2026)

Para as folhas e as flores, o rendimento foi similar para os extratos obtidos em hexano e etanol, mostrando que a planta é rica tanto em compostos com características pouco polares quanto em compostos com polaridade média ou polares. Já para os galhos, o rendimento do extrato etanólico foi praticamente o dobro, indicando que esse órgão da planta possui menos compostos de baixa polaridade.

4.4.2 *Rendimento das partições*

Os extratos etanólicos dos galhos e das folhas foram submetidos à partição por extração líquido-líquido. Essa etapa consiste em um fracionamento preliminar, no qual os metabólitos especializados são agrupados por afinidade ao solvente empregado na extração. Essa etapa também é importante para tentar atribuir quais classes podem estar relacionadas às atividades biológicas testadas e facilita futuros experimentos de isolamento. O extrato das flores não foi particionado devido ao baixo rendimento (Abubakar; Haque, 2020). A Tabela 8 mostra o rendimento dessa etapa em porcentagem, baseando-se na quantidade de extrato etanólico usado no experimento.

Tabela 8 – Rendimento das extrações líquido-líquido

Amostras	Órgãos de <i>M. parviflora</i>	
	Galhos ¹	Folhas ²
Partição diclorometano	1,1211 g (21,93%)	1,9052 g (14,65%)
Partição acetato de etila	0,1612 g (3,15%)	4,8837 g (37,57%)
Partição <i>n</i> -butanol	0,3636 g (7,12%)	3,0366 g (23,36%)
Partição hidrometanólica	1,5295 g (29,93%)	1,8423 g (14,17%)

Nota: ¹: Foram utilizados 5g do extrato etanólico; ²: Foram utilizados 13g do extrato etanólico.

Fonte: O autor (2026).

Nos galhos, os maiores rendimentos foram na fração em diclorometano e na hidrometanólica. Isso mostra que a amostra é composta tanto por compostos com características polares, que não foram extraídos pelos solventes extratores e permaneceram na fração hidrometanólica, quanto por uma parte da composição menos polar, que acabou sendo extraída pelo diclorometano.

Já para as folhas, o maior rendimento foi no acetato de etila, mostrando que as amostras possuem mais compostos de polaridade média, porém menos polares em relação aos galhos.

4.4.3 Análise por CLAE-EM

Os extratos e as partições mais ativos de cada parte da planta foram analisados por CLAE-EM, para obter um perfil químico dos compostos presentes nas amostras. Assim, foram analisados o extrato etanólico das flores, a partição em acetato de etila das folhas e a partição em *n*-butanol dos galhos. Para a anotação, foram considerados erros em ppm de ± 5 dos valores de MS¹ em alta resolução; além disso, os espectros de fragmentação foram comparados com espectros em bibliotecas como o MoNa (Mass Bank of North America) e artigos publicados na literatura, além da proposta de mecanismo de fragmentação para alguns dos compostos das principais classes. A Tabela 9 traz a anotação desses compostos. A Figura 22 traz os cromatogramas de pico base para as três amostras. As Figura 23 e Figura 24 trazem os compostos anotados.

Figura 22 – Cromatogramas de pico base para a partição acetato de etila das folhas (A), extrato etanólico das flores (B), e partição *n*-butanol (C) dos galhos.

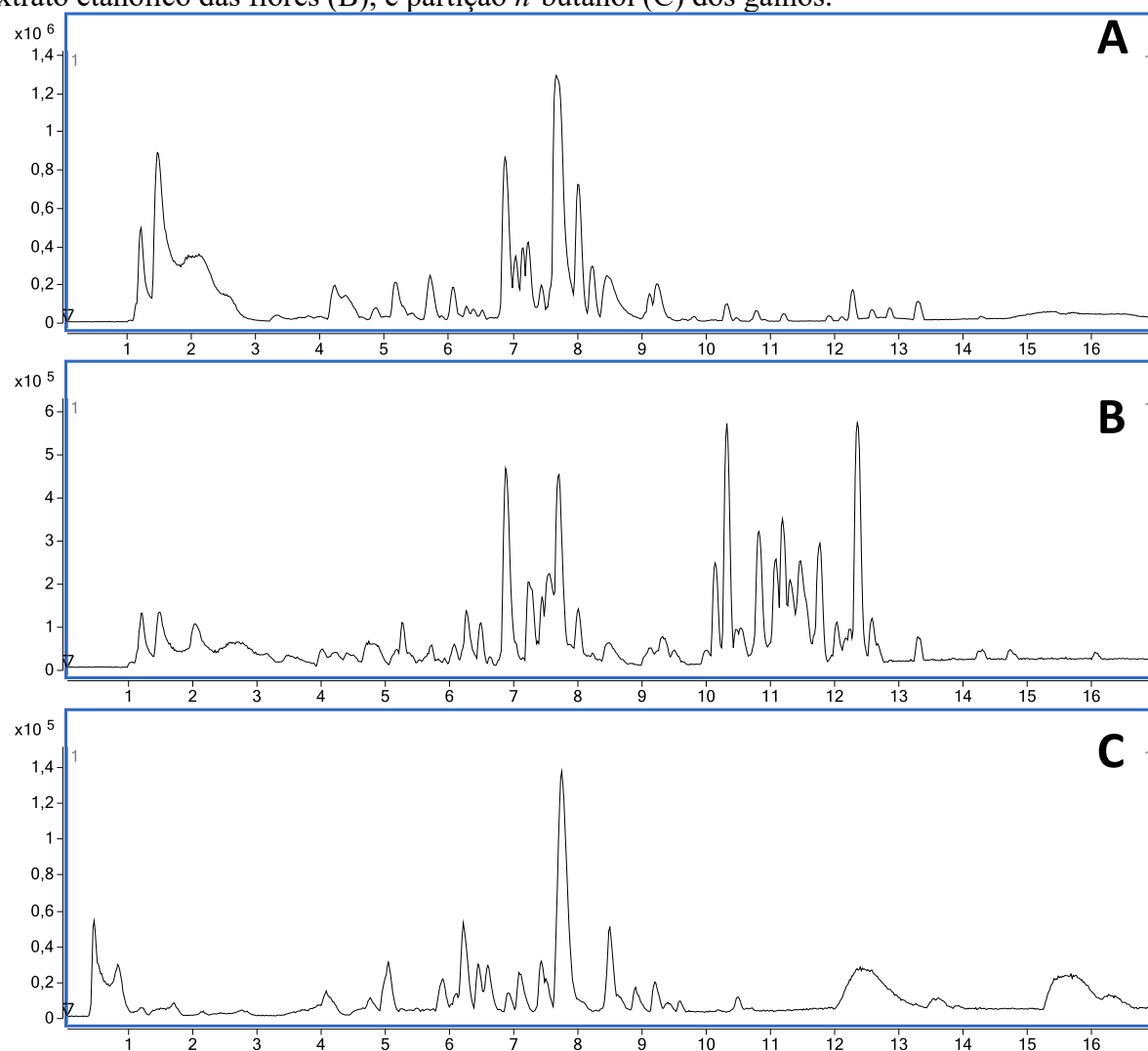


Tabela 9 – Anotação dos compostos dos extratos e partições de *Microlicia parviflora*

t_R (min)	$[M - H]^-$	Massa exata	Erro (ppm)	Fragmentos (m/z) EM/EM	Fórmula molecular	Anotação dos compostos	Amostra	Referências
1,22	315,0726	315,0722	1,27	20 eV: 271, 169, 153, 152, 109, 108	$C_{13}H_{16}O_9$	Galoil ramnosídeo (1)	C	(Xiong <i>et al.</i> , 2021)
1,23	205,0355	205,0354	0,49	10 eV: 125, 99, 81	$C_7H_{10}O_7$	Ácido metilcitríco (2)	A, B	(Huang <i>et al.</i> , 2021) PubChem
1,50	203,0199	203,0197	0,99	10 eV: 185, 159, 141, 125, 97, 87, 79, 71, 69	$C_7H_8O_7$	Ácido dáucico (3)	A, B, C	(Li <i>et al.</i> , 2021), HMDB ^b
2,05	169,0143	169,0142	0,59	15 eV: 125, 79	$C_7H_6O_5$	Ácido gálico (4)	A, B, C	(Singh <i>et al.</i> , 2016; Xiong <i>et al.</i> , 2021)
3,22	331,0670	331,0671	-0,30	20 eV: 315, 271, 229, 211, 169, 125	$C_{13}H_{16}O_{10}$	Glucogalina (5)	A	(Erşan <i>et al.</i> , 2016)
3,11	783,0693	783,0686	0,89	30 eV: 481, 301, 275	$C_{34}H_{24}O_{22}$	Penduculagina (6)	A, B	(Araujo <i>et al.</i> , 2020; Singh <i>et al.</i> , 2016)
4,20	341,0878	341,0878	0,0	15 eV: 179, 161	$C_{15}H_{18}O_9$	Ácido cafeico hexosídeo (7)	A	(Abu-Reidah, M <i>et al.</i> , 2015)
4,40	359,0987	359,0984	0,84	15 eV: 299, 239, 211, 197, 119, 113, 59	$C_{15}H_{20}O_{10}$	Ácido siríngico hexosídeo (8)	A, B	(Taamalli <i>et al.</i> , 2015)
4,48	633,0726	633,0733	-1,11	30 eV: 463, 301, 275, 249, 169	$C_{27}H_{22}O_{18}$	HHDP galoil hexosídeo (9)	A, B	(Singh <i>et al.</i> , 2016)
	231,0510					Não anotado	A, B	
4,70	183,0298	183,0299	-0,55	15 eV: 168, 125, 124, 78	$C_8H_8O_5$	Galato de metila (10)	B, C	(Singh <i>et al.</i> , 2016)
4,88	423,0933	423,0933	0,0	30 eV: 313, 169, 151, 125, 109	$C_{19}H_{20}O_{11}$	glicosil pentaidroxibenzofe nona (11)	A	(Araujo <i>et al.</i> , 2020; Erşan <i>et al.</i> , 2016)
4,93	483,0783	483,0780	0,62	30 eV: 331, 313, 271, 211, 169, 125, 124	$C_{20}H_{20}O_{14}$	Digaloil glicose (12)	A	(Singh <i>et al.</i> , 2016)

Continuação da Tabela 8 – Anotação dos compostos dos extratos e partições de *Microlicia parviflora*

t _R (min)	[M – H] [–]	Massa exata	Erro (ppm)	Fragmentos (m/z) EM/EM	Fórmula molecular	Anotação dos compostos	Amostra	Referências
5,13	453,1039	453,1038	0,22	30 eV: 313, 169, 151, 125	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₂	Metoxi- hidroxifenol-galoil- hexose (13)	A, B, C	(Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015; Singh <i>et al.</i> , 2016)
5,16	467,0364*	467,0362	0,43	20 eV: 391, 301, 275, 249, 169, 125	C ₄₁ H ₂₈ O ₂₆	casuarinina ou casuarictina (14)	A, B	(Akande <i>et al.</i> , 2022; Chang <i>et al.</i> , 2019; Quatrin, 2019)
	935,0767	935,0796	– 3,10	--	C ₄₁ H ₂₈ O ₂₆	casuarinina ou casuarictina (14)	A	(Akande <i>et al.</i> , 2022; Chang <i>et al.</i> , 2019; Quatrin, 2019)
5,30	447,1507	447,1508	– 0,22	15 eV: 401, 269, 161, 131, 101	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₂	benzil- <i>O</i> - arabinofuranosil- glicosídeo (15)	A, B, C	HMDB ^c
5,40	385,1139	385,1140	–0,26	20 eV: 223, 205, 190, 161	C ₁₇ H ₂₂ O ₁₀	ácido sinapínico glicosídeo (16)	A	(Spínola; Pinto; Castilho, 2015) HMDB ^d
5,48	635,0885	635,0890	– 0,79	30 eV: 465, 313, 169	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	Trigaloil hexosídeo (17)	A, B	(Singh <i>et al.</i> , 2016; Xiong <i>et al.</i> , 2021)
5,68	431,1922	431,1923	– 0,23	20 eV: 385, 223, 205, 179, 153	C ₁₉ H ₃₀ O ₈ + HCOOH	Vomifoliol hexosídeo formiato (18)	A, B	(Rosso <i>et al.</i> , 2022; Spínola; Pinto; Castilho, 2015)
5,73	387,1670	387,1661	2,32	25 eV: 207, 163, 101, 59	C ₁₈ H ₂₈ O ₉	Ácido tuberonico hexosídeo (19)	A, B	(Danise <i>et al.</i> , 2021)
6,06	461,1668	461,1664	0,87	15 eV: 415, 311, 301, 239, 221, 191, 179, 161, 149, 131, 101, 89	C ₁₉ H ₂₈ O ₁₀ + HCOOH	primeverosídeo de feniletila formiato (20)	A, B, C	(Danise <i>et al.</i> , 2021)
6,08	197,0455	197,0457	– 1,01	20 eV: 167, 125, 124, 78	C ₉ H ₁₀ O ₅	Galato de etila (21)	A, B	(Singh <i>et al.</i> , 2016)

Continuação da Tabela 8 – Anotação dos compostos dos extratos e partições de *Microlicia parviflora*

t_R (min)	[M – H][–]	Massa exata	Erro (ppm)	Fragmentos (m/z) EM/EM	Fórmula molecular	Anotação dos compostos	Amostra	Referências
5,90	509,2237	509,2240	– 0,59	25 eV: 463, 331, 161, 131, 112, 101, 71	C ₂₁ H ₃₆ O ₁₁ + HCOOH	Óxido de linalool apiosil hexosídeo formiato (22)	C	(Li <i>et al.</i> , 2021)
	463,2544	--	--	20 eV: 417, 392, 316, 301, 169, 161		Derivado de ácido elágico (23)	C	
6,26	934,0716*	934,0718	–0,21	30 eV: 1567, 1235, 858, 633, 301, 169	C ₈₂ H ₅₄ O ₅₂	Digalloil- tetraHHDP- diglicose ou agrimoniin (24)	A, B	(Aaby <i>et al.</i> , 2012), PubChem ^e
6,93	615,0990	615,0992	– 0,32	30 eV: 463, 301, 300, 271, 255	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	Quercetina- <i>O</i> - galoil-hexosídeo (25)	A, B, C	(Corrêa <i>et al.</i> , 2021; Quintans-Júnior <i>et al.</i> , 2020; Saldanha; Vilegas; Dokkedal, 2013)
7,04	463,0882	463,0882	0,0	30 eV: 317, 316, 287, 271, 179, 151	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	Miricetina ramnosídeo (26)	A, B	(Araujo <i>et al.</i> , 2020; Syabana <i>et al.</i> , 2022)
7,23	609,1456	609,1461	– 0,82	30 eV: 447, 301, 300, 271, 255, 151	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	Rutina (27)	A, B	(Spínola; Pinto; Castilho, 2015)
7,44	599,1049	599,1042	1,17	30 eV: 447, 313, 285, 284, 169	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₅	Luteolina galoil hexosídeo (28)	B	(Khallouki <i>et al.</i> , 2017)
7,53	300,9992	300,9990	0,66	30 eV: 283, 257, 245, 229, 201, 185, 173, 145, 129, 117, 101	C ₁₄ H ₆ O ₈	Ácido elágico (29)	A, B	(Singh <i>et al.</i> , 2016)
7,74	447,0933	447,0933	0,0	25 eV: 301, 300, 271, 255, 151	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	Quercitrina (30)	A, B, C	(Corrêa <i>et al.</i> , 2021; Saldanha; Vilegas; Dokkedal, 2013)
8,22	431,0982	431,0984	– 0,46	20 eV: 285, 284, 255, 227	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	Canferol ou luteolina ramnosídeo (31)	A, B	(Sakna <i>et al.</i> , 2019; Sobeh <i>et al.</i> , 2018)

Continuação da Tabela 8 – Anotação dos compostos dos extratos e partições de *Microlicia parviflora*

t_R (min)	[M – H][–]	Massa exata	Erro (ppm)	Fragmentos (m/z) EM/EM	Fórmula molecular	Anotação dos compostos	Amostra	Referências
8,54	301,0350	301,0354	– 1,32	25 eV: 273, 245, 179, 151, 121, 107	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	Quercetina (32)	A, B	(Fabre <i>et al.</i> , 2002; Quintans-Júnior <i>et al.</i> , 2020)
9,36	299,0556	299,0561	– 1,67	30 eV: 284, 256	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	Diosmetina ou crisoeriol (33)	B	(Abu-Reidah, M <i>et al.</i> , 2015; Ammar <i>et al.</i> , 2017)
9,21	461,1085	461,1089	– 0,87	30 eV: 299, 284	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	Diosmetina ou crisoeriol hexosídeo (34)	A	(Chen <i>et al.</i> , 2012)
9,50	343,0459	343,0549	0	25 eV: 328, 313, 298, 285	C ₁₇ H ₁₂ O ₈	ácido elágico tri- metil éter (35)	B	(Corrêa <i>et al.</i> , 2021)

Nota: * [M – 2H][–], A = partição acetato de etila folhas, B = extrato etanólico das flores, C = partição *n*-butanol dos galhos

Figura 23 – Estrutura dos compostos anotados por CLAE-IES-EM/EM nos extratos e partições da *Microlicia parviflora*.

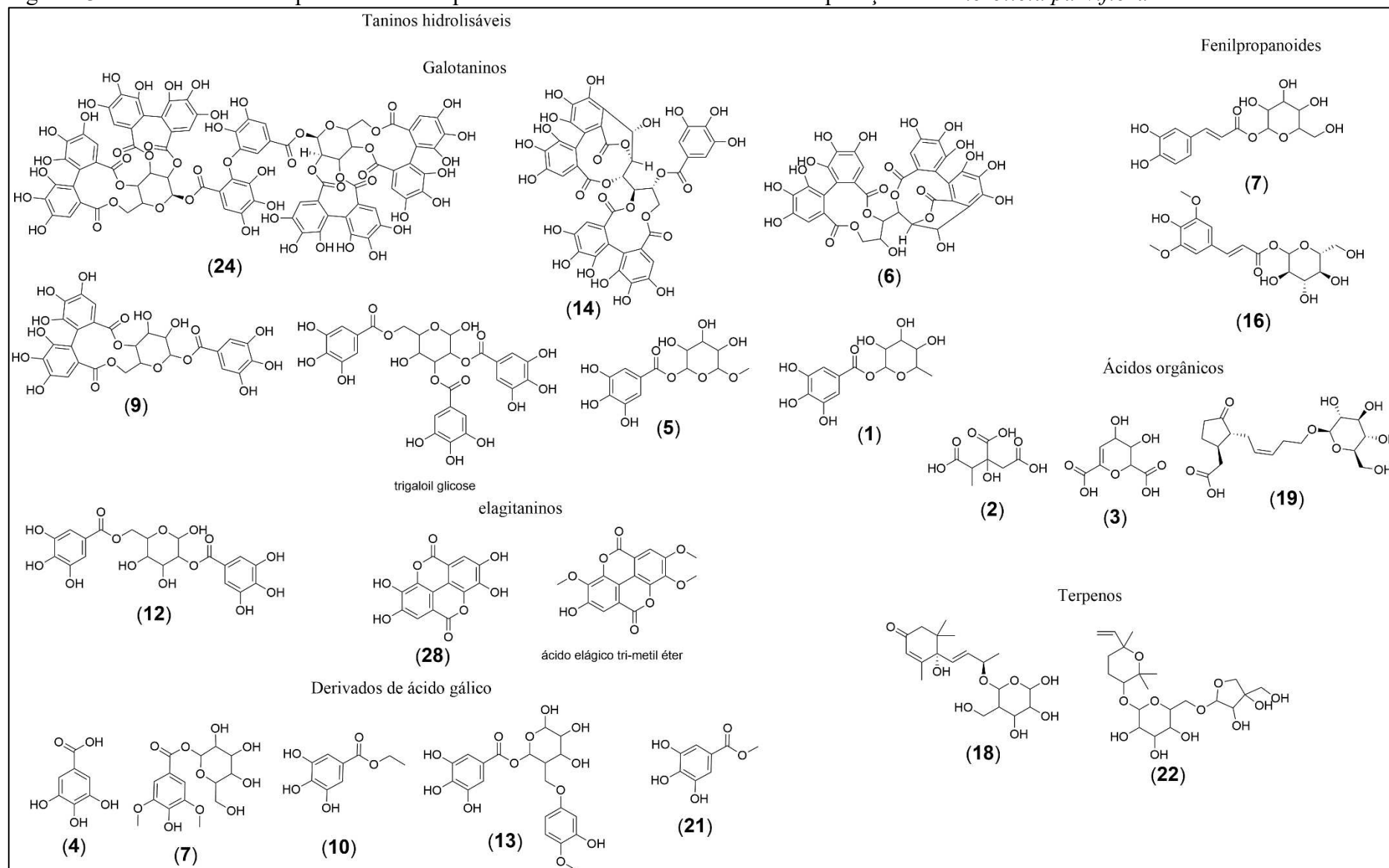
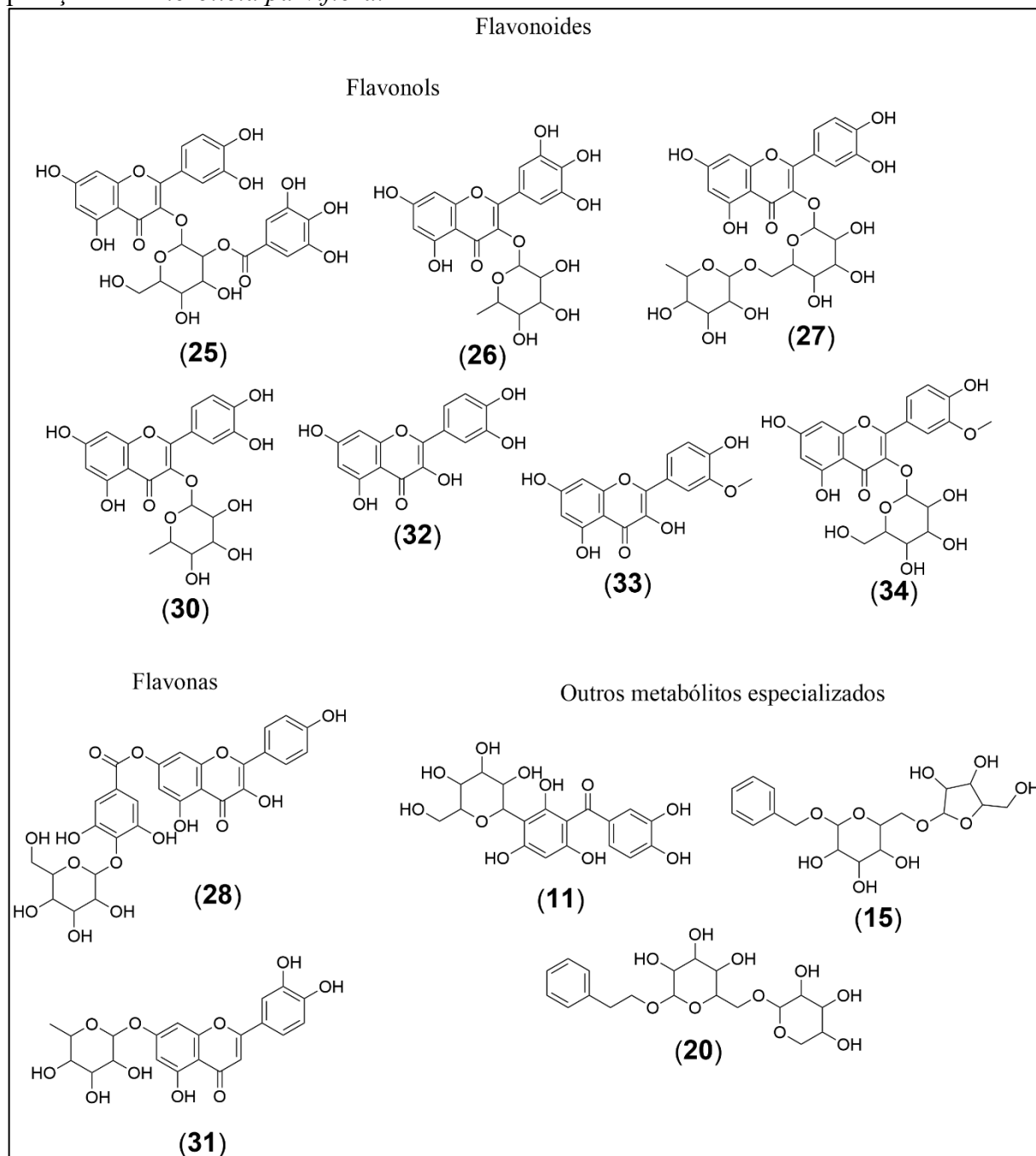


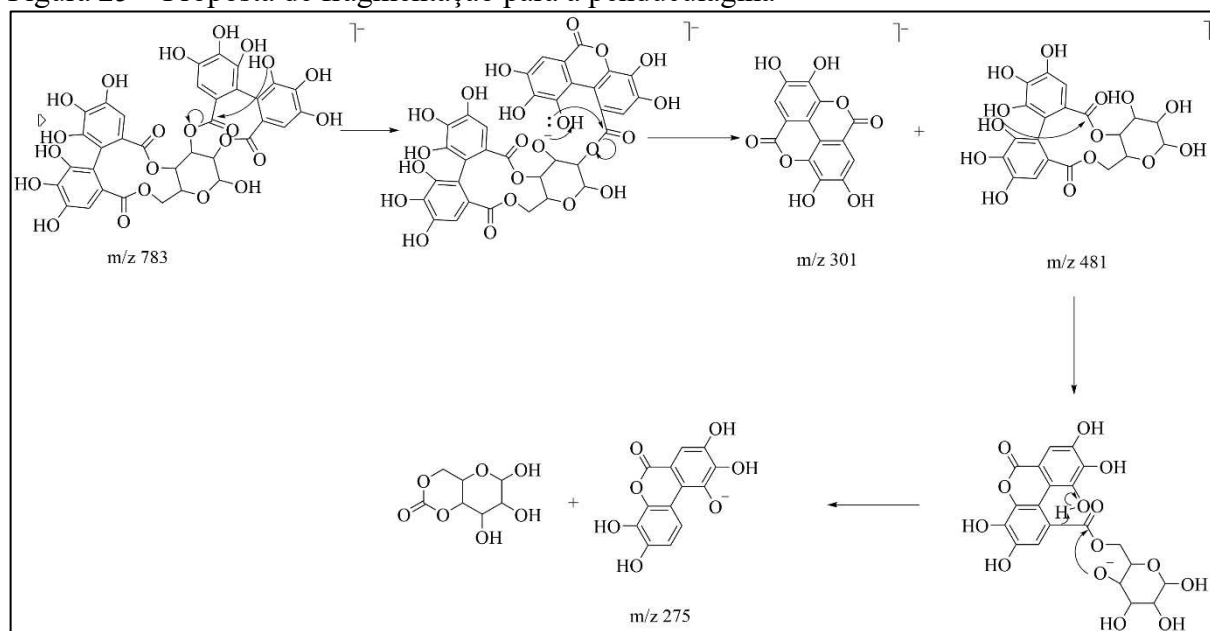
Figura 24 – Estrutura dos compostos anotados por CLAE-IES-EM/EM nos extratos e partições da *Microlicia parviflora*.



Fonte: O autor (2026)

Para justificar a anotação dos compostos, além do erro em ppm para os valores de m/z em alta resolução e da comparação dos espectros, também foram realizadas propostas de fragmentação para as principais classes de compostos anotados. A Figura 25 traz uma proposta de fragmentação para o tanino hidrolisável penduculagina (m/z 783,0693, $\Delta = 0,89$)

Figura 25 – Proposta de fragmentação para a penduculagina

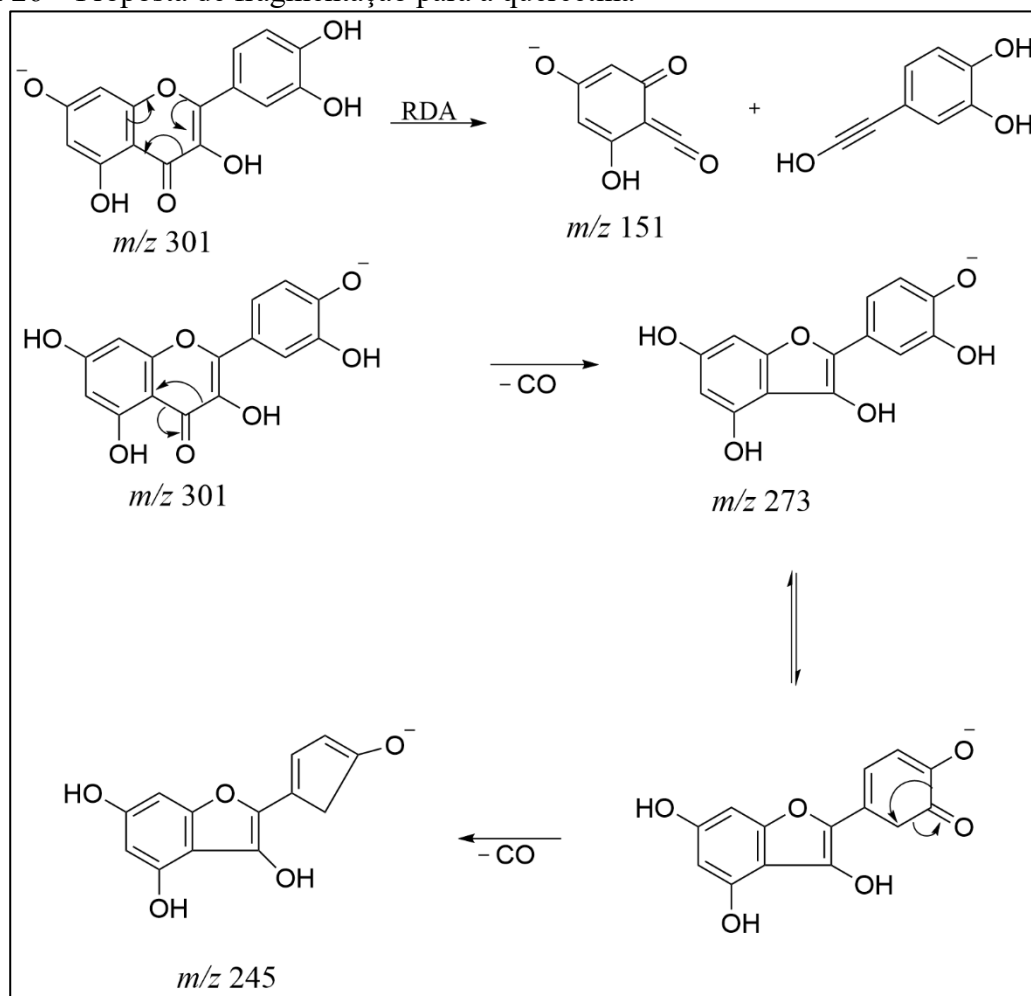


Fonte: o autor (2026)

O íon fragmento m/z 301 é característico de taninos hidrolisáveis e corresponde à uma unidade de ácido elágico, representado na Figura 25. No mecanismo proposto, ele é formado através de duas transesterificações, formando duas lactonas características da molécula de ácido elágico, que, com a carga negativa, geram o íon fragmento m/z 301. O íon fragmento m/z 275 também é formado a partir de duas transesterificações, porém a segunda transesterificação é originada a partir do oxigênio da glicose ligada ao grupo HHDP (hexahidroxidifenil).

A Figura 26 traz uma proposta de mecanismo para a quercetina (m/z 301,0350, $\Delta = -1,32$), um dos flavonóis anotados nas amostras. Alguns mecanismos são característicos de flavonoides, como o mecanismo de Retro Diels-Alder (RDA), que forma o íon fragmento m/z 151. Uma descarboxilação resulta na perda de uma molécula de monóxido de carbono (CO) formando o íon fragmento m/z 273, e uma segunda perda de CO, após um equilíbrio de tautomerismo, explica o íon fragmento m/z 245 (Demarque *et al.*, 2016).

Figura 26 – Proposta de fragmentação para a quercetina



Fonte: Adaptado de Demarque et al., (2016).

As principais classes de compostos anotados foram: flavonoides, ácidos fenólicos, ácidos orgânicos, taninos hidrolisáveis, terpenos e fenilpropanoides. Os flavonoides eram esperados, uma vez que já haviam sido reportados no trabalho de Bomfim-Patricio et al., (2001), onde foram identificados oito flavonoides: quercetina, luteolina-7-*O*-glicosídeo, luteolina-7-*O*-xilósídeo, luteolina-7-*O*-diglicosídeo, quercetina-3-*O*-glicosídeo, quercetina-3-*O*-xilósídeo, quercetina-3-*O*-diglicosídeo e quercetina-3-*O*-ramnosil-glicosídeo. Assim, nesse primeiro trabalho, foram identificados flavonóis e flavonas, sendo praticamente todos glicosídeos, com exceção da quercetina.

No presente trabalho foram identificados 10 flavonoides, sendo que somente a quercetina e o luteolina-*O*-glicosídeo haviam sido reportados no trabalho anterior realizado por Bomfim-Patricio et al. (2001). Ainda foram identificados outros três glicosídeos de quercetina; a luteolina-*O*-ramnosídeo e a miricetina-*O*-ramnosídeo; um flavonol metilado, na sua forma aglicona e na forma glicosídica, que pode ser a diosmetina ou o crisoeiriol, não sendo possível

distinguir os isômeros por espectrometria de massas, pois ambos possuem o grupo metoxila no anel B da estrutura. Os compostos **28** e **31** podem ser respectivamente um galoil-hexosídeo e um rhamnosídeo do canferol ou da luteolina, uma vez que os fragmentos provenientes da parte aglicona dos glicosídeos são semelhantes. Portanto, não é possível diferenciá-los por espectrometria de massas.

Outra classe de metabólitos especializados anotada no trabalho foi a dos taninos hidrolisáveis. Essa classe ainda não tinha sido reportada para a espécie, porém já foi encontrada na família Melastomataceae, como nas espécies *Dissotis thollonii* (Nono *et al.*, 2014), *Monochaetum multiflorum* (Isaza; Ito; Yoshida, 2004) e *Meriania hernandoi* (Valverde Malaver *et al.*, 2019), entre outras. Taninos são compostos polifenólicos de alta massa molecular, em torno de 500 a 3000 Da, e podem ser classificados em dois grandes grupos: os taninos condensados e os taninos hidrolisáveis. Os taninos hidrolisáveis são taninos que sofrem hidrólise por ácidos fracos e são divididos em dois grupos: os galotaninos e os elagitaninos. Os galotaninos, ao serem hidrolisados, resultam em ácido gálico e açúcares; já os elagitaninos liberam também o ácido elágico (Smeriglio *et al.*, 2017).

No presente trabalho foram anotados oito galotaninos, sendo que em alguns casos, como o m/z 783,0693 ($\Delta = 0,89$ ppm), não foi possível só por espectrometria de massas precisar qual dos possíveis isômeros está presente na planta. Além disso, foram anotados o ácido gálico e alguns derivados, como metilgalato e galoilramnose, e foram anotados o ácido elágico e dois derivados: o ácido elágico trimetil éter (m/z 343,0459 $\Delta = 0$ ppm) e o m/z 463,2544, que, pela presença dos fragmentos 300,9986, indica se tratar de um derivado do ácido elágico (m/z 300,9992 $\Delta = 0,66$ ppm).

Além dessas classes de compostos, foram anotados dois fenilpropanoides, o ácido cafeico e o ácido sinapínico, ambos glicosídeos; dois ácidos orgânicos, o ácido metilcitrílico e o ácido dáucico; e dois terpenos, o óxido de linalol apiosil hexosídeo e o vomifoliol hexosídeo. Todos esses compostos e suas respectivas classes ainda não tinham sido reportados para a espécie em estudo.

4.4.4 Isolamento e elucidação do composto I

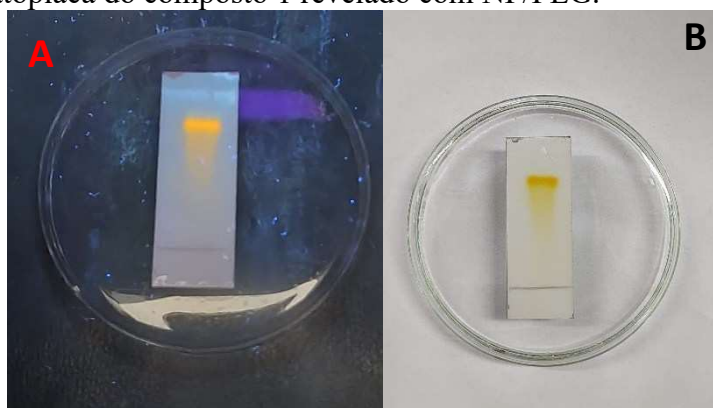
A partição em acetato de etila das folhas foi escolhida para o processo de isolamento de compostos. Escolheu-se essa amostra com base nos ensaios antifúngicos, nos quais diversas amostras apresentaram resultados promissores, como será mostrado na próxima seção, e pelo fato de ser a partição com maior massa para ser trabalhada, tanto das folhas quanto dos galhos

(Tabela 8, página 82). A fase estacionária escolhida foi a Sephadex LH20, devido à presença de compostos de tamanhos diferentes, como flavonoides agliconas e glicosídeos com uma ou mais unidades de açúcar, além da presença dos taninos hidrolisáveis que possuem tamanhos variados.

A coluna em Sephadex LH20 da partição em acetato de etila das folhas, após a junção com o auxílio da CCD e o uso dos reagentes NP/PEG e anisaldeído, gerou 29 frações (A1–1 a A1–29). A fração A1–22 apresentou um precipitado amarelo que foi lavado com metanol e analisado a fim de elucidar a estrutura.

Na cromatoplaca, o composto apresentou apenas uma mancha, que, ao ser revelada com NP/PEG, apresentou uma coloração amarela no visível que se intensifica ao ser observada na câmara UV em 254 nm. A Figura 27 mostra a cromatoplaca para o composto **I** no visível e em 254 nm

Figura 27 – Cromatoplaca do composto 1 revelado com NP/PEG.

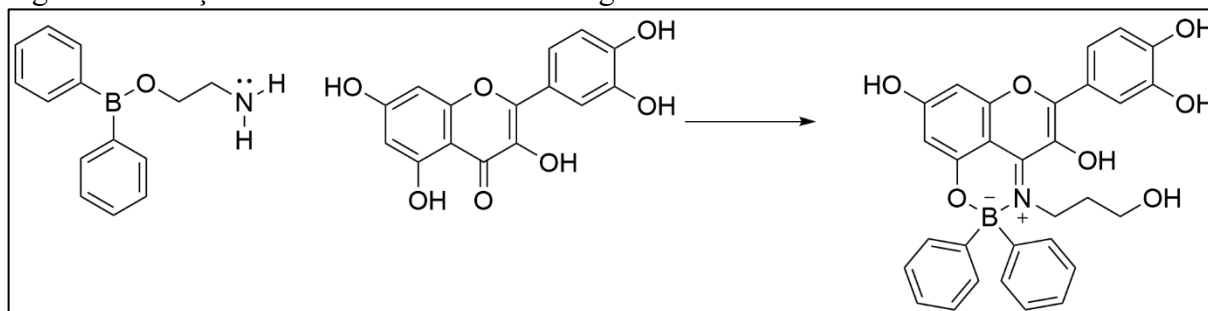


Nota: Figura A na câmara de UV em 254 nm, Figura B no visível.

Fonte: O autor (2026).

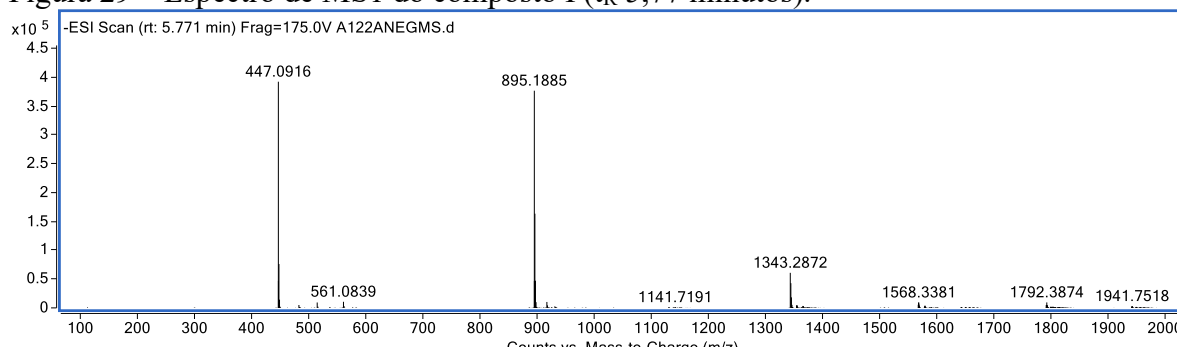
O reagente NP/PEG, de acordo com o livro publicado por Wagner; Bladt, (1996), é um revelador para a classe dos flavonoides, o nitrogênio presente no composto difenilboriloxietilamina substitui o oxigênio da carbonila do flavonoide, formando uma imina que se complexa ao átomo de boro presente na estrutura, e o átomo de boro se complexa ao oxigênio da hidroxila vizinha à carbonila. A Figura 28 mostra o mecanismo da reação. Vale ressaltar que o próprio livro indica reações positivas para outras classes de compostos, podendo em algumas situações ser um falso positivo para flavonoides.

Figura 28: Reação entre um flavonoide e o reagente NP/PEG



Fonte: O autor (2026).

O composto **I** foi submetido a uma análise por espectrometria de massas por eletrospray no modo negativo e apresentou os seguintes valores de m/z : 447,0916 e 895,1880, o que indica a presença de uma molécula desprotonada $[M - H]^-$ e de um aduto $[2M - H]^-$. O m/z 447,0916, considerando um erro em ppm de ± 5 , sugere a fórmula molecular $C_{21}H_{20}O_{11}$, calculada no software MassHunter Qualitative Analysis. A Figura 29 mostra o espectro de MS^1 do composto **I**.

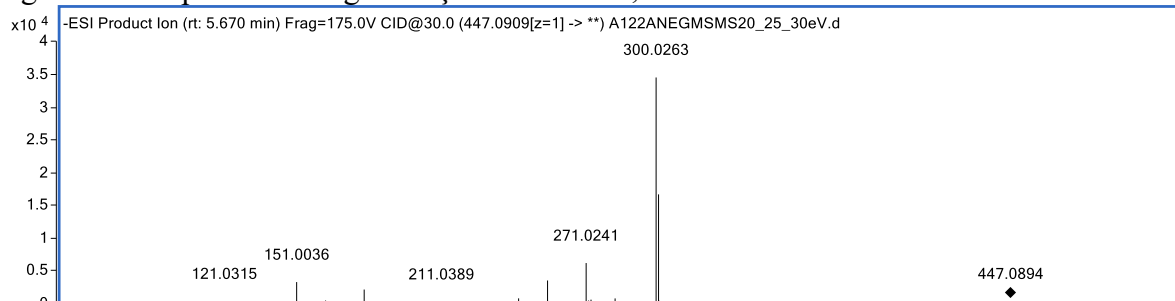
Figura 29 – Espectro de MS^1 do composto **I** (t_R 5,77 minutos).

Fonte: O autor (2026).

O espectro de fragmentação em 30 eV (Figura 30) mostrou como pico base o íon fragmento m/z 300. Além do pico base, há também o íon fragmento m/z 301, com aproximadamente 50% da intensidade do pico base, e outros íons fragmento menos intensos, como os m/z 271, 255, 179 e 151, entre outros. Os fragmentos 300 e 301 advêm da perda de um mesmo grupo da estrutura, porém por mecanismos de cisão homolítica e heterolítica. Sendo uma perda de 146 u, o que pode indicar a presença de um açúcar (164 u – 18 u da perda de água ao se ligar ao flavonoide). Como, segundo a literatura, a desoxi-hexose mais esperada é a rhamnose, essa perda pode ser referente a essa estrutura (Lehninger; Nelson; Cox, 2005). Assim, o composto pode ser um glicosídeo. O íon fragmento m/z 151 é característico de

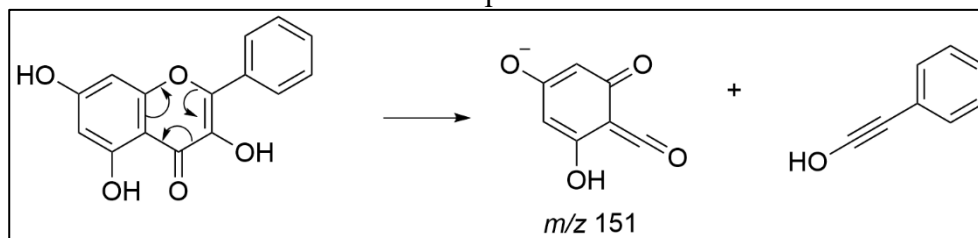
flavonoides dissubstituídos no anel A, sendo gerado a partir de uma abertura do anel C, advinda de um mecanismo de Retro Diels-Alder (Figura 31) (Demarque *et al.*, 2016).

Figura 30 – Espectro de fragmentação do m/z 447,0894



Fonte: O autor (2026).

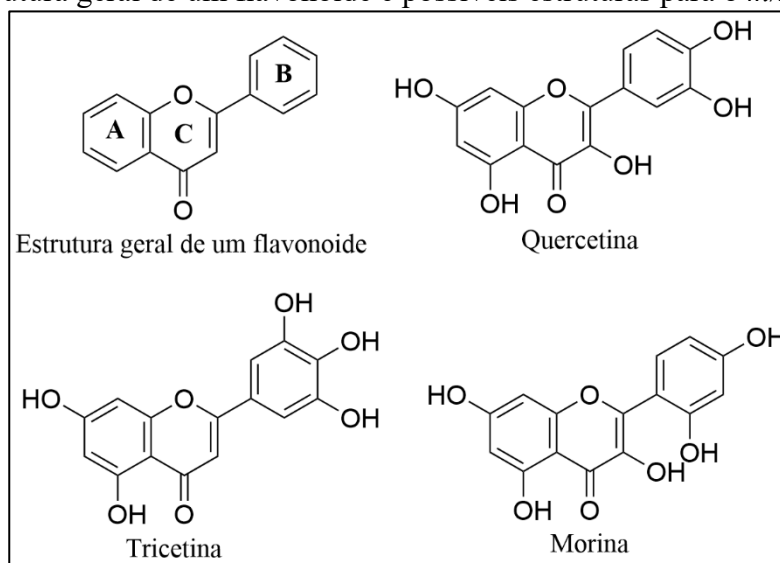
Figura 31 – Mecanismo de Retro Diels-Alder para um flavonoide



Fonte: O autor (2026).

Considerando a possibilidade de ser um flavonoide, os íons fragmentos 301 e 300 seriam a parte aglicona do glicosídeo. Esse m/z pode ser o flavonol quercetina, ou isômeros de posição com hidroxilas em posições diferentes no anel B, como a morina, ou alguma flavona como a tricetina. A fórmula molecular sugerida $C_{21}H_{20}O_{11}$ pode ser atribuída a um flavonoide com massa neutra de 302 Da, mais um açúcar rhamnose. Na Figura 32 tem-se uma representação da estrutura geral de um flavonoide, além dos flavonoides mencionados.

Figura 32 – Estrutura geral de um flavonoide e possíveis estruturas para o m/z 301 $[M - H]^-$

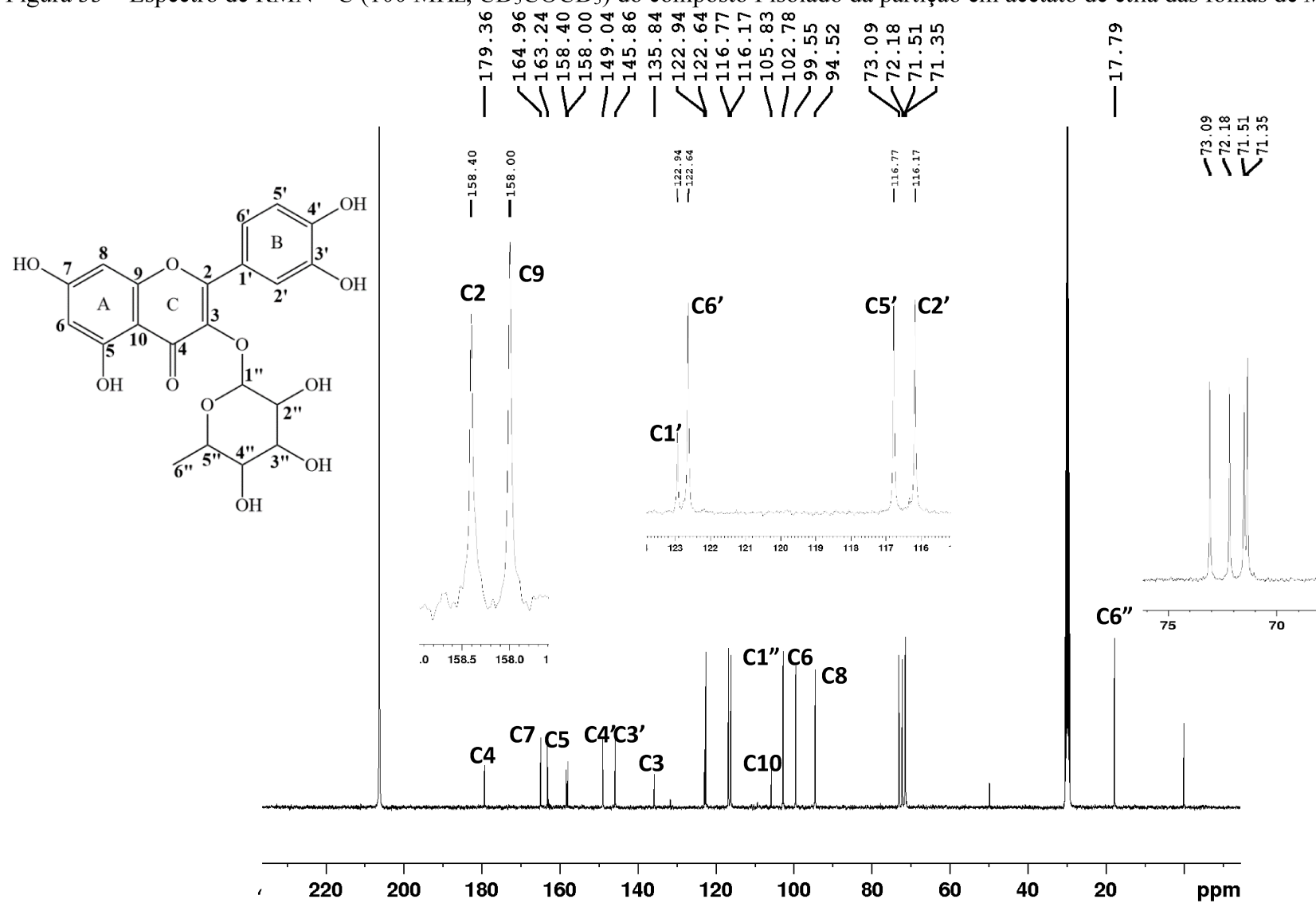


Fonte: O autor (2026).

Para a confirmação da estrutura, tanto para determinar se realmente se trata de um flavonoide e qual isômero com massa molecular de 302 Da, quanto para definir a posição do açúcar, o composto **I** foi submetido a uma análise de ressonância magnética nuclear. Tanto os espectros 1D de ^1H e ^{13}C quanto os espectros em 2D HSQC, HMDB e COSY foram obtidos para a confirmação das posições das hidroxilas e do açúcar.

O espectro de ^{13}C apresentou 21 sinais (Figura 33), o que corrobora a possibilidade de a estrutura ser um flavonoide com uma unidade de rhamnose, sendo 15 da estrutura do flavonoide mais seis do açúcar. Alguns sinais característicos auxiliam na confirmação da estrutura. O sinal em δ 179,36 corresponde à carbonila presente no anel C. Entre δ 157,99 e δ 164,96 têm-se quatro sinais que são característicos de carbonos fenólicos. O sinal em δ 17,79 indica a presença de uma metila, que pode ser da rhamnose; quatro sinais entre δ 71,35 e δ 73,09 são característicos de açúcares ou de carbonos sp^3 ligados a apenas um átomo de oxigênio, como uma função álcool, e têm-se alguns sinais entre δ 94,52 e δ 122,94, que são uma região característica de carbonos em anéis aromáticos.

Figura 33 – Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3COCD_3) do composto I isolado da partição em acetato de etila das folhas de *M. parviflora*.



O espectro de ^1H também possui alguns sinais que fornecem dados para confirmar a estrutura (Figura 34). O simpleto largo em δ 5,52 corresponde ao hidrogênio do carbono anomérico da rhamnose, e o duplete em δ 0,93 ($J = 5,84$ Hz) corresponde à metila com integração para 3 H. No espectro também é possível aferir os sinais correspondentes aos hidrogênios dos anéis aromáticos da estrutura (A e B): os sinais em δ 6,26 (d, $J = 1,79$ Hz); δ 6,47 (d, $J = 1,79$ Hz); δ 7,0 (d, $J = 8,36$ Hz); δ 7,41 (dd, $J = 8,36$ Hz e $1,80$ Hz), δ 7,50 (d, $J = 1,80$ Hz). As multiplicidades observadas confirmam os padrões de substituição no anel: os dupletos em δ 6,26 e δ 6,47 com J de $1,79$ Hz indicam o acoplamento em *meta* no anel A do flavonoide, referentes aos hidrogênios 6 e 8, respectivamente. No anel B, o H-6' apresenta um duplo duplete, correspondendo a um acoplamento em *orto* ($J = 8,36$ Hz) com o H-5' (δ 7,02) e um acoplamento em *meta* ($J = 1,80$ Hz) com o H-2' (δ 7,50). A posição em que o açúcar está ligado ao flavonoide foi confirmada pelo mapa de contorno HMBC; o simpleto largo em δ 5,52, que é correspondente ao hidrogênio do carbono anomérico acopla com o carbono com deslocamento δ 135,84 (C3), conforme mostrado na Figura 35.

Figura 34 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto I isolado da partição acetato de etila das folhas de *M. parviflora*

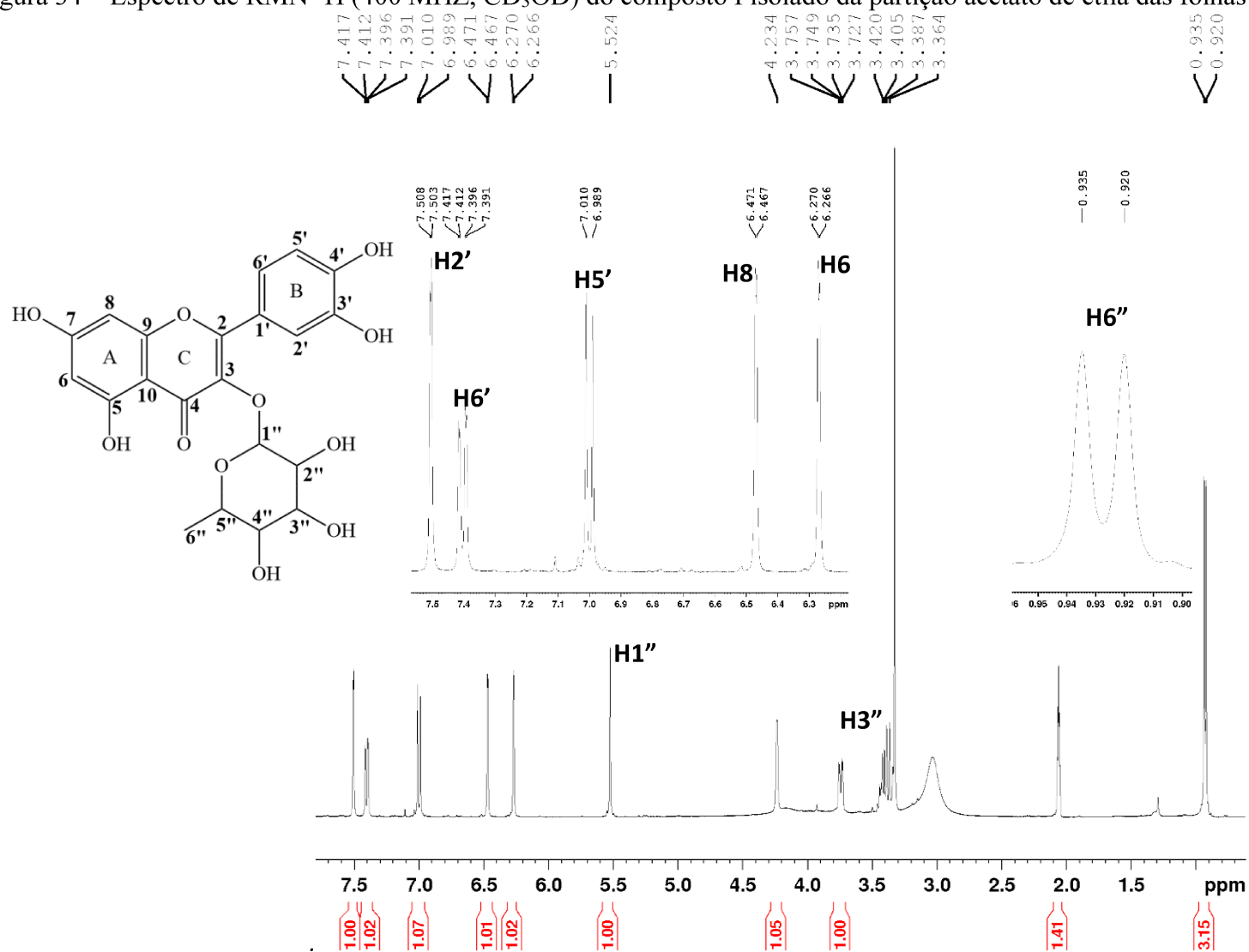
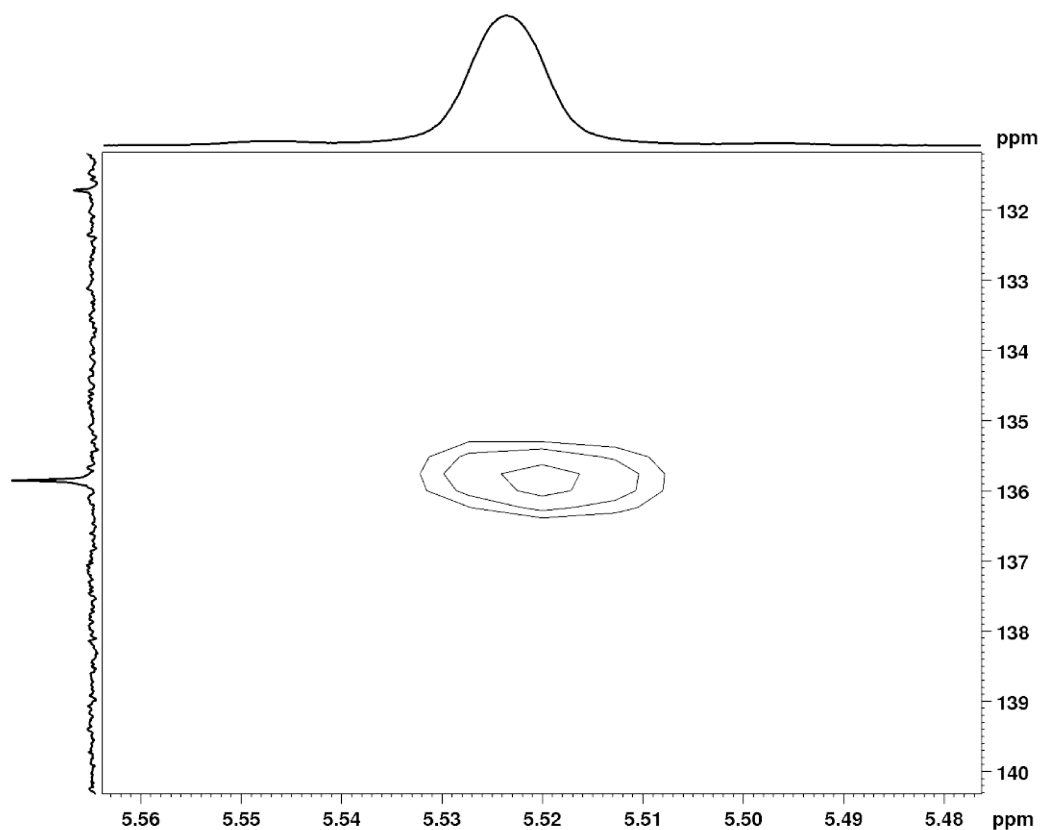


Figura 35 – Expansão do mapa de contorno HMBC, ampliado na região do H-1”.



Fonte: O autor (2026)

Com todas essas informações, conclui-se que o composto **I** é a quercitrina. Na Tabela 10 estão os dados dos espectros de RMN, assim como os acoplamentos nos espectros 2D e os dados reportados na literatura para os sinais de ^{13}C . Os espectros HMBC, HSQC e COSY sem expansão estão no Apêndice B.

Tabela 10 – Dados de RMN de ^1H , ^{13}C , HMBC e HSQC obtidos para a quercitrina e reportados na literatura

Posição	δ ppm ^{13}C $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$ 100 MHz ¹	δ ppm ^1H $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$ 400 MHz ¹	δ ppm ^{13}C CD_3OD 100 MHz ²	HMBC ¹	COSY ¹
OH-5	--	12,72 s	--	C-5, C-6, C-7,C-10	
2	158,4	--	158,7	H-2', H-6', H5'	
3	135,8	--	136,1	H-1''	
4	179,4	--	179,4	OH-5, H-6 e H-8	
5	163,2	--	163,1	OH-5, H-6	
6	99,5	6,26 d (1,79 Hz)	100,6	OH-5, H-8	H-6
7	164,9	--	168,3	OH-5, H-8, H-6	
8	94,7	6,48 d (1,79Hz)	95,3	H-6	H-8
9	157,9	--	159,1	H-8	
10	105,8	--	105,3	OH-5, H-8, H-6	
1'	122,9	--	123,0	H-5'	
2'	116,7	7,50 d (1,80 Hz)	116,2	H-6', H-5'	
3'	145,9	--	146,5	H-2'	
4'	149,4	--	149,9	H-2', H-6'	
5'	116,2	7,02 (8,36 Hz)	116,4		H-6'
6'	122,6	7,40 dd (8,36 e 1,80 Hz)	122,9	H-2'	H-5'
1''	102,7	5,52 sl	103,6	H-2''	H-2''
2''	71,5	4,23 sl	72,1	H-1''	H-1'', H-3''
3''	72,17	3,74 dd (3,15 e 2,21 Hz)	72,0	H-2''	H-2'', H-4''
4''	73,08	3,38	73,3	H-3''	H-5'', H-3''
5''	71,35	3,41	71,9	--	H-6'', H-4''
6''	17,8	0,93 dd (5,84 Hz)	17,7	--	H-5''

Nota: 1: Dados experimentais; 2: (Gopi *et al.*, 2016); sl: simpleto largo; d: dupleto; dd: duplo; du: dupletos.

Fonte: O autor (2026).

4.4.5 Ensaios biológicos

4.4.5.1 Atividade antifúngica

Os extratos e partições foram testados contra quatro espécies de *Candida*, sendo três espécies que comumente causam infecções em humanos e a *Candida auris*, que é uma espécie multirresistente, sendo considerada pela OMS uma das espécies emergentes de maior preocupação pela sua alta taxa de mortalidade e facilidade em causar surtos, principalmente em ambientes hospitalares. A Tabela 11 traz os valores de CIM.

Tabela 11 – Atividade anti-*Candida* dos extratos e partições de *Microlicia parviflora*

Amostras	Leveduras ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			
	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. auris</i>
EHFo	1500	3000	187,5	--
EHFl	750	750	375	--
EHG	1500	3000	375	--
EEFo	11,72	46,88	2,93	2,93
PDFo	93,75	187,5	23,44	46,88
PAEFo	11,72	23,44	1,46	2,93
PBFo	23,44	46,88	2,93	2,93
PHMFo	23,44	187,5	2,93	5,86
EEG	5,86	11,72	1,46	2,93
PDG	46,88	187,5	11,72	375
PAEG	2,93	11,72	2,93	750
PBG	2,93	11,72	2,93	11,72
PHMG	2,93	11,72	2,93	23,44
EEFl	5,86	11,72	1,46	2,93
Quercitrina	750	3000	375	750
Anfotericina B	0,25	0,12	0,25	--

Nota: --: Não testado. O controle da técnica foi realizado utilizando o controle positivo anfotericina B, contra as cepas de referência, *Candida krusei* (CIM = $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. parapsilosis* (CIM $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$); EHFo: extrato hexânico das folhas, EHFl: Extrato hexânicos das flores, EHG: Extrato hexânico dos galhos, EEFo: Extrato etanólico das folhas, PDFo: partição diclorometano das folhas, PAEFo: Partição acetato de etila de folhas, PBFo: Partição n-butanol folhas, PHMFo: Partição hidrometanólica das folhas, EEG: Extrato etanólico dos galhos, PDG: Partição diclorometano dos galhos, PAEG: Partição acetato de etila galhos, PBG: Partição n-butanol galhos, PHMG: Partição hidrometanólica dos galhos, EEFl: Extrato etanólico flores; -- não testado;

Fonte: O autor (2026).

Os melhores resultados de atividade anti-*Candida* foram observados nas amostras mais polares. Entre os extratos, os etanólicos apresentaram os melhores resultados em relação aos hexânicos. Para as partições, aquelas em acetato de etila, *n*-butanol e hidrometanólicas foram mais ativas que as partições em diclorometano.

De acordo com os valores de CIM a espécie mais suscetível às amostras foi a *C. glabrata*, mas as partições se mostraram ativas contra todas as espécies testadas, com valores

de CIM variando entre 1,46 e 11,72 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Esses resultados podem ser considerados bastante promissores pelo fato de que as concentrações inibitórias estão abaixo de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Além disso, os valores encontrados encontram-se próximos ou abaixo do que é considerado promissor para compostos isolados, que é um valor de CIM de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Kuate, 2010; Ríos; Recio, 2005)

Em relação aos compostos anotados, alguns flavonoides são reportados com atividades antifúngicas, um trabalho desenvolvido por Gao; Wang; Zhu, (2016), testou o flavonoide quercetina contra cepas resistentes de *C. albicans* resistentes ao fluconazol, o flavonoide sozinho apresentou valores de CIM baixos ($< 200 \mu\text{g mL}^{-1}$), e fraca atividade na remoção de biofilmes, porém, ao ser administrado junto ao fluconazol, apresentou resultados promissores na remoção de biofilmes. Em outro trabalho desenvolvido por Souza-Moreira et al., (2019) a miricetina-3-*O*-galactosídeo e a miricetina 3-*O*-allopiranosídeo apresentaram valores de CIM promissores contra as espécies *C. albicans* e *C. tropicalis*.

Outra classe de compostos que apresenta alguns estudos reportados é a dos taninos hidrolisáveis. O tanino hidrolisável casuarinina apresentou valores de CIM promissores contra duas espécies de *Candida*, a *C. krusei* (26 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e a *C. tropicalis* (145 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Souza-Moreira et al., 2013).

A quercitrina isolada da partição em acetato de etila das folhas foi também testada contra as *Candidas*. A atividade não foi tão promissora quanto a obtida para extratos e partições, mas o composto se mostrou ativo contra a *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. auris*, em que o melhor resultado foi para a *C. glabrata*, com CIM de 350 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

O fato dos extratos e partições serem mais ativos que o composto isolado pode ser explicado pelo efeito sinérgico ou efeito aditivo e não interativo entre os compostos presentes no extrato ou na partição. Efeito sinérgico ocorre quando os compostos juntos possuem atividade maior do que individualmente, ou quando um composto potencializa a ação terapêutica do outro, facilitando a distribuição, absorção, metabolismo ou excreção. Já o efeito aditivo não interativo é simplesmente quando os efeitos individuais dos compostos se somam, sem haver nenhuma interação entre eles. Assim, o composto isolado possui atividade menor, porém contribui para a atividade do extrato como um todo. Esse sinergismo é interessante ao se pensar em fitoterápicos, onde extratos de materiais vegetais são utilizados como fármacos no lugar de compostos isolados ou sintéticos (Caesar; Cech, 2019; Vaou et al., 2022). Outro tipo de interação que também pode ocorrer efeito antagônico, onde se reduz o efeito dos compostos em relação às suas atividades individuais (Vaou et al., 2022).

Esses estudos mostram que essas classes de compostos presentes nos extratos e frações investigados são promissoras como antifúngicos e podem estar associadas aos valores de CIM apresentados neste trabalho com a *Microlicia parviflora*. Para trabalhos futuros, pode se trabalhar no isolamento de mais compostos para verificar se outros compostos também são ativos contra os fungos, ou se algum composto é mais ativo que a quercitrina.

4.4.5.2 Atividade antibacteriana

Os extratos e partições de *Microlicia parviflora* foram testados contra sete diferentes espécies presentes na cavidade oral, sendo quatro aeróbicas e três anaeróbicas. A Tabela 12 traz os valores de CIM.

Tabela 12 – Atividade antibacteriana dos extratos e partições de *Microlicia parviflora* contra espécies da cavidade oral

Amostras	Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g mL}^{-1}$)						
	Anaeróbicas				Aeróbicas		
	<i>P. gingivalis</i>	<i>F. nucleatum</i>	<i>A. naeslundii</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. mitis</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>S. sanguinis</i>
EHFo	12,5	25	25	50	400	100	25
EHFl	12,5	25	25	100	>400	400	100
EHG	12,5	25	50	100	>400	400	100
EEFo	100	200	400	200	>400	>400	100
PDFo	200	100	200	400	>400	>400	100
PAEFo	100	200	400	200	>400	>400	200
PBFo	200	400	400	400	>400	>400	200
PHMFo	400	400	>400	>400	>400	>400	200
EEG	200	200	400	200	>400	>400	200
PDG	25	>400	3,12	>400	>400	>400	>400
PAEG	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400
PBG	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400
PHMG	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400
EEFl	100	200	400	400	>400	>400	200
Quercitrina	>400	50	200	400	400	400	400
Clorexidina	3,68	1,84	1,84	0,92	1,84	0,23	0,46

Nota: --: Não testado, Clorexidina: Controle positivo; O controle da técnica para as bactérias foi realizado utilizando o controle positivo metronidazol, contra as cepas de referência, *Bacteroides fragilis* (CIM = 0,74 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *B. thetaiotaomicron* (CIM 2,95 $\mu\text{g mL}^{-1}$); EH: extrato hexânicos; EE: extrato etanólico; PD: Partição diclorometano; PAE: Partição acetato de etila; PB: Partição *n*-butanol; PHM: partição hidrometanólica; F: folhas; Fl: flores, G: galhos

Os extratos hexânicos das três partes da planta foram as amostras mais ativas, com os melhores resultados contra as bactérias anaeróbicas, com valores de CIM variando de 12,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para a bactéria *P. gingivalis* e de 25 a 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para as demais bactérias. Contra as bactérias aeróbicas, as amostras também mostraram atividade, principalmente contra a bactéria *S. sanguinis*, com valores de CIM variando entre 25 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Ao considerar os valores utilizados no Capítulo 3 para classificar uma atividade como fraca, moderada ou forte (forte < 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, moderada > 100 e < 625 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e fraca quando acima de > 625 $\mu\text{g mL}^{-1}$), os valores obtidos para os extratos hexânicos contra a maioria das bactérias podem ser considerados fortes (Kuate, 2010; Ríos; Recio, 2005; Sezener Kabay *et al.*, 2024).

A partição em diclorometano dos galhos também apresentou valores de CIM promissores para duas das bactérias testadas: a *A. naeslundii*, com CIM de 3,12 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e a *P. gingivalis*, com CIM de 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para as demais amostras, algumas apresentaram atividade moderada, como os extratos etanólicos, e outras foram inativas nas concentrações testadas (0,195 a 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Os óleos foram mais ativos que os extratos, mostrando atividade contra seis das bactérias testadas, com exceção de *F. nucleatum*. Já os extratos foram ativos contra menos espécies, e os valores de CIM, na maioria, foram superiores aos observados para os óleos.

Em relação a extratos de outras espécies do gênero, nenhuma possui relato de avaliação contra bactérias da cavidade oral. Porém, algumas espécies foram testadas contra outras bactérias. A *M. laniflora*, a *M. confertiflora* e a *M. cordata* foram ativas contra as espécies *Staphylococcus aureus* e *Micrococcus luteus* (Cota *et al.*, 2002). A *M. hatschbachii* foi testada contra diferentes bactérias, com resultados promissores em algumas delas, entre elas a *Streptococcus pneumoniae* (36,06 $\mu\text{g mL}^{-1}$). No presente trabalho também se avaliaram três espécies do gênero *Streptococcus*, com os extratos hexânicos, mostrando-se ativos contra a *S. mutans* e a *S. sanguinis*. Em relação à *S. mitis*, apenas o EHFO foi ativo na concentração mais alta testada, que foi 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Em relação à composição química, extratos hexânicos são ricos em compostos de baixa polaridade, como, por exemplo, terpenos e ácidos graxos, entre outros (Lingala; Ghany, 2016; Sun *et al.*, 2025). Esses compostos tendem a apresentar atividade antibacteriana, devido à estrutura desses microrganismos. As bactérias Gram-positivas possuem apenas uma espessa camada de peptidoglicano recobrendo a célula. Já as Gram-negativas possuem três camadas; uma membrana externa que é formada por duas camadas, uma interna formada por fosfolipídios e a externa por lipopolissacarídeos, logo após essa primeira camada tem-se uma de

peptidoglicano mais fina que em relação às Gram-positivas, e a terceira camada é a membrana interna também formada por fosfolipídios celulares, essas diferenças fazem com que normalmente as bactérias Gram-positivas sejam mais suscetíveis à compostos com caráter apolar (Silhavy; Kahne; Walker, 2015).

Esses compostos presentes no extrato, como os terpenos, possuem, normalmente, atividade antibacteriana por apresentarem, em sua estrutura, características que favorecem a interação com essas membranas. Os terpenos possuem boa parte da sua estrutura de caráter lipofílica, o que facilita a interação com a parte lipofílica dessas camadas, mas também possuem em suas estruturas funções como álcoois, aldeídos e presenças de duplas ligações que facilitam a interação com a parte hidrofílica desses lipídios e com outras estruturas mais polares presentes nas camadas, causando a perda da integridade destas camadas, levando à perda de funções ou até à morte da célula (Mahizan *et al.*, 2019).

Em relação à quercitrina, os resultados variaram em relação à partição em que ela foi isolada. Em relação a algumas espécies, a atividade melhorou, como a *F. nucleatum*, para a qual o CIM foi de 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para a partição e de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para a quercitrina. Já para outras bactérias, a atividade diminuiu, como a *P. gingivalis*, que apresentou CIM de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para a partição, porém a quercitrina já não se mostrou ativa nas concentrações testadas (0,195 a 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Porém no geral, o composto se mostrou promissor, sendo ativo contra algumas das bactérias testadas.

4.4.5.3 Atividades antiparasitárias dos extratos e partições de *Microlicia parviflora*

Os extratos e partições foram testados contra os parasitas *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania infantum*, causadores da doença de Chagas e leishmaniose visceral, respectivamente. Para os extratos e partições considerados ativos contra a *L. infantum*, também foi feita a citotoxicidade em macrófagos de células de linhagem THP-1. A Tabela 13 traz os resultados de atividade inibitória para ambos os parasitas e de CE_{50} , assim como as atividades citotóxicas em macrófagos. A atividade antiparasitária foi expressa em porcentagem considerando a maior concentração testada, enquanto o CE_{50} e CC_{50} foi calculado testando os extratos em diferentes concentrações

Tabela 13 – Atividade antiparasitária dos extratos e partições de *Microlicia parviflora*

Amostras	Parasitas				Citotoxicidade	
	Atividade (%) ¹	CE ₅₀ (µg mL ⁻¹)	Atividade (%) ²	CE ₅₀ (µg mL ⁻¹)	CC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	IS
EHFo	70,2	75,12	46,11	3,8 ± 0,6	735,4 ± 6,2	195
EHFl	30,6	--	73,01	0,9 ± 0,9	365,7 ± 5,8	314
EHG	100	63,02	54,09	3,5 ± 3,0	297,75 ± 3,2	85
EEFo	28,7	--	8,64	--	--	
PDFo	31,8	--	30,20	--	--	
PAEFo	32,8	--	28,45	--	--	
PBFo	33,3	--	6,0	--	--	
PHMFo	34,4	--	26,87	--	--	
EEG	29,3	--	38,59	--	--	
PDG	69,9	75,43	7,34	--	--	
PAEG	30,7	--	21,46	--	--	
PBG	33,9	--	44,57	7,1 ± 3,3	250,55 ± 3,3	35
PHMG	33,7	--	34,81	--	--	
EEFl	30,8	--	24,69	--	--	
AmB	--	--	--	0,23 ± 0,007	373 ± 3,95	1622
Benz	--	3,81	--	--	2,381	

Nota: -- não testado ou não calculado; 1: Concentração testada foi de 100 µg mL⁻¹, 2: Concentração testada foi de 50 µg mL⁻¹. EHFo: extrato hexânico das folhas, EHFl: Extrato hexânicos das flores, EHG: Extrato hexânico dos galhos, EEFo: Extrato etanólico das folhas, PDFo: partição diclorometano das folhas, PAEFo: Partição acetato de etila de folhas, PBFo: Partição *n*-butanol folhas, PHMFo: Partição hidrometanólica das folhas, EEG: Extrato etanólico dos galhos, PDG: Partição diclorometano dos galhos, PAEG: Partição acetato de etila galhos, PBG: Partição *n*-butanol galhos, PHMG: Partição hidrometanólica dos galhos, EEFl: Extrato etanólico flore, AmB: anfotericina B; Benz: Benznidazol

Fonte: O autor (2026).

Os melhores resultados foram obtidos com os extratos hexânicos, entre os quais os dos três órgãos foram ativos contra *L. infantum*, e os das folhas e dos galhos foram ativos contra o parasita *T. cruzi*. Além dos extratos, a partição em diclorometano dos galhos foi ativa contra *T. cruzi* e a *n*-butanol dos galhos contra a *L. infantum*.

Os índices de seletividade foram calculados em relação a *L. infantum* como a razão entre o CE₅₀ para o parasita e o CC₅₀ para macrófagos. Esse parâmetro é amplamente utilizado para

decidir sobre a continuidade de estudos biológicos para candidatos a fármacos, uma vez que um alto índice indica que a amostra é mais tóxica para o microrganismo testado do que para as células humanas usadas no ensaio de citotoxicidade. Assim, os resultados podem ser considerados promissores, sendo um indicativo na continuidade dos estudos na busca dos compostos bioativos responsáveis pela atividade observada (Koutsoni; Karampetsou; Dotsika, 2019).

No primeiro trabalho realizado por Antinarelli *et al.*, (2015), em que a espécie foi testada contra espécies de *Leishmania*, os extratos metanólicos foram ativos contra três espécies de *Leishmania*, incluindo a *L. chagasi*, que é sinônimo da *L. infantum*. Os valores de CE_{50} variaram de 19,7 a 64,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, sendo que para a *L. chagasi* o CE_{50} obtido foi 64,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os valores de CE_{50} no presente trabalho são menores do que os obtidos no trabalho anterior. A explicação da diferença pode estar relacionada ao tipo de solvente usado; no presente trabalho, os extratos ativos foram obtidos com hexano, que é um solvente apolar e tem por característica extrair mais compostos de baixa polaridade. Por outro lado, o metanol é um solvente polar, concentrando mais compostos polares, porém, por possuir um grupo metila na sua estrutura, pode também extrair compostos de polaridade média. Além do solvente, outros fatores como a região onde foi realizada a coleta, o ano e as condições climáticas do período podem também explicar a diferença.

Em relação à *T. cruzi*, o único trabalho de espécies de *Microlicia* contra esse patógeno avaliou o óleo essencial da espécie *M. graveolens*, com valores de CE_{50} próximos aos observados para a *M. parviflora*.

4.5 Conclusões

Os extratos hexânicos e etanólicos das flores, galhos e folhas da *Microlicia parviflora* mostraram possuir um potencial antimicrobiano promissor. Os extratos etanólicos dos três órgãos e as frações mais polares (acetato de etila e *n*-butanol) obtidas dos extratos etanólicos das folhas e galhos foram ativos contra as quatro espécies de *Candida* testadas, sendo a *C. glabrata* a mais suscetível aos extratos e às partições, apresentando valores de CIM de 1,46 a 2,93 $\mu\text{g mL}^{-1}$ nas amostras polares. As amostras também foram ativas contra a *C. auris*, uma espécie multirresistente, com algumas das amostras apresentando CIM de 2,93 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Já os extratos hexânicos foram pouco ativos frente aos fungos testados, porém apresentaram resultados promissores contra as bactérias da cavidade oral e os dois parasitas avaliados. Em relação aos parasitas, os extratos hexânicos dos três órgãos apresentaram valores

promissores de CE_{50} ($0,9 - 3,8 \mu\text{g mL}^{-1}$) contra a *Leishmania infantum*; a partição em *n*-butanol dos galhos também foi ativa, com um CE_{50} de $7,1 \mu\text{g mL}^{-1}$. Contra *Trypanosoma cruzi*, os valores de CE_{50} foram mais altos, variando de $63,02$ a $75,12 \mu\text{g mL}^{-1}$. Além disso, as amostras que foram ativas contra *L. infantum* apresentaram baixa citotoxicidade contra macrófagos de células do tipo THP-1, apresentando altos índices de seletividade.

Para as bactérias, dentre as sete espécies testadas, os extratos hexânicos apresentaram valores promissores contra seis, com valores de CIM entre 25 e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. O *Streptococcus mitis* foi o mais resistente, sendo inibido apenas pelo extrato hexânico das folhas, porém, na maior concentração testada ($400 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Através da espectrometria de massas foi possível anotar os compostos presentes nas amostras. Elas mostraram-se ricas em compostos fenólicos, principalmente taninos hidrolisáveis e flavonoides. Os taninos hidrolisáveis assim como alguns dos flavonoides anotados estão sendo relatados pela primeira vez para a espécie. Além disso, o fracionamento da partição em acetato de etila das folhas levou ao isolamento da quercitrina, um flavonol, que ainda não havia sido reportado para a espécie.

É a primeira vez que são conduzidos estudos com outros órgãos da planta, além dos extratos estarem sendo testados pela primeira vez contra fungos, bactérias e os parasitas *T. cruzi* e *L. infantum*. Como perspectiva futura para o grupo, pode-se realizar trabalhos de identificação e isolamento dos extratos hexânicos, a fim de descobrir os compostos responsáveis pelas atividades observadas nesses extratos.

5 AVALIAÇÃO E COMPARAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO E DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS METANÓLICOS DE *Microlicia parviflora*

5.1 Introdução

5.1.1 Ciências ômicas e suas aplicações na química de produtos naturais

As técnicas ômicas, também chamadas de ciências ômicas, são técnicas analíticas que permitem o estudo de grandes conjuntos de dados a fim de entender diferenças ou similaridades entre indivíduos biológicos em um nível específico (Dai; Shen, 2022). São técnicas que utilizam a bioinformática ou análises de dados multivariados para tratar esse conjunto expressivo de dados e obter informações refinadas que identificam marcadores para as hipóteses em teste. É um campo da biologia, que pode ser aplicado desde dados maiores, como o genoma, até conjuntos de dados relativamente menores, como estudos focados em lipídeos ou moléculas pequenas, como os metabólitos especializados (Goodacre et al., 2007).

Para cada conjunto de dados diferente, costuma-se usar o nome do conjunto acrescido do sufixo ômica para diferenciar o tipo de estudo realizado; como, por exemplo, para o genoma tem-se a genômica, e outros termos como lipidômica, metabolômica, entre outros (Yan et al., 2015). Essas técnicas permitem estudos nos quais se avalia como fatores bióticos ou abióticos podem interferir em ambientes biológicos, tais como a exposição a um tipo de infecção, incidência de luz solar, condições climáticas ou a localidade em que o organismo foi exposto durante o seu crescimento, entre outros fatores. Com esse tipo de abordagem, tem-se a possibilidade de identificar marcadores químicos relacionados ao que está sendo testado; por exemplo, no caso de exposição a uma doença, é possível identificar um ou mais marcadores químicos que indicam a presença da infecção (Hasin; Seldin; Lusi, 2017; Lu; Pang; Xia, 2023).

No presente trabalho, será realizado um estudo de metabolômica. A metabolômica é o estudo voltado aos metabólitos especializados produzidos por organismos vivos. Normalmente, utilizam-se técnicas espectrométricas e espectroscópicas para o levantamento dos dados a serem analisados; as mais comuns são a espectrometria de massas, normalmente acoplada a técnicas cromatográficas como a cromatografia líquida (CL-EM) e gasosa (CG-EM), a ressonância magnética nuclear e a espectroscopia no infravermelho, entre outras. A espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida é a técnica mais amplamente empregada, devido à sua elevada sensibilidade e à maior facilidade no preparo das amostras quando comparada à

cromatografia gasosa. Nesta última, dependendo da natureza da amostra, frequentemente são necessárias etapas de derivatização antes da análise (Zhao; Zhang; Li, 2018).

Neste trabalho, a técnica escolhida foi a espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida. O uso de uma técnica cromatográfica hifenada ao espectrômetro de massas permite uma melhor investigação do perfil químico da amostra. A separação dos compostos evita a supressão iônica na análise e permite que moléculas menos abundantes ou que não ionizam com facilidade também sejam detectadas, principalmente ao se considerar o uso de cromatógrafos com alto poder de separação, como os cromatógrafos líquidos de ultraeficiência (CLUE). Essa técnica também adiciona uma informação adicional à análise, que é o tempo de retenção do composto (t_R) (Harrieder *et al.*, 2022).

Já a espectrometria de massas traz como principais informações a possibilidade de aquisição de dados em alta resolução com erros dos valores de razão massa/carga (m/z) em ppm (partes por milhão) e os espectros de fragmentação (EM/EM), que são característicos das moléculas e muitas vezes auxiliam na diferenciação de isômeros, além do uso de diferentes formas de ionização, como IES (ionização por eletrospray) e APCI (ionização química à pressão atmosférica), entre outras, que podem fornecer informações diferentes do perfil químico da amostra (Demarque *et al.*, 2016; Scigelova *et al.*, 2011; Steckel; Schlosser, 2019).

Essas técnicas espectrométricas e espectroscópicas permitem a identificação de grupos funcionais característicos de classes de compostos, ou até mesmo a identificação, mesmo que parcial, da estrutura, enquanto as ferramentas estatísticas ou as análises de dados multivariados, por meio de métodos como PCA (análise de componentes principais), PLS (mínimos quadrados parciais) e LDA (análise discriminante linear), entre outros, permitem descobrir quais dados, entre um conjunto gigante de dados, são os importantes para diferenciar as amostras nesse conjunto (Goodacre *et al.*, 2007).

Em relação a órgãos diferentes das plantas, há casos em que um órgão específico destas é o responsável por uma atividade biológica, como o barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), no qual se utilizam as cascas como cicatrizantes (Ricardo *et al.*, 2018), ou compostos que são extraídos de uma parte específica da planta, como o taxol e a quinina, que são, respectivamente, um anticâncer e um antimalárico extraídos das cascas da *Taxus brevifolia* e *Cinchona* spp. (Gallego-jara *et al.*, 2020; Newman, 2022). Utilizando esse tipo de técnica, torna-se possível verificar os compostos ou classes que diferenciam os órgãos e direcionar estudos futuros em busca dessas moléculas.

5.1.2 Atividade antibacteriana

Como já abordado nos Capítulos 3 e 4, as bactérias são os microrganismos que mais comumente causam infecções em humanos, o que causa diminuição da qualidade de vida, reduz o tempo de vida das pessoas e, no caso de alguns patógenos, podem levar a óbito.

Uma problemática a ser considerada em relação às bactérias é o surgimento de espécies resistentes aos fármacos já existentes. Esse processo de resistência é comum e decorre de mutações que esses organismos sofrem ao se multiplicar; porém, atividades humanas têm intensificado esse processo. A OMS considera este um dos maiores problemas de saúde da atualidade, uma vez que essas cepas são difíceis de tratar e, em países com menos recursos financeiros, isso torna-se uma problemática maior, pois o acesso a uma variedade de antibióticos é mais difícil.

Assim, estudos que buscam novas moléculas capazes de atuar como antibacterianos ou que sirvam de inspiração para o desenvolvimento de fármacos são sempre importantes, e a química de produtos naturais, como já demonstrado, sempre desempenhou um papel relevante no surgimento de novos fármacos. Um levantamento feito por Newman; Cragg, (2020), que traz a origem dos fármacos aprovados pela FDA de 1981 a 2019, mostra que dos antibacterianos aprovados nesse período somente 22% são puramente sintéticos, ou seja, sem nenhuma ligação com a química de produtos naturais. Enquanto isso, os outros 55% ou são estruturas semelhantes às encontradas no organismo de origem (6,8%), ou são inspiradas em produtos naturais (49%), ou seja, podem possuir parte da estrutura semelhante a natural, podendo ser um derivado de um produto natural, ou a síntese se deu na tentativa de imitar a estrutura de um composto natural. No levantamento, ainda se tem que 20% são vacinas e 2,5% são caracterizados no estudo como biológicos, que são proteínas e peptídeos isolados de organismos ou células.

Neste capítulo, será abordada uma avaliação da atividade antibacteriana contra bactérias de diferentes gêneros, sendo uma Gram-positivas e outra Gram-negativas, a fim de verificar se os extratos são ativos contra os dois tipos diferentes de patógenos, uma vez que as estruturas da parede celular das bactérias que respondem positivamente e negativamente ao teste de Gram são diferentes, e a suscetibilidade às substâncias também pode divergir.

5.1.3 Fungos e outros fitopatógenos no contexto de lavouras

Os fungos, além de serem uma problemática para a saúde humana, também provocam impactos na agricultura, com diversas espécies infectando diferentes tipos de lavouras. Normalmente, utilizam-se agrotóxicos, ou em termos mais atuais, defensivos agrícolas; porém, muitas dessas substâncias são tóxicas para os humanos que vão consumir os produtos, para os trabalhadores que têm contato direto ao aplicarem os produtos nas lavouras, e para a fauna e flora presentes nas regiões próximas às lavouras. Adicionalmente, contaminam o solo e lençóis freáticos, o que leva à contaminação de corpos de água (Pathak *et al.*, 2022).

Com isso, atualmente também há um interesse em diminuir a dependência de defensivos agrícolas sintéticos, uma alternativa pode ser encontrada em substâncias naturais. Alguns órgãos reguladores, como o europeu, tendem a ser rígidos quanto a substâncias que podem ser utilizadas, e alguns países que são mais permissivos, porém exportam para esses mercados, também precisam se adequar (Nicastro *et al.*, 2024).

No presente trabalho, os extratos foram testados contra três patógenos notórios em diferentes culturas: *Zymoseptoria tritici*, *Botrytis cinerea* e *Phytophthora infestans*. O fungo *Zymoseptoria tritici* é responsável pela mancha foliar da septória ou septoriose do trigo (Kalicharan; Fernandez, 2025); o *Botrytis cinerea* é um fungo que infecta uma variedade de cultivares, tendo a doença chamada de mofo cinzento como a mais comum (Kalicharan; Fernandez, 2025), e o *Phytophthora infestans* é um oomiceto, que é um tipo de organismo parecido com fungo, mas não é considerado um fungo; normalmente infecta plantações de batata e tomate causando uma doença chamada requeima, porém também pode ser encontrado em outros tipos de cultivares (Volynchikova *et al.*, 2022; Wang, 2023).

Essas doenças causam uma enorme perda econômica, além de colocar populações em risco de desabastecimento. O oomiceto *Phytophthora infestans* foi responsável por uma forte epidemia em batatas nos EUA e na Europa no início do século 19, levando a uma forte crise humanitária na Irlanda, que tem a batata como seu principal alimento, levando à morte de aproximadamente 1 milhão de pessoas e a mais 1 milhão de emigrantes (Coomber; Saville; Ristaino, 2024). Estima-se que ocorra uma perda de 10 a 23% da produção dos principais cultivares, e ainda uma perda de 10 a 20% pós-colheita, todas relacionadas a infecções fúngicas (Stukenbrock; Gurr, 2022). No caso do *Zymoseptoria tritici*, o fungo é o principal patógeno relacionado ao trigo, que é o produto de maior produção mundial presente na dieta de diversas comunidades no mundo; o fungo é responsável por perdas que podem variar de 5 a 50% dos cultivares (Meile *et al.*, 2025; Stukenbrock; Gurr, 2022).

Por fim, outro problemático presente nos fungos relacionada a cultivares é a resistência aos antifúngicos utilizados, assim como ocorre e já foi descrita nos capítulos anteriores com fungos que infectam humanos. Esse é mais um fator que levanta a necessidade de estudos que busquem novas substâncias que sejam capazes de auxiliar no controle dessas pragas.

5.1.4 Câncer colorretal e de próstata

O câncer é um conjunto de doenças caracterizado pelo crescimento descontrolado de células anormais no corpo; essas doenças podem começar em praticamente todos os tecidos e órgãos. Porém, os mais comuns em homens são no pulmão, próstata, estômago, fígado e colorretal, enquanto em mulheres os mais comuns são no colo do útero, tireoide, mama, pulmão e colorretal.

É um dos principais problemas de saúde da atualidade; estima-se que no mundo uma em cada seis mortes seja causada por câncer e, ao desconsiderar doenças sexualmente transmissíveis, o número sobe para uma em cada quatro (Bray *et al.*, 2024).

No presente trabalho, serão avaliadas células de câncer do colorretal e de próstata. O câncer de colorretal, como já descrito, é um dos mais comuns, sendo o mais comum em homens e o segundo mais comum em mulheres. Estimativas apontam que ocorrem em torno de 2 milhões de novos casos anualmente com aproximadamente 900 mil mortes em todo o mundo (Tonini; Zanni, 2024).

No gênero *Microlicia*, não há nenhum estudo em relação a qualquer tipo de câncer; porém, na família Melastomataceae, existem alguns estudos; por exemplo, o extrato metanólico das folhas do *Melastoma malabathricum* foi capaz de inibir células de câncer de mama, com CI_{50} de $7,14 \mu\text{g mL}^{-1}$, e os extratos em clorofórmio e metanol das flores apresentaram inibição moderada (Roslen *et al.*, 2014). Em outro estudo, dez espécies de Melastomataceae foram testadas contra células de linhagem celular de leucemia monocítica aguda, e os extratos hexânicos de *Miconia amoena*, *Clidemia sericea* e *Clidemia capitellata* provocaram apoptose nas células dessa linhagem em testes *in vitro* (Bomfim *et al.*, 2022).

5.2 Objetivos

Os objetivos do trabalho foram diferenciar o perfil metabólico das folhas, dos galhos, das flores e das raízes da *Microlicia parviflora* utilizando a espectrometria de massas e abordagens metabolômicas, além de comparar o perfil metabólico dos quatro diferentes órgãos

por ressonância magnética nuclear. Isolar metabólitos secundários dos extratos de *Microlicia parviflora* e determinar suas estruturas por técnicas espectroscópicas, e avaliar o potencial anticâncer dos extratos dos quatro órgãos contra células de câncer de ovário e do colorretal, além do potencial biológico contra fitopatógenos comuns em plantações e o potencial antibacteriano contra espécies gram-positivas e gram-negativas.

5.3 Procedimentos experimentais

5.3.1 Coleta do material vegetal

As folhas, galhos, raízes e flores da *M. parviflora* foram coletados no Parque do Sabiá na cidade de Uberlândia. A espécie foi identificada pela bióloga e Professora Doutora Rosana Romero, especialista na família. Uma exsicata foi depositada no herbário da Universidade Federal de Uberlândia (HUFU), sob o código de registro HUFU 88902.

O acesso ao patrimônio genético foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número AC484B1, assim como a guia de remessa para o envio do material para a Alemanha foi registrada sob o número R54AD03.

5.3.2 Secagem e acondicionamento do material vegetal

O material vegetal foi levado ao Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais e seco à temperatura ambiente. A umidade foi medida até ficar em aproximadamente 10%; após a secagem, o material foi acondicionado em frascos de vidro para ser levado para o IPB (*Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie*), em Halle (Saale), na Alemanha.

5.3.3 Materiais e reagentes

5.3.3.1 Equipamentos

- CLUE da Waters, modelo ACQUITY UPLC I-Class, acoplado a um espectrômetro de massas da ScieX modelo TripleTOF 6600 quadrupole time-of-flight (QqTOF);
- CLAE semipreparativo Shimadzu;
- RMN da Bruker modelo Avance Neo 500 NMR;

- RMN da Agilent modelo DD2 400 NMR;
- Espectrômetro de massas da Sciex modelo API-3200

5.3.3.2 Reagentes

- Solventes utilizados no preparo dos extratos, partições e na coluna semipreparativa: heptano, diclorometano, acetato de etila, metanol. Os solventes foram de marcas diversas: o metanol, heptano e acetato de etila foram destilados para maior pureza. Acetonitrila grau CL-EM foi da Chromasolv.
- Ácido fórmico: LiChropur
- Difenilboriloxietilamina;
- Polietilenoglicol-4000;
- umbeliferona;
- 4-metilumbeliferona;
- indole-3-acetil-L-valina;
- Anisaldeído;
- MeOH deuterado;
- H₂O deuterada;

5.3.4 Análise metabolômica

5.3.4.1 Teste do solvente extrator e condições cromatográficas

Para determinar o solvente extrator, foram preparados extratos dos quatro órgãos da planta utilizando somente metanol ou uma mistura de metanol:água (4:1). O material foi finamente triturado, e usaram-se 15 mg de cada material vegetal para a realização da extração. O material foi colocado em um microtubo de 1,5 mL com 1 mL do solvente extrator. O tubo foi brevemente agitado em um vórtex e colocado no banho ultrassônico por 15 minutos; após esse período, o tubo foi levado a uma centrífuga por 10 minutos a 14000 rpm. O material sobrenadante foi então transferido para o vial de 1,5 mL.

Para a obtenção dos dados de espectrometria de massas, foi usado um uHPLC da Waters, modelo ACQUITY UPLC I-Class, acoplado a um espectrômetro de massas da SciEX modelo TripleTOF 6600 quadrupole time-of-flight (QqTOF). A fase móvel foi composta de água ultrapura (A) e acetonitrila (B), ambas acidificadas com 0,1% de ácido fórmico. A corrida iniciou com 5% de B, permanecendo nessa concentração por 1 minuto, e após esse período empregou-se um gradiente de 5 a 95% por 15 minutos, posteriormente permaneceu em 95% por mais 1 minuto e retornou às condições iniciais em 0,5 minutos. Entre as corridas, foi feito

o condicionamento da coluna por 2,5 minutos usando apenas 5% de B. Foi injetado 1 μL de cada amostra, e o fluxo utilizado foi de 0,4 mL min^{-1} . A coluna utilizada foi uma Acquity UPLC® BEH RP-C18 ($50 \times 2,1 \text{ mm}$, $1,7 \mu\text{m}$) da Waters.

Para os dados de espectrometria de massas, foi utilizada uma fonte de ionização por eletrospray, modelo ESI-DuoSpray-Ion-Source. Os dados foram coletados no modo DDA (Aquisição Dependente de Dados), com íons no intervalo de m/z 100 a 3000. Para os experimentos de TOF EM/EM nos modos positivo e negativo, utilizaram-se um tempo de acúmulo de 150 ms e uma energia de colisão de 45 V. Os parâmetros de MS foram controlados pelo software Analyst TF 1.7.1 (Sciex). A avaliação dos dados foi realizada utilizando o software PeakView versão 2.2 (Sciex).

5.3.4.2 *Teste de quantidade de material vegetal utilizado no preparo do extrato*

Os extratos foram obtidos conforme o item anterior; entretanto, para cada parte da planta foram realizadas extrações com cinco diferentes quantidades de material vegetal. Foram utilizados 2,5; 5; 10; 15 e 20 mg de material vegetal com 1 mL de metanol grau CL-EM. Cada extração foi realizada em triplicata. Além disso, para controle da técnica, foram adicionados três padrões internos na concentração de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$: umbeliferona, 4-metilumbeliferona e indole-3-acetil-L-valina.

Os extratos foram então submetidos à análise de CLAE-EM, nos modos positivo e negativo, nas mesmas condições da etapa anterior. Utilizando o programa MultiQuant da ScieX, foram obtidos os valores de área dos picos cromatográficos e, no software Excel, foram plotadas curvas de valores de intensidade por quantidade de material utilizado para verificar a melhor quantidade de material vegetal a ser utilizada no experimento.

5.3.4.3 *Análises de CLAE-EM para realização dos estudos metabolômicos*

Os extratos foram obtidos da mesma forma que nos experimentos anteriores, utilizando 15 mg de material vegetal e 1 mL de metanol. Para cada órgão da planta, foram realizadas seis extrações diferentes. Além disso, foi preparado um CQ (controle de qualidade), misturando quantidades iguais (0,1 μL) de cada um dos 24 extratos preparados. O CQ foi injetado 7 vezes ao longo das injeções dos extratos. Também foram injetados 4 brancos entre as corridas. Os extratos, CQ e brancos, foram então injetados no CLAE-EM, para obtenção dos espectros, com modo de ionização negativo e positivo. A ordem das injeções das amostras foi definida

aleatoriamente: criou-se uma lista em uma planilha do Excel com as 24 amostras – sete CQ e quatro brancos – e, no programa, sorteou-se a ordem aleatoriamente.

5.3.4.4 *Metabolômica*

Os dados foram primeiramente alinhados no software mzMine, onde se obtiveram as tabelas de features, contendo os valores de m/z , tempo de retenção e os valores de área para cada sinal em todas as amostras. Foram usados os seguintes parâmetros para alinhar os sinais entre as amostras no modo negativo: máximo de 15 picos por cromatograma e mínimo de seis scans consecutivos. Tolerância de 0,04 minutos dentro de uma amostra e 0,1 entre amostras. Intensidade de 1×10^3 para os dados de MS^1 e de 2×10^2 para MS^2 . A tolerância de m/z entre os scans foi de 0,005 Da; 0,0015 Da para ser considerado um mesmo sinal dentro da mesma amostra e 0,004 Da entre amostras. Também foram usadas algumas bibliotecas gratuitas como o MoNA para anotação dos compostos presentes.

Com o mzMine foi possível gerar uma tabela de features que foi utilizada no software Sirius para anotação dos compostos e uma tabela para ser utilizada no software MetabolAnalyst versão 6.0, onde foram realizadas as análises estatísticas de PCA e HCA, além da obtenção dos *heatmaps* que indicam os compostos importantes para diferenciar as amostras.

5.3.5 *Comparação dos órgãos de *Microlicia parviflora* por RMN*

5.3.5.1 *Escolha do solvente*

A primeira etapa foi a escolha do solvente extrator, e foi realizada somente para as folhas; em um microtubo de 1,5 mL foram adicionados 50 mg do material vegetal e 1 mL do solvente. Testaram-se apenas metanol e três diferentes misturas de metanol e água, contendo 75, 50 e 25% de água; todos os solventes usados foram deuterados. A mistura foi agitada brevemente em um vórtex. O tubo foi então colocado em um banho de ultrassom por 15 minutos para a obtenção do extrato. Após esse período, foi centrifugado e 0,6 mL do sobrenadante foi adicionado ao tubo específico para análises de RMN.

Os experimentos de 1H foram realizados em um equipamento Bruker modelo Avance Neo 500 NMR operando a 500,234 MHz para 1H . Os deslocamentos químicos são relatados em relação ao TMS ou aos picos do solvente. Nessa etapa, foi realizada somente a análise de 1H para verificação de qual solvente resultaria em uma melhor extração.

5.3.5.2 Obtenção dos espectros de RMN

Os extratos foram obtidos da mesma forma que o experimento anterior, utilizando 50 mg de material vegetal e 1 mL do solvente deuterado preparado com hexametildissiloxano (HMDSO, 0,062 ppm, RMN de ^1H) como padrão interno na concentração de 0,974 mmol L⁻¹. Foi realizada uma extração para cada órgão. Foram obtidos os espectros de ^1H e os espectros 2D HSQC e HMDB. Também foi realizado um branco utilizando apenas o solvente com o padrão interno na análise. Os espectros foram analisados no software MestReNova.

5.3.6 Preparo de extratos para isolamento de compostos

Para esse estudo, foi escolhido trabalhar com as flores, uma vez que o isolamento de compostos das folhas já foi abordado no Capítulo 4. O extrato (EHMF1) foi preparado por maceração com ultrassom. O material vegetal foi colocado em um frasco de vidro, juntamente com o solvente extrator, uma mistura de metanol:água 4:1. O frasco foi colocado em banho ultrassom por 15 minutos e, após esse período, o solvente foi filtrado e evaporado. Após a primeira extração, colocou-se novamente solvente e o material foi deixado em repouso por 24 horas; após esse período, o solvente foi filtrado e evaporado. O processo foi repetido 5 vezes.

Para uma primeira separação dos compostos, o extrato foi fracionado com solventes de polaridade diferente. Para isso, o extrato foi solubilizado em água e adicionado a um funil de separação, onde também foi adicionado o solvente extrator. Foram utilizados sequencialmente heptano (PHF1) e acetato de etila (PAEF1), obtendo-se, assim, no final, as partições dos referidos solventes e a partição. Os solventes foram evaporados e as partições liofilizadas.

5.3.6.1 Filtração em Diaion HP20

A partição aquosa residual da partição em *n*-heptano e acetato de etila foi filtrada na resina Diaion HP20, para retirada dos açúcares presentes e concentração dos compostos polares que ficaram na partição aquosa. A resina foi empacotada em uma coluna de vidro utilizando água, e 17 g da amostra foram solubilizados em água e aplicados sobre a resina. Primeiro, foram eluídos três volumes mortos de água (150 mL), gerando a fração aquosa (PAD) e posteriormente, foram eluídos três volumes mortos de metanol para a retirada dos compostos (PMD).

5.3.7 Isolamento do composto II

A partição em acetato de etila foi submetida a uma cromatografia de bancada para uma tentativa de isolamento dos compostos. Para isso, foi utilizada uma coluna de vidro de 4,5 x 80 cm; como fase estacionária, foi utilizado Sephadex LH20 e como fase móvel, metanol. 3 g da partição foram dissolvidos em metanol e aplicados no topo da sílica dentro da coluna. O eluente foi coletado em tubos de ensaio que, posteriormente, foram reunidos através da similaridade das frações na CCD. As cromatoplas foram monitoradas em câmara UV a 254 e 366 nm, e utilizando o reagente NP/PEG.

5.3.8 Análise de RMN para o composto isolado II

Os espectros de ^1H e ^{13}C , assim como os espectros 2D HSQC, HMBC, COSY e NOESY, foram obtidos em um equipamento da Agilent, modelo DD2 400 NMR, operando a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C , usando uma sonda de 5 mm à temperatura ambiente com o software de espectrômetro VNMRJ 4.2A / ChemPack 8.1. Os deslocamentos químicos são relatados em relação ao TMS (RMN de ^1H) ou aos picos do solvente.

5.3.9 Ensaios biológicos

O extrato das flores obtido para separação dos compostos e as partições do extrato hidrometanólico foram testados para diferentes atividades biológicas. Além disso, foram preparados extratos de cada órgão, utilizando apenas metanol, para testes. Os extratos foram preparados da mesma forma que os extratos destinados às análises de CLAE-EM e RMN, porém com maior quantidade de material vegetal.

Foram analisadas atividades anticâncer, *in vitro*, contra células de câncer de colorretal e próstata. Também foram avaliados o potencial antifúngico contra fungos de lavoura de tomate e o potencial antibacteriano contra diferentes bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

5.3.9.1 Atividade anticâncer

Os extratos e partições foram testados contra células humanas de colorretal e próstata; os procedimentos adotados foram semelhantes aos descritos por (Ware *et al.*, 2023). Primeiramente, as células foram alocadas nos poços de uma placa de 96 poços, solubilizadas

em meio RPMI 1640. As células foram deixadas em repouso por 24 horas, para aderirem à parede do poço, e após esse período foram adicionadas as amostras nas concentrações de 0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e foram colocadas por mais 24 horas sob repouso. Como controle positivo foi usada a digitonina (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$), que foi considerada como 0% de viabilidade celular. Após 48 horas de incubação, a viabilidade celular foi medida.

5.3.9.2 Atividade antibacteriana

Os extratos e partições foram testados contra as bactérias *Aliivibrio fischeri* (Gram-negativa) e *Bacillus subtilis* (Gram-positiva). Foi determinada a inibição do crescimento bacteriano pelas amostras testadas; os procedimentos foram similares aos adotados por (dos Santos *et al.*, 2019). As análises foram realizadas em microplaca de 96 poços escura. Em cada poço, foram adicionados 100 μL da solução da amostra, em concentrações de 50 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e 100 μL de meio de cultura contendo as células a serem testadas. As células foram incubadas por 24 horas, à temperatura de 23 °C com 100% de umidade. Após esse período, foi medida a luminescência, que está diretamente ligada à densidade de células no poço; o crescimento foi determinado em comparação com o controle negativo, onde só havia células em 1% de DMSO. Valores positivos indicam inibição do crescimento, e valores negativos indicam que houve crescimento bacteriano. Foi usado como controle positivo o cloranfenicol na concentração de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Já para a bactéria *B. subtilis*, os resultados foram obtidos por ensaio turbidimétrico. Primeiramente os microrganismos foram incubados por 24 horas, a 37 °C sob agitação (120 rpm), e após esse período a densidade microbiana foi ajustada para a absorção do meio (612 nm). O ensaio foi realizado em microplaca de 96 poços transparente, e nos poços foram adicionados 100 μL da solução da amostra, em concentrações de 50 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e 100 μL de meio de cultura contendo as células a serem testadas. As células foram incubadas por 16 horas, a 36 °C sob agitação (80 rpm), e a absorção foi lida em 612 nm. O crescimento foi determinado em comparação com o controle negativo, onde só havia células em 1% de DMSO. Valores positivos indicam inibição do crescimento, e valores negativos indicam que houve crescimento bacteriano. Foi usado como controle positivo o cloranfenicol na concentração de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

5.3.9.3 Atividade antifúngica

O procedimento foi realizado de forma similar ao adotado por (dos Santos *et al.*, 2019). Os extratos e frações foram avaliados contra duas espécies de fungo, *Zymoseptoria tritici* e *Botrytis cinerea*, e um oomiceto (*Phytophthora infestans*). Os ensaios foram realizados em três diferentes concentrações, 1, 10 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os fungos juntamente com as amostras foram incubados por sete dias; após esse período, o crescimento microbiano foi determinado pela densidade ótica em 405 nm. Como controle negativo foi usado DMSO na concentração de 2,5%, e como controles positivos foram usados os antifúngicos epoxiconazol, terbinafina, dodina e piraclostrobina nas mesmas concentrações.

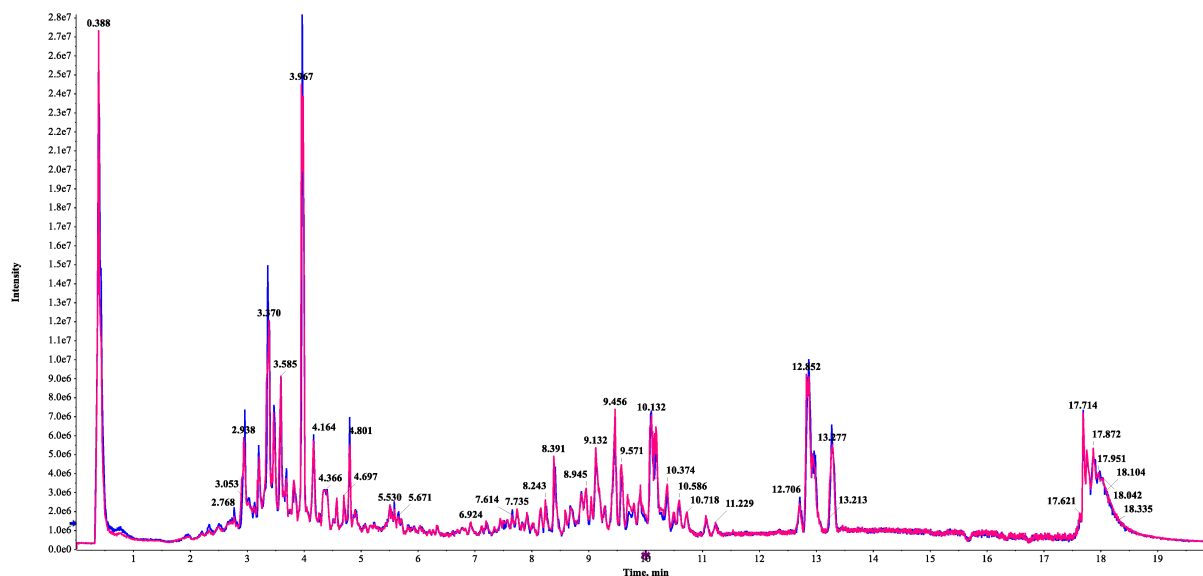
5.4 Resultados e discussões

5.4.1 Comparação dos órgãos da *Microlicia parviflora* por CLAE-EM

5.4.1.1 Escolha do solvente extrator e parâmetros cromatográficos

Primeiramente, para definir o solvente a ser utilizado, testou-se extrair utilizando apenas metanol ou uma solução de 80% de metanol em água. Os cromatogramas se mostraram semelhantes para os dois tipos de extratos obtidos, tanto no modo negativo quanto no positivo, então decidiu-se usar apenas metanol pela facilidade de não precisar preparar a solução. Em relação à análise cromatográfica, os cromatogramas apresentaram boa separação dos compostos ao longo da corrida, então mantiveram-se os parâmetros inicialmente testados. A Figura 36 e a Figura 37 mostram os cromatogramas dos extratos sobrepostos para cada um dos modos de ionização.

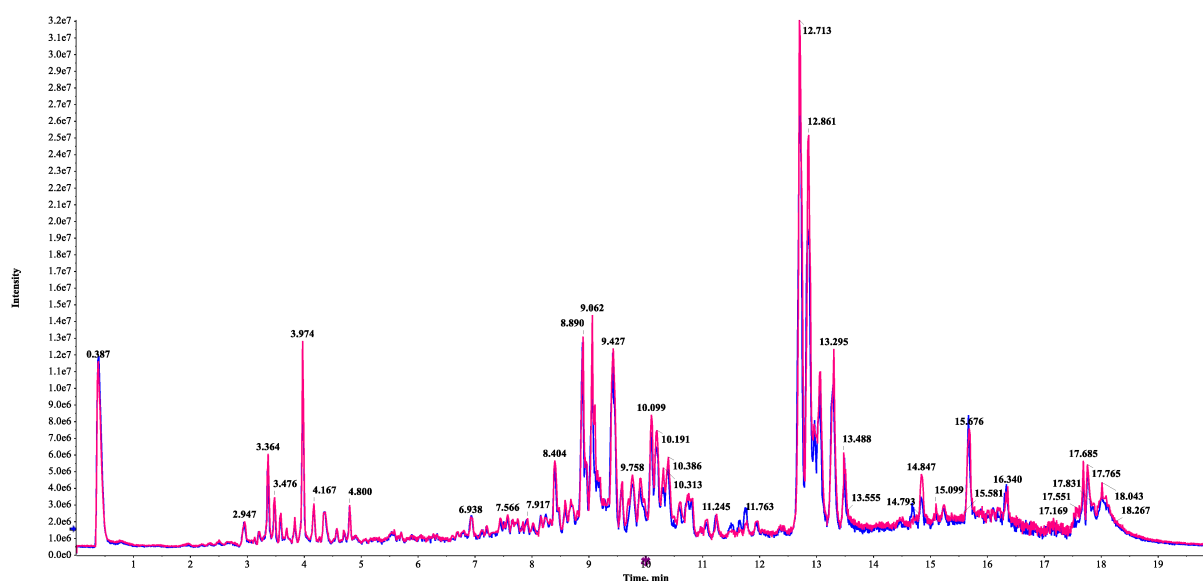
Figura 36 – Cromatogramas sobrepostos dos extratos em metanol e em solução de metanol:água (4:1) no modo negativo



Nota: Rosa: 100% metanol; Azul: 80% metanol em água

Fonte: O autor (2026)

Figura 37 – Cromatogramas sobrepostos dos extratos em metanol e em solução de metanol:água (4:1) no modo positivo



Nota: Rosa: 100% metanol; Azul: 80% metanol em água

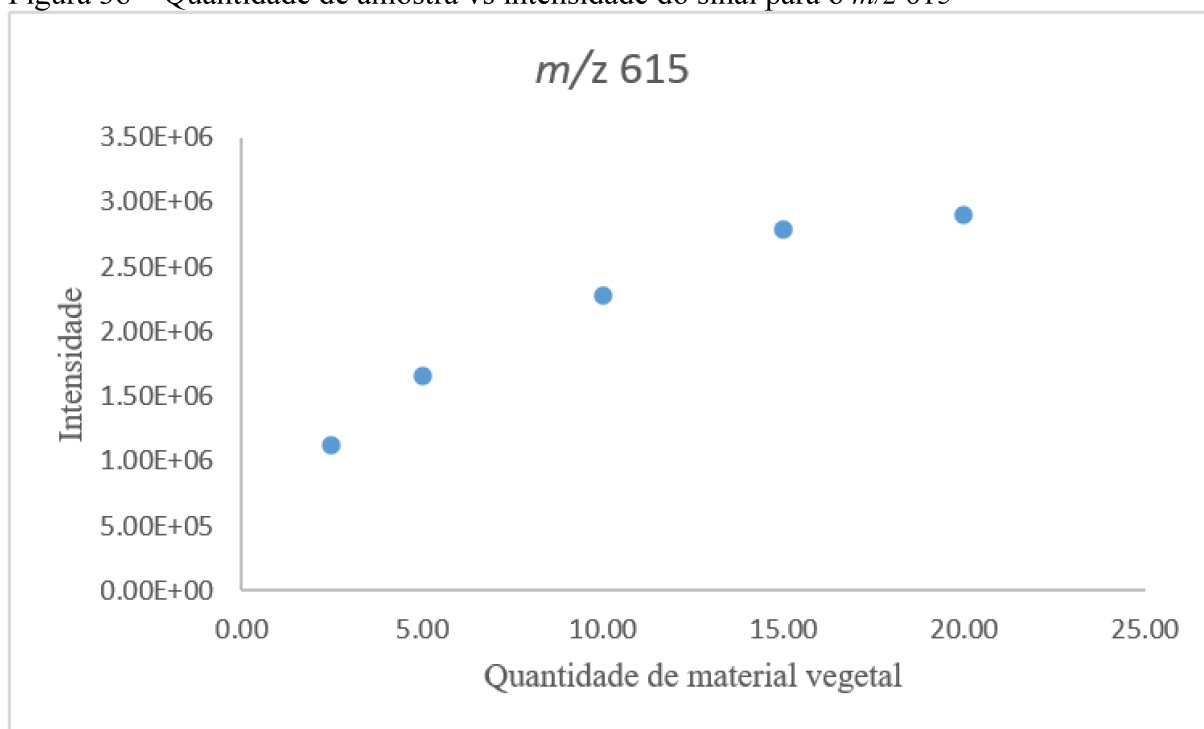
Fonte: O autor (2026)

5.4.1.2 Determinação da quantidade de amostra vegetal na extração

Para se decidir qual a melhor quantidade de amostra vegetal a ser usada, foram preparados extratos utilizando cinco diferentes quantidades de amostra vegetal. Foram plotados gráficos de valores de intensidade do pico por concentração para diversos picos em todas as

amostras a fim de verificar a região linear, que é a região onde ainda não houve saturação do detector. Para alguns picos, os valores de intensidade não aumentavam linearmente a partir de 15 mg, assim, foi escolhida essa quantidade para a realização do experimento. A Figura 38 traz um dos gráficos obtidos do extrato metanólico das flores, para o m/z 615.

Figura 38 – Quantidade de amostra vs intensidade do sinal para o m/z 615

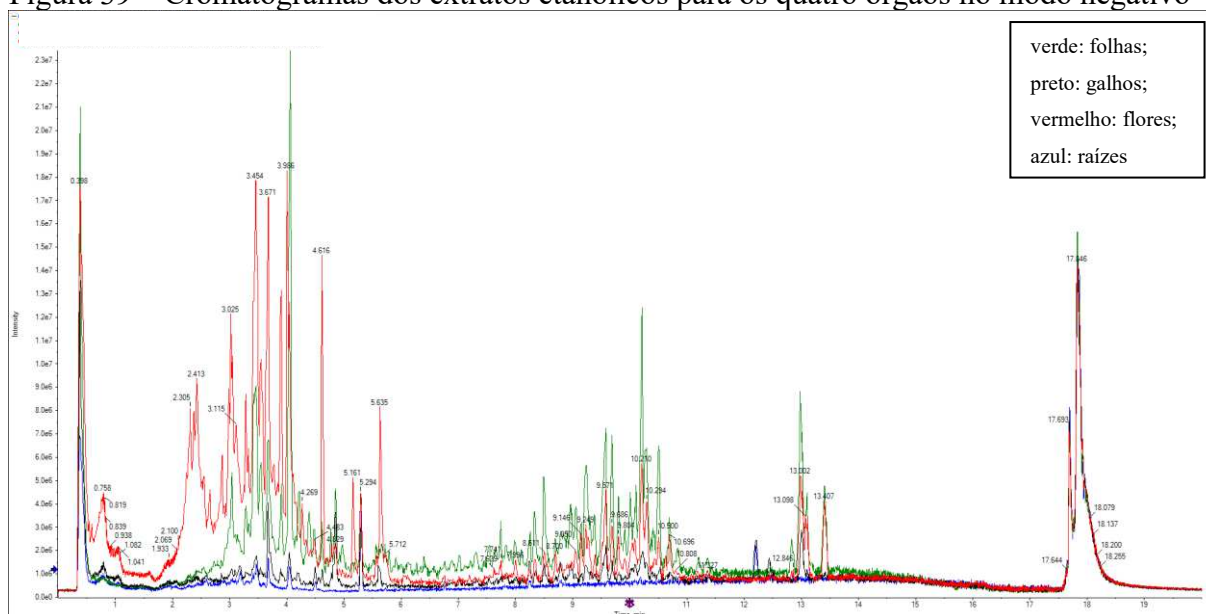


Fonte: O autor (2026)

5.4.1.3 Análise estatística

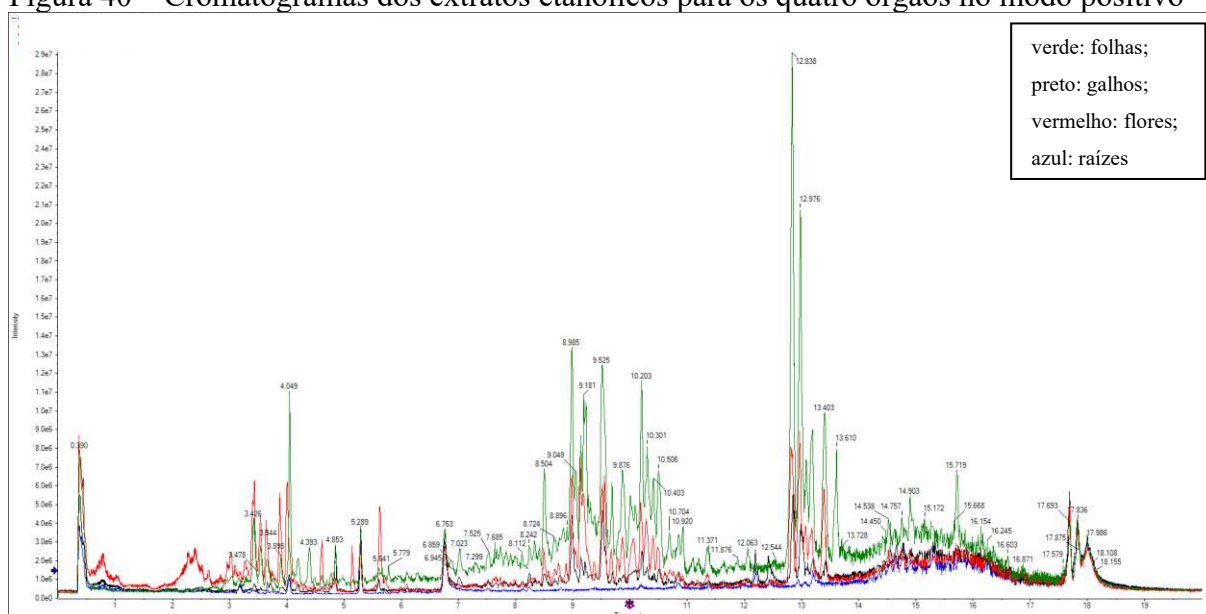
Os dados foram obtidos nos modos negativos e positivo na análise por espectrometria de massas. Além dos seis extratos de cada parte da planta, foram injetados sete CQ para o controle de qualidade da análise. Os extratos também foram preparados com padrões internos. No apêndice C encontra-se os cromatogramas de todos os CQ sobrepostos e cromatogramas extraídos dos três padrões internos. A Figura 39 e a Figura 40 mostram os cromatogramas sobrepostos para os quatro órgãos nos dois modos.

Figura 39 – Cromatogramas dos extratos etanólicos para os quatro órgãos no modo negativo



Fonte: O autor (2026).

Figura 40 – Cromatogramas dos extratos etanólicos para os quatro órgãos no modo positivo



Fonte: O autor (2026)

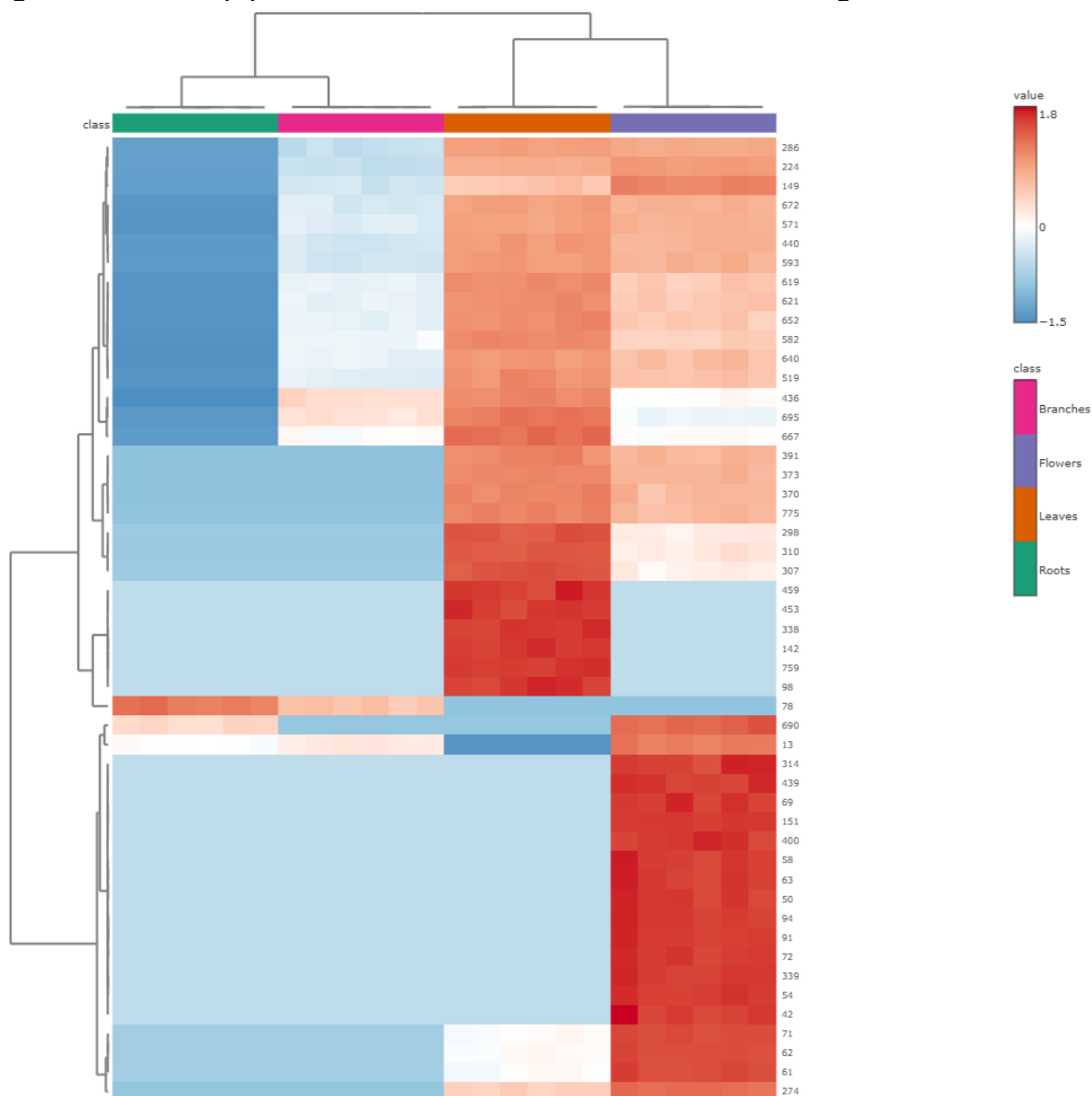
Pelos espectros é possível perceber que folhas (verde) e flores (vermelho) possuem picos mais intensos em ambos os modos de ionização. Essa maior intensidade de picos pode estar relacionada à maior abundância de metabólitos especializados acumulados nesses órgãos, considerando que a extração foi realizada empregando a mesma massa de material vegetal e o mesmo volume de solvente. Ao contrário, raízes e galhos apresentam em geral uma maior quantidade de macromoléculas estruturais como celulose, hemicelulose e lignina, o que tende

a reduzir a extração de compostos de baixo peso molecular, o que pode explicar o perfil cromatográfico com uma menor quantidade de compostos detectáveis e menos intensos

O extrato das flores concentrou uma maior quantidade de compostos no início da corrida cromatográfica, principalmente no modo negativo, região onde a porcentagem de acetonitrila é menor e que eluem compostos com maior polaridade, como taninos, ácidos fenólicos, flavonoides, glicosídeos entre outros. Já para as folhas, observa-se também alguns picos intensos no início da corrida, porém há também uma grande concentração do meio para o final da corrida, região onde a concentração de acetonitrila já está maior e compostos de caráter menos polar costumam eluir. Também há a influência do modo de ionização, no modo negativo há mais picos no início da corrida, onde há compostos que ionizam com mais facilidade nesse modo, enquanto no positivo há uma maior concentração no final da corrida, onde compostos como terpenos, ácidos graxos tendem a sair e ionizam mais facilmente nesse modo.

Por meio dos dados de espectrometria de massas obtidos, após o alinhamento feito no mzMine, foi possível no MetaboAnalyst obter as análises estatísticas que possibilitam comparar esses diferentes órgãos. A Figura 41 mostra o *heatmap* obtido para os dados obtidos no modo negativo. O *heatmap* mostra os compostos que foram estatisticamente diferentes nos órgãos. A coloração vermelha indica que aquele composto está em maior concentração naquele órgão, e a cor azul-claro, indica que está em baixa concentração ou ausente. O lado esquerdo da figura indica as “features”, que são o conjunto de dados analíticos que serão utilizados nas análises multivariadas, nesse caso, os valores de m/z , tempo de retenção e a área do pico no cromatograma. Essas features e as respectivas tabelas foram geradas pelo programa mzMine.

Figura 41 – *Heatmap* para os dados de CLAE-EM obtidos em modo negativo



Fonte: O autor (2026).

Os compostos que foram importantes estatisticamente para diferenciar os órgãos, mostrados no *heatmap* como features, foram anotados para um melhor entendimento das classes de metabólitos especializados diferentes em cada órgão. Na Tabela 14 estão as anotações feitas pelos softwares mzMine e Sirius, além de bibliotecas como o HMDB e PubChem. Na primeira coluna estão o número da feature no *heatmap* junto ao tempo de retenção.

Tabela 14 – Anotação dos compostos marcados como importantes pelo heatmap obtido para os extratos no modo negativo

Sinal/ t _R (min)	[M – H] [–]	Massa exata	Erro (ppm)	Íons fragmentos m/z MS/MS1	Fórmula molecular	Anotação	Referência
13 / 0,79	466,0253	--	--	493, 467, 466, 457, 421, 301	--	Tanino hidrolisável	--
42 / 2,18	329,0871	329,0878	– 2,13	329, 167, 123, 81	C ₁₄ H ₁₈ O ₉	Ácido vanílico hexosídeo	(Mena <i>et al.</i> , 2012)
50 / 2,38	944,08012	--	--	953, 944, 935, 783, 633, 301, 275	--	Tanino hidrolisável	--
54 / 2,39	951,07362	--	--	967, 951, 935, 783, 633, 301, 275	--	Tanino hidrolisável	--
58 / 2,44	944,08072	--	--	953, 944, 935, 783, 633, 301, 275	--	Tanino hidrolisável	--
61 / 2,45	953,0873	953,0902	– 3,02	953, 935, 783, 633, 301, 275	C ₄₁ H ₃₀ O ₂₇	Ácido chebulágico	(Chang <i>et al.</i> , 2019; Wang <i>et al.</i> , 2023)
62 / 2,43	476,04102	476,0414	0,84	633, 476, 301, 275, 257, 229	C ₄₁ H ₃₀ O ₂₇	Ácido chebulágico	(Chang <i>et al.</i> , 2019)
71 / 2,51	483,04462	--	--	615, 483, 467, 407, 301, 275, 257, 229, 201, 169	--	Tanino hidrolisável	--
72 / 2,50	967,0936	--	--	967, 935, 301, 275	--	Tanino hidrolisável	--
78 / 2,45	483,1099	483,1085	--	483, 327, 313, 301, 169, 154, 139, 125	C ₂₈ H ₂₀ O ₈	Derivado de ácido gálico	--
91 / 2,65	967,0979	--	--	967, 935, 633, 301, 275	--	Tanino hidrolisável	--
94 / 2,56	483,04742	--	--	615, 453, 301, 275	--	Tanino hidrolisável	--

Sinal/ tr (min)	[M – H] [–]	Massa exata	Erro (ppm)	Íons fragmentos m/z MS/MS1	Fórmula molecular	Anotação	Referência
373 / 6,05	543,2791	543,2811	– 3,68	543, 497, 377, 359, 335	C ₂₆ H ₄₂ O ₉ + HCOOH	Ácido ent-16-β,17-diidroxi-19- kauranóico hexósideo isômero 2	Sirius
391 / 6,42	545,2967	545,2965	0,37	545, 499, 337, 291, 261	C ₂₇ H ₄₆ O ₁₁	Officinoside D	
400 / 6,76	287,2214	287,2228	– 4,87	287, 269, 241	C ₁₆ H ₃₂ O ₄	Ácido diidroxihexadecanóico	(Crescenzi <i>et al.</i> , 2025)
436 / 7,53	335,2215	335,2228	– 3,89	335, 317, 291, 273, 261	C ₂₀ H ₃₂ O ₄	Ácido ent-16-β,17-diidroxi-19- kauranoico	Sirius
439 / 7,60	529,3014	529,3018	– 0,76	483, 321	C ₂₆ H ₄₄ O ₈ + HCOOH	Ácido graxo furânico-hexosídeo	Sirius e mzMine HMDB
440 / 7,64	313,0716	313,0718	– 0,64	313, 298, 283, 270, 255, 227	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	Velutina	
453 / 7,78	309,2075	309,2071	1,29	309, 291, 247, 203	C ₁₈ H ₃₀ O ₄	Ácido octadecadienoico	HMDB, Sirius e mzMine
459 / 7,83	265,1778			265, 221			
519 / 8,91	337,2378			337, 319, 275, 221		NA	HMDB, Sirius e mzMine
571 / 9,52	321,2420	321,2435	– 4,67	321, 277, 275	C ₂₀ H ₃₄ O ₃	Ácido graxo furânico - isômero 1	
593 / 9,78	321,2434	321,2435	– 0,31	321, 303, 275	C ₂₀ H ₃₄ O ₃	Ácido graxo furânico - isômero 2	HMDB, Sirius e mzMine Sirius, mzMine e Pubchem
619 / 10,02	319,2266	319,2279	– 4,07	319, 275, 273, 259, 189	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	Ácido 6-6-oxocatívico	
621 / 10,04	365,2321	365,2333	– 3,29	365, 319, 275, 273, 189		Ácido 6-6-oxocatívico + ácido fórmico	HMDB, Sirius e mzMine
640 / 10,22	321,2426	321,2435	– 2,80	321, 303, 277, 275	C ₂₀ H ₃₄ O ₃	Ácido graxo furânico - isômero 3	

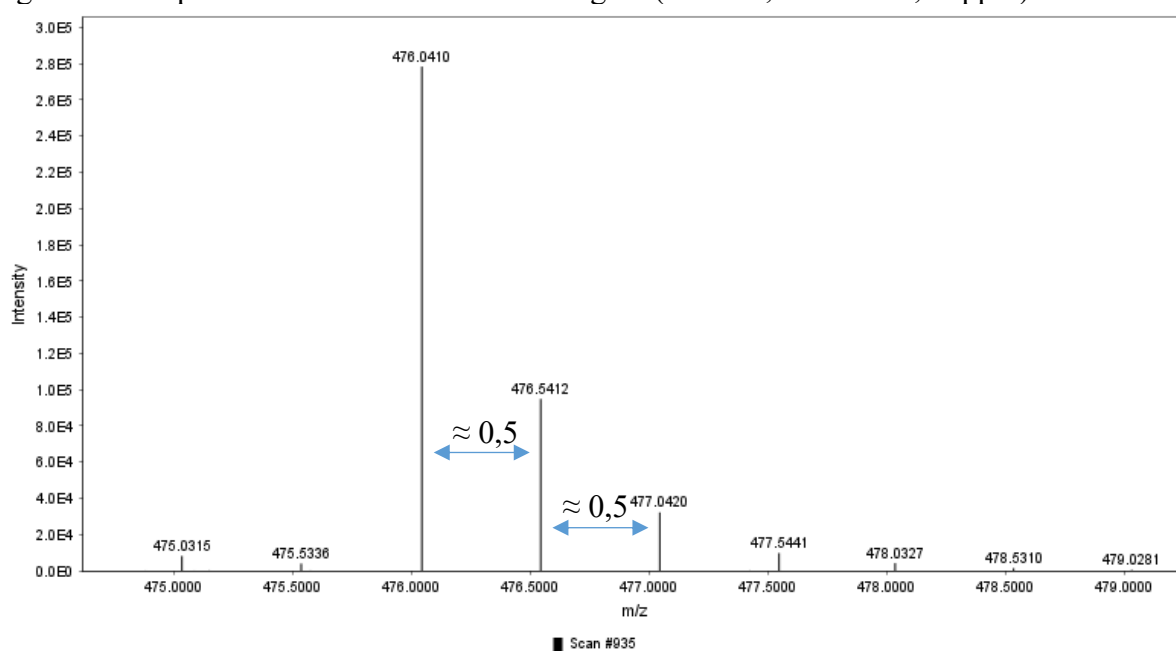
Continuação Tabela 14 – Anotação dos compostos marcados como importantes pelo heatmap obtido para os extratos no modo negativo

Sinal/ tr (min)	[M – H] [–]	Massa exata	Erro (ppm)	Íons fragmentos m/z MS/MS1	Fórmula molecular	Anotação	Referência
652 / 10,42	321,2430	321,2435	1,56	321, 303, 277, 275	C ₂₀ H ₃₄ O ₃	Ácido graxo furânico isômero 4	HMDB, Sirius e mzMine
667 / 10,52	319,2269	319,2279	– 3,13	319, 275, 233	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	Ácido graxo 20:4 ou diterpeno	
672 / 10,71	323,2571	323,2592	– 6,50	323, 279, 263,	C ₂₀ H ₃₆ O ₃	Ácido labdanólico cid	Sirius e mzMine
690 / 11,15	433,2336	433,2361	– 5,77	433, 279, 152, 79	C ₂₁ H ₃₉ O ₇ P	Ácido lisofosfatídico	mzMine
695 / 11,25	317,2118	317,2122	– 1,26	317, 273, 271, 257	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	Ácido 16-oxocleroda-3,13E-dien- 15-oico.	Sirius e mzMine
759 / 13,61	591,2561	--	--	591, 559, 515	--	NA	--

Nota: 1: os íons fragmentos em negrito indicam se tratar do pico base; 2: [M – 2H]^{2–}

As flores e folhas foram os órgãos com mais compostos significativos para a diferenciação dos órgãos. Para as flores, a maioria dos compostos destacados como importantes somente naquele órgão foi de taninos hidrolisáveis; alguns taninos não puderam ser identificados; porém, o perfil de fragmentação indica que se trata de um composto dessa classe. O íon fragmento m/z 301, normalmente seguido do fragmento 275, indica a presença do grupo HHDP (ácido hexa-hidroxidifênico) comum nesse tipo de estrutura. Alguns taninos aparecem como aduto $[M - 2H]^{2-}$, mesmo não sendo possível anotar alguns desses taninos, eles foram atribuídos como esse aduto baseado no perfil isotópico da molécula desprotonada (MS1), quando se tem um aduto desse tipo, a diferença de massa entre os isótopos é em torno de 0,5 Da como mostrado no espectro abaixo (Figura 42) do composto ácido chebulágico (feature 62, t_R 2,43 m/z 476,0410 $\Delta = 0,84$ ppm) (Engström; Karonen, 2026).

Figura 42 – Espectro de MS1 do ácido chebulágico (m/z 476,0410 $\Delta = 0,84$ ppm)



Para as raízes, apenas três dos compostos destacados como relevantes estatisticamente estavam presentes, a feature **78** (m/z 483,1099), que também está presente nos galhos e foi atribuído como derivado de ácido gálico pela presença dos íons fragmentos m/z 169 e 125; a feature **690**, que também está presente nas flores, atribuído como ácido lisofosfatídico; e em menor intensidade a feature **13**, que foi atribuído como tanino hidrolisável.

Alguns flavonoides também foram importantes, como a catequina (**98**, m/z 289, $\Delta = -2,08$ ppm) que apareceu exclusivamente nas folhas, além de três derivados de quercetina que foram importantes nas folhas e flores (features **224**, **286** e **307**). Entre eles, a quercitrina (m/z 447,0936, $\Delta = 0,71$) que foi o composto isolado no Capítulo 4, além da flavona velutina (**440**).

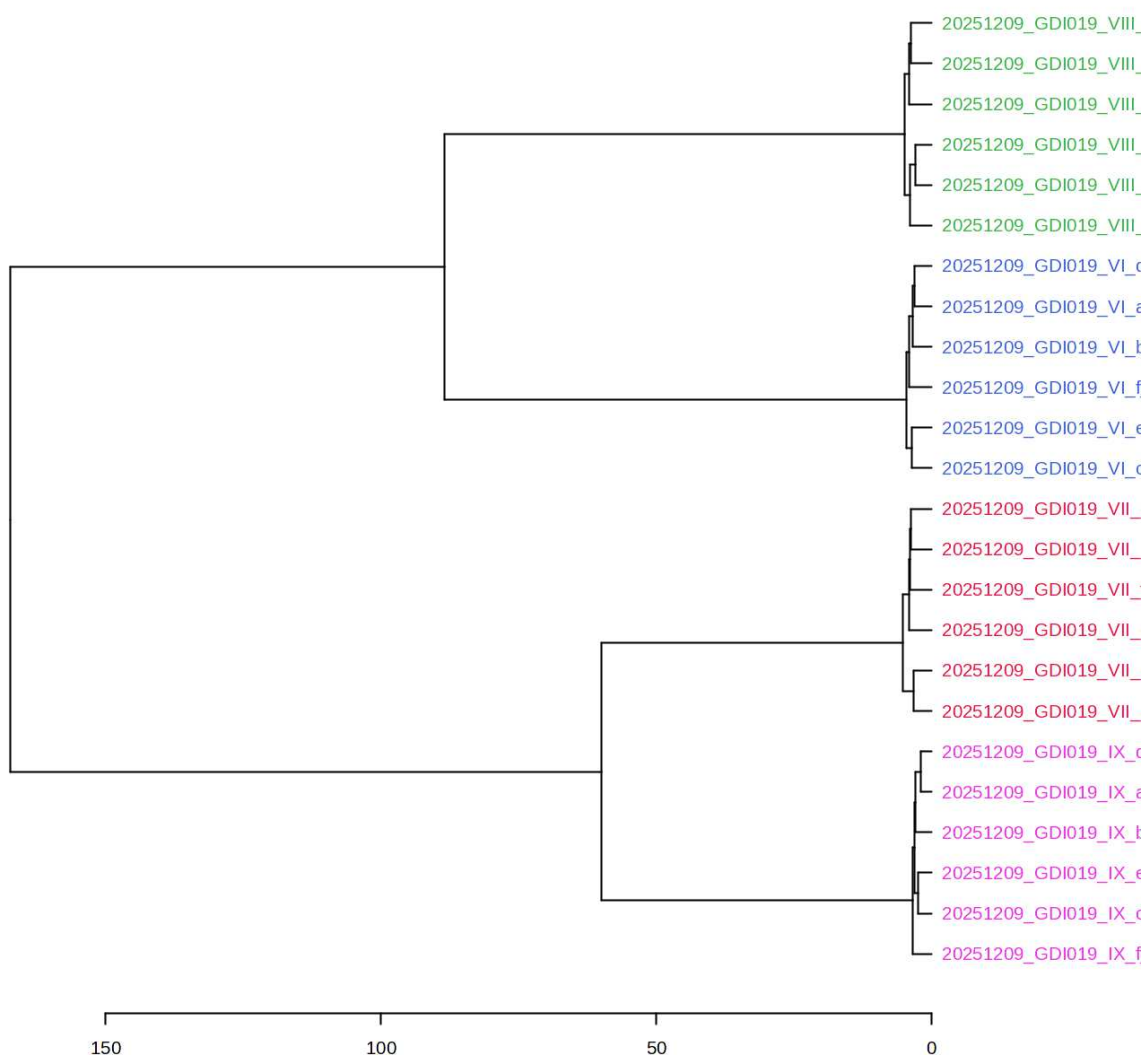
Em relação às folhas, muitos dos compostos atribuídos possuem polaridade média para pouco polares. Por exemplo, a feature **453** que foi identificado somente nas folhas possui t_R em 7,78 minutos, região onde a cromatografia já se encontra com aproximadamente 50% de solvente orgânico. O sinal foi anotado como ácido octadecadienoico, um ácido graxo (m/z 309,2075, $\Delta = 1,29$).

O sinal **338** foi anotado como fitoesterol glicosilado, a perda de 162 indica a presença de uma hexose na estrutura, e o m/z do íon fragmento corresponde a alguns diterpenos, como corcorisídeo B. Porém, não foi possível atribuir a estrutura, pois são compostos mais reportados no modo positivo ou por CG-EM. Outros compostos também foram atribuídos somente à classe baseada no m/z e no erro em ppm. Os sinais **370** e **373** foram atribuídos ao aduto de ácido fórmico do composto ácido *ent*-16- β ,17-diidroxi-19-kauranoico-hexosídeo. A perda de 46 u, formando o íon fragmento m/z 497, indica a formação desse aduto, e a perda de 162 u, formando o íon fragmento m/z 335, indica a perda de uma unidade de hexose. Além disso, o íon fragmento m/z 335 foi anotado como ácido *ent*-diidroxi-19-kauranoico (sinal **436**, m/z 335,2215; $\Delta = -3,89$) pelo software Sirius. Além disso, o erro em ppm do composto glicosilado mais o aduto de ácido fórmico foi confirmado no software ChemDraw.

Os compostos com m/z 321 (features **640**, **621**, **593**, **571**) foram anotados como isômeros de ácido graxo furânico. Seu principal fragmento é o íon fragmento m/z 277, causado pela descarboxilação (-44 u). A feature **439** (m/z 529,3014, $\Delta = -0,76$) foi anotado como ácido graxo furânico-hexosídeo, a perda de 46 u corresponde ao aduto de ácido fórmico, e a perda de 162 u corresponde à unidade de glicose.

Para se obter um melhor entendimento de como os órgãos variaram em sua composição química, também foram obtidos os gráficos de HCA (Figura 43) e PCA (Figura 44), utilizando os dados nos modos negativo e positivo.

Figura 43 – Análise de HCA para os extratos metanólicos no modo negativo



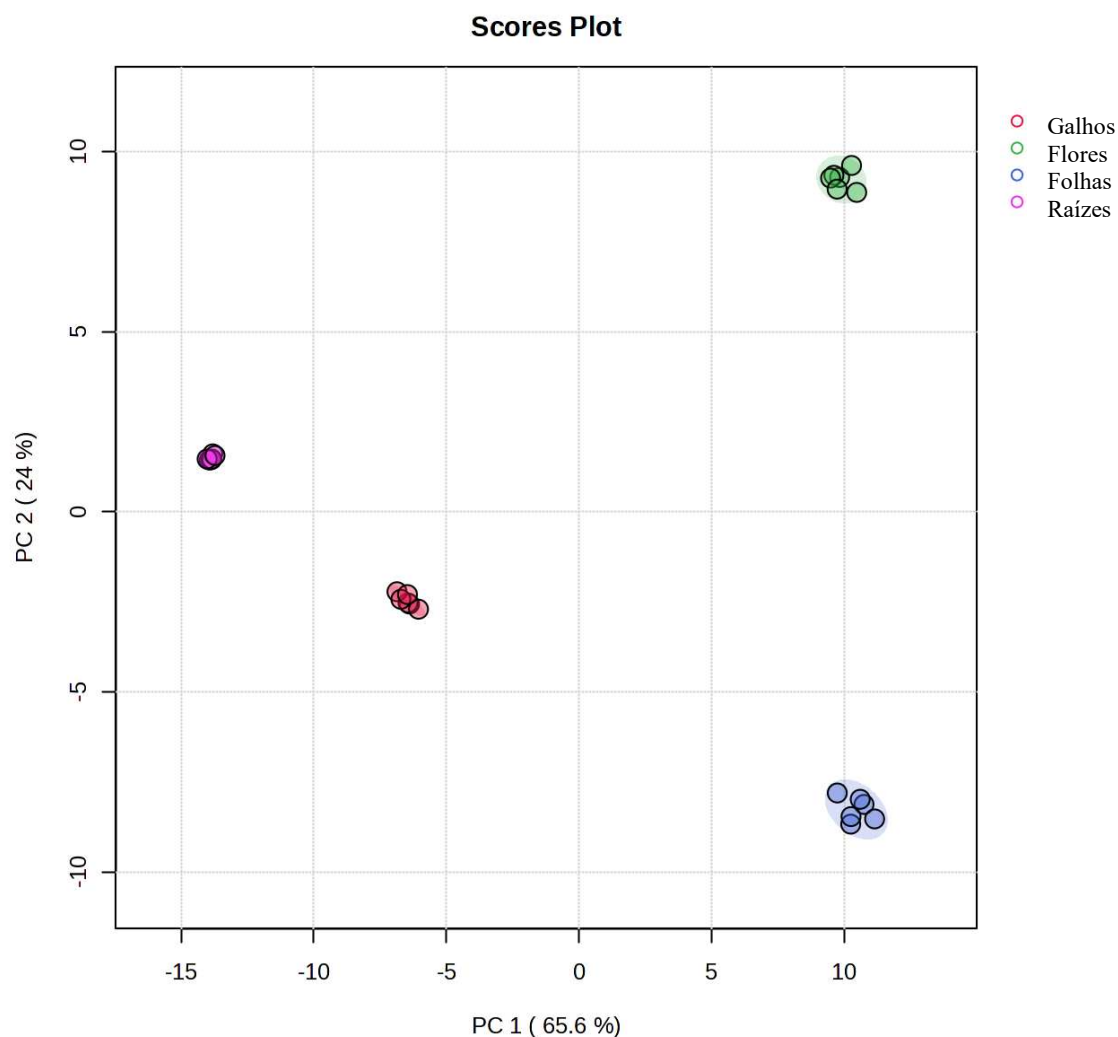
Nota: GDI019_VI: folhas; GDI019_VII: galhos; GDI019_VIII: flores; GDI019_IX: raízes

Fonte: O autor (2026).

A análise de HCA mostra que os galhos e as raízes possuem composição química mais similar entre os quatro órgãos analisados, mostrando a menor distância euclidiana. Já as folhas e as flores possuem composição química mais similar entre si, porém não tão próxima quanto os outros dois órgãos. Por meio das distâncias euclidianas também é possível perceber que dentro dos grupos as amostras foram muito próximas em termos de composição química. No modo positivo, o perfil de agrupamento foi semelhante. A figura encontra-se no apêndice C.

Além da HCA, foi realizada uma análise de PCA (Figura 44) para um melhor entendimento do agrupamento desses órgãos.

Figura 44 – Análise de PCA para os extratos metanólicos no modo negativo



Fonte: O autor (2026).

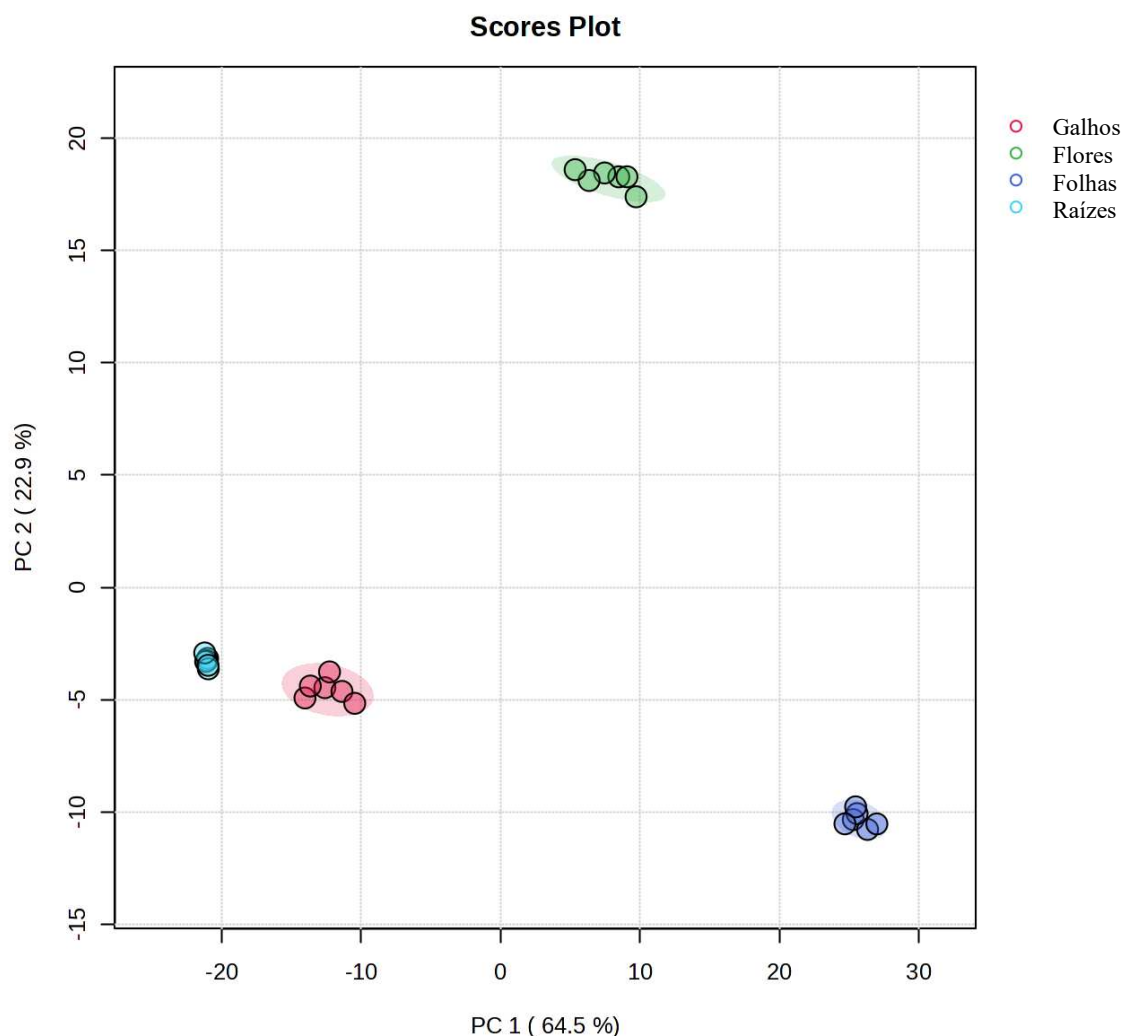
Pela PCA é possível perceber que os galhos e as raízes possuem composição química mais semelhante, tanto ao se considerar a componente PC1 quanto a PC2. Já as flores e folhas apresentaram composição química mais distante dos demais órgãos. Porém, apresentaram alguma semelhança entre si, principalmente considerando a PC1. Esses dados corroboram o observado na análise de HCA, onde os galhos e raízes também foram agrupados, e a menor distância euclidiana indica maior similaridade química, enquanto flores e folhas foram agrupadas, porém, com uma maior distância euclidiana, indicando que não são tão similares quanto os outros dois órgãos. O *heatmap* também indicava esse comportamento, em que os compostos mais importantes para diferenciar os órgãos foram compostos presentes ou nas folhas ou nas flores e, em alguns casos, em ambos.

No Apêndice C têm-se as figuras da PCA com os CQ (controle de qualidade). Os CQ se mostraram bem agrupados, o que indica boa reprodutibilidade das análises. A PCA também

mostra que o grupo CQ ficou mais próximo às folhas e flores ao se considerar a componente PC1, porém, pela componente PC2 ficou entre os dois grupos, mostrando que o perfil das amostras CQ ficou mais próximo a esses dois órgãos.

No modo positivo (Figura 45), o perfil de separação ficou semelhante, porém com galhos e raízes mais próximos em relação a PCA no modo negativo, enquanto folhas e flores mais separadas, porém com leve semelhança ao se considerar a componente PC1. Porém, no modo positivo, os extratos das flores ficaram mais separados do restante das amostras, principalmente se considerar a componente PC2. A PCA contendo os CQ está no apêndice C.

Figura 45 – Análise de PCA para os extratos no modo positivo

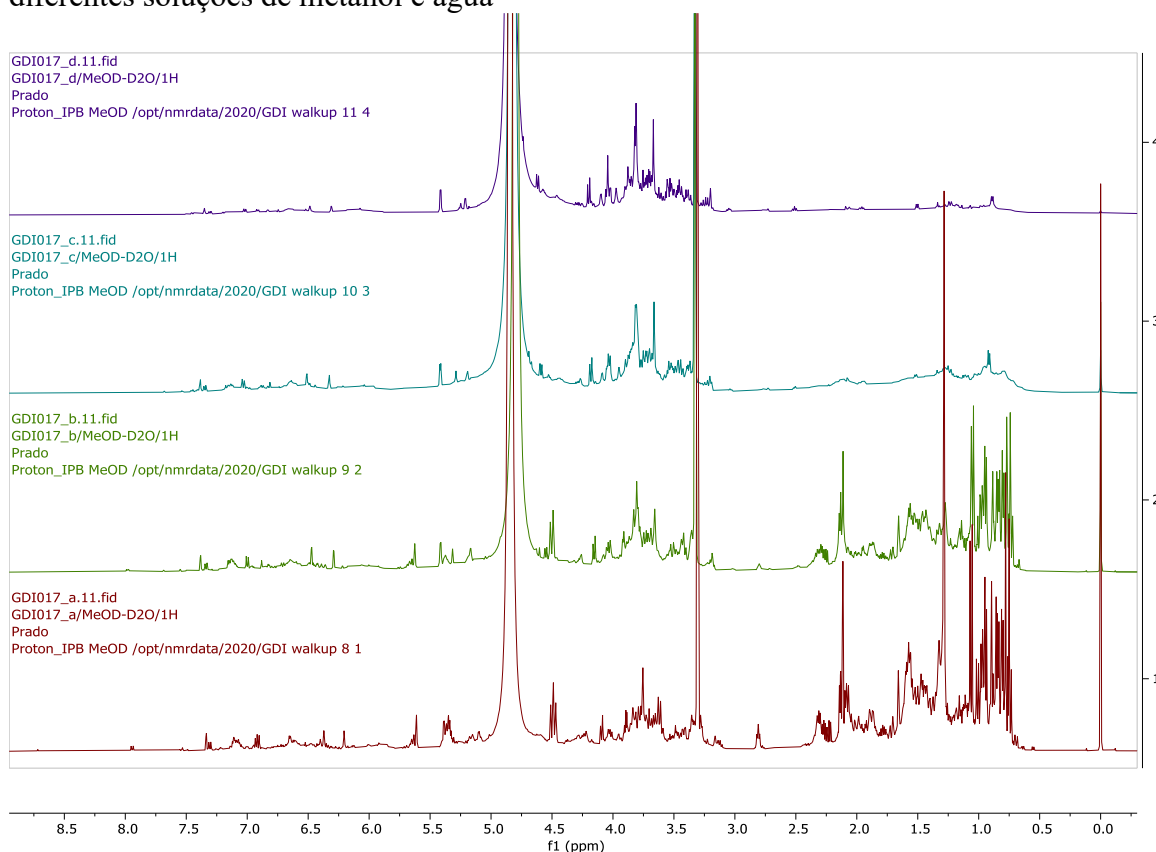


Fonte: O autor (2026).

5.4.2 Análise comparativa dos extratos por RMN

Primeiramente, foi determinado qual seria o melhor solvente extrator. Os extratos das folhas foram obtidos em 100% de metanol e em soluções metanol:água de 75%, 50% e 25%. A Figura 46 mostra os espectros sobrepostos.

Figura 46 – Espectro de RMN de ^1H obtidos para os extratos das folhas extraídos em diferentes soluções de metanol e água



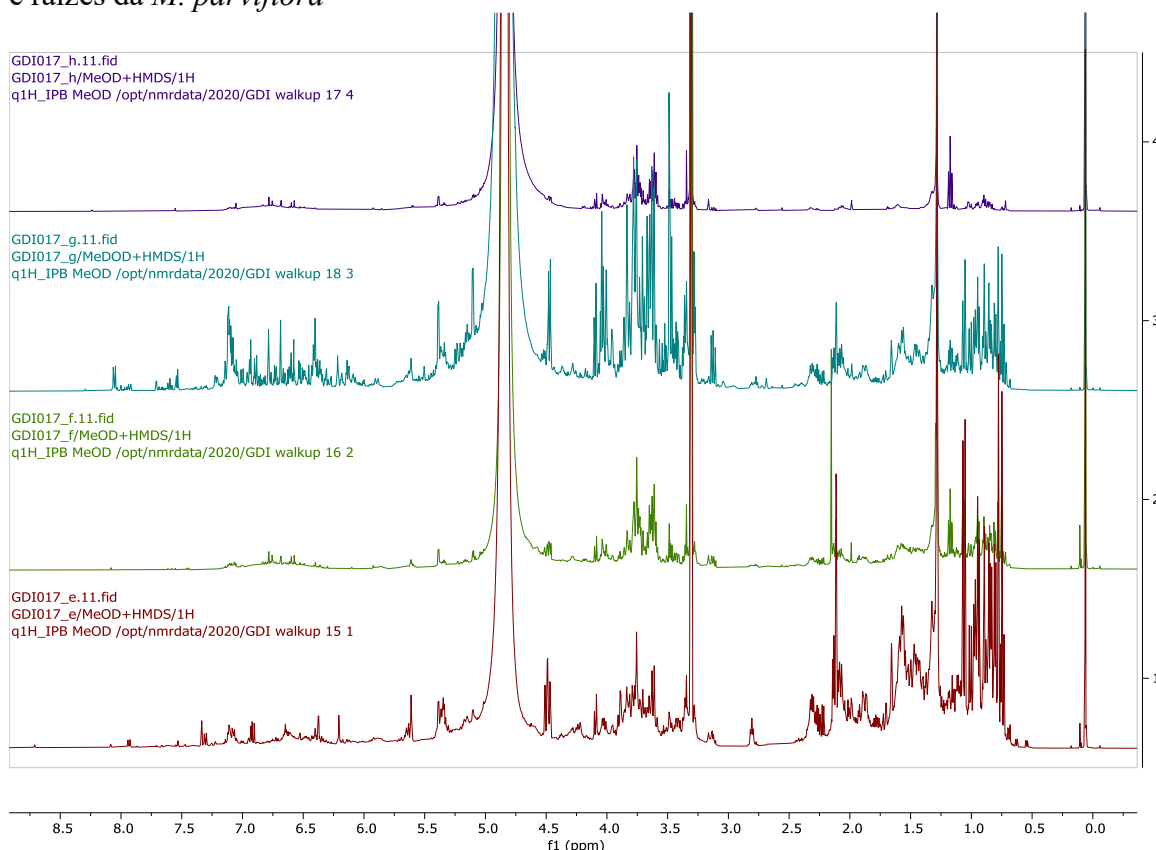
Nota: GDI017_a: folhas; GDI017_b: galhos; GDI017_c: flores; GDI017_d: raízes

Fonte: O autor (2026).

Pelos espectros é possível perceber que o extrato obtido apenas com metanol (GDI017_a) traz um perfil mais amplo da composição química. Ao se adicionar água na solução extratora, acabaram por se concentrar mais sinais na região entre 3,0 e 4,5 ppm, que é uma região característica de açúcares, já os extratos obtidos com mais metanol ou somente metanol, foi capaz de extrair os compostos nessa região, mas também se observa um aumento de sinais ou sinais mais intensos nas regiões mais blindadas do espectro (0,5 e 2,0 ppm) e na região característica de compostos fenólicos (6,0 e 7,5 ppm).

Assim, os extratos foram obtidos apenas com metanol, e a Figura 47 traz os espectros sobrepostos para os quatro órgãos da planta, o espectro do branco, obtido apenas com o solvente, e o padrão interno HMDSO encontra-se no Apêndice.

Figura 47 – Espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 500 MHz) obtido para as folhas, flores, galhos e raízes da *M. parviflora*



Nota: GDI017_e: folhas; GDI017_f: galhos; GDI017_g: flores; GDI017_h: raízes

Fonte: O autor (2026).

Pela análise do espectro, é possível perceber que o extrato das folhas se mostrou mais rico em compostos de baixa polaridade, por possuir mais sinais com alta intensidade na região entre 0,5 e 2,5 ppm. Região característica de metilas (CH_3), grupo CH_2 e CH não ligados a átomos eletronegativos, que são característicos de terpenos, ácidos graxos e outras estruturas similares. O extrato das flores também apresentou alguns sinais intensos nessa região, porém menos intensos do que em relação às folhas.

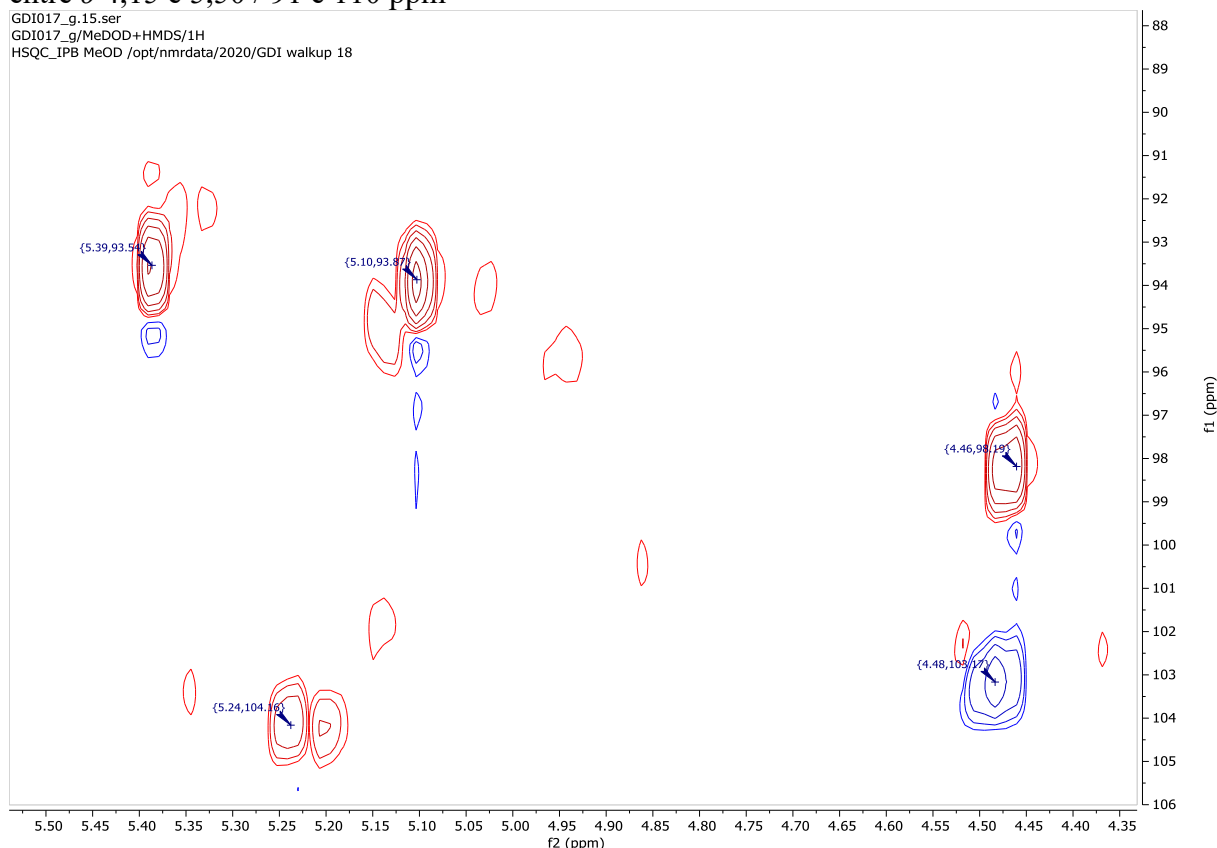
Já o extrato das flores apresentou picos intensos na região comum a açúcares, entre 3,0 e 4,0 ppm, além de vários sinais na região comum a carbonos fenólicos (6,0 e 7,5 ppm). Já os galhos e raízes apresentaram extratos com sinais menos intensos, o que mostra que são órgãos em que o rendimento dos extratos é menor que folhas e flores, e as principais regiões para os

galhos foram a região comum de açúcares e sinais na região mais blindada do espectro (entre 0,5 e 1,0 ppm), com poucos sinais em outras regiões, as raízes apresentaram resultados similares, porém com sinais menos intensos que os galhos.

Pelos espectros é possível perceber que os resultados são similares aos obtidos por CL-EM. Os extratos dos galhos e das raízes são os mais similares entre si, e as folhas e as flores apresentam alguma similaridade, porém com a diferença de que as flores apresentam maior concentração de compostos fenólicos e açúcares e as folhas apresentam mais compostos de baixa polaridade. Também é possível associar o maior rendimento a flores e folhas do que aos demais órgãos, como foi apontado nos experimentos por CLAE-EM; porém, na espectrometria de massas, há também a questão do tipo de ionização: compostos ionizam de forma diferente a depender da técnica utilizada. Já o RMN é uma técnica em que não há essa dependência, uma vez que o espectro é baseado na presença do isótopo ^{13}C do carbono.

Utilizando os mapas de contorno HSQC, é possível atribuir alguns sinais a algumas classes de compostos presentes nos extratos. Na Figura 48, tem-se uma expansão do HSQC do extrato das flores. Os pares de sinais para o ^1H e ^{13}C δ 5,39 / δ 93,54 ppm; δ 5,10 / δ 93,87 ppm e δ 4,46 / δ 98,19 ppm correspondem aos carbonos anoméricos de açúcares livres, respectivamente, sacarose, α -glicose e β -glicose (Goksen, 2023). Como já discutido, principalmente o extrato das flores se mostrou rico em açúcares com vários sinais nas regiões entre δ 3,0 e 5,0 ppm. O par de sinais em δ 5,24/ δ 104,16 ppm corresponde à β -rhamnose ligada a um flavonoide, como a própria quercitrina isolada no capítulo 4. O par de sinais em δ 4,48 / δ 103,17 não pode ser também atribuído a um carbono anomérico, por se tratar de um CH_2 , como indicado pela coloração azul.

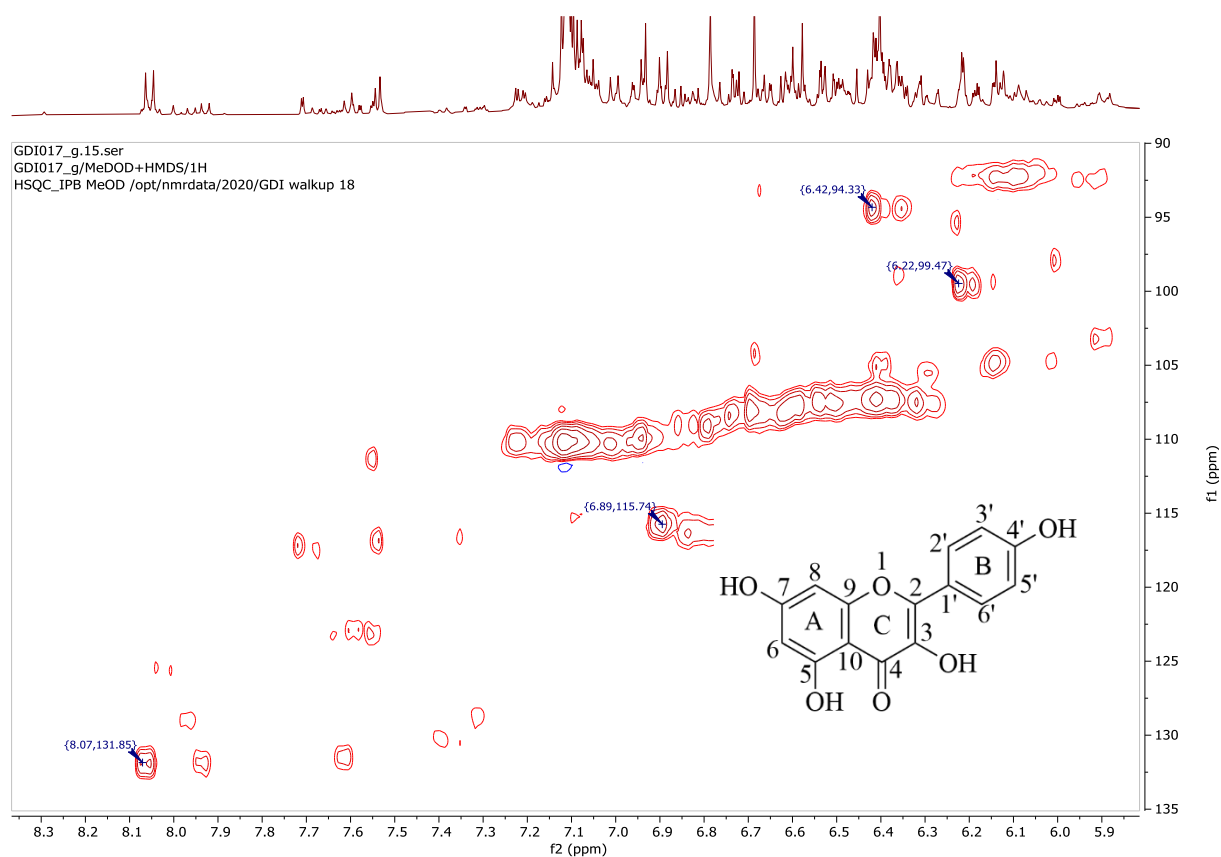
Figura 48 – Expansão do mapa de contorno HSQC do extrato metanólico das flores na região entre δ 4,15 e 5,50 / 91 e 110 ppm



Fonte: O autor (2026)

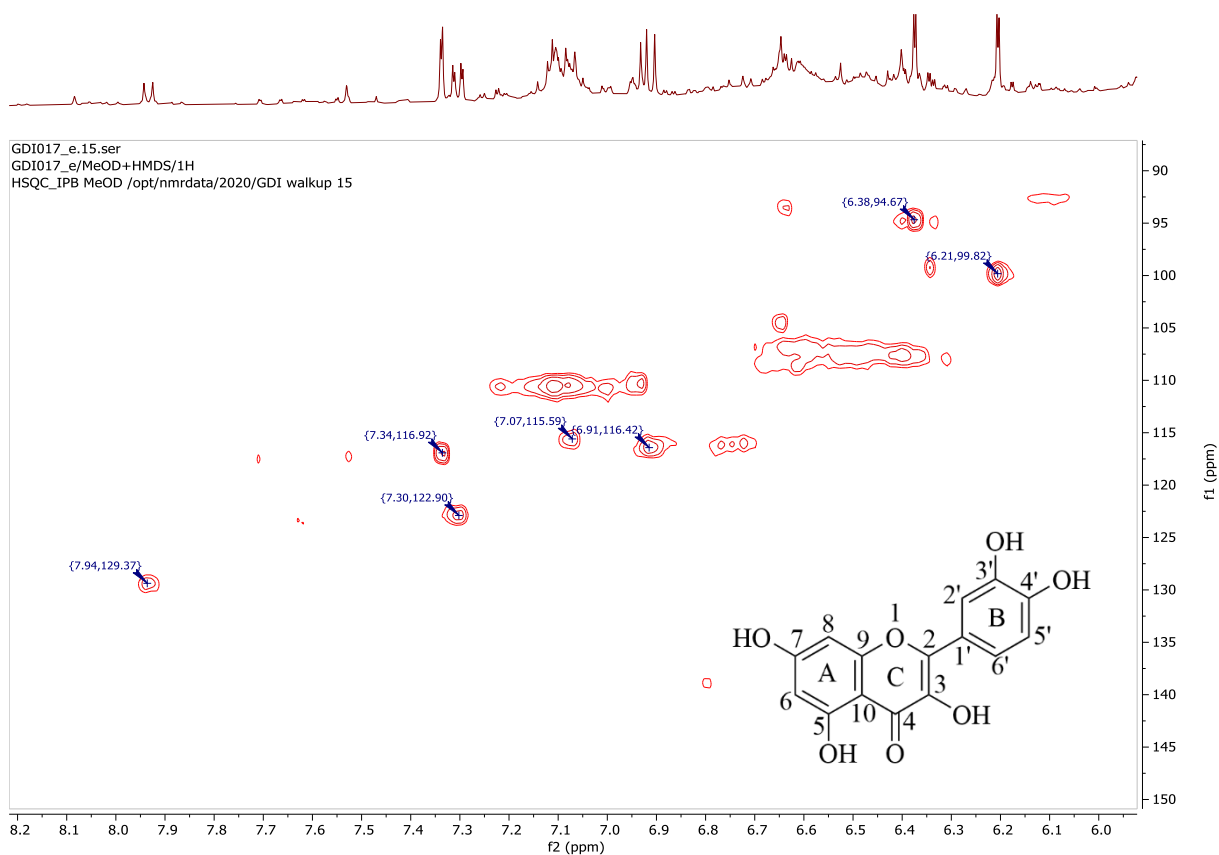
Na Figura 49 tem-se outra expansão do espectro HSQC das flores. Os sinais em δ 6,42 / δ 94,33 e δ 6,22 / δ 99,47 correspondem, respectivamente, aos carbonos C6 e C8 de flavonoides. Os sinais em δ 8,07 / δ 131,85 e δ 6,89 / δ 115,74 correspondem a sinais de anéis aromáticos para substituídos, que podem ser oriundos de flavonoides, como o canferol, que foi anotado no capítulo 4. Como essa parte da molécula é simétrica, os sinais dos pares de carbonos 2' e 6', 3' e 5' são iguais, pois o anel possui livre rotação por estar ligado ao anel B do flavonoide por uma ligação simples. No sinal δ 8,06 é possível observar o duplete formado pelo acoplamento orto no anel, porém, ampliando a região no espectro de ^1H , é possível perceber a formação de um duplo duplete ($J = 2,1$ e $6,85$ Hz), devido ao acoplamento meta (a ampliação encontra-se no apêndice D). Na Figura 49 tem-se a estrutura do canferol e as numerações comumente usadas em flavonoides.

Figura 49 – Expansão do mapa de contorno HSQC do extrato metanólico das flores na região entre δ 5,9 e 8,3 / 90 e 135 ppm



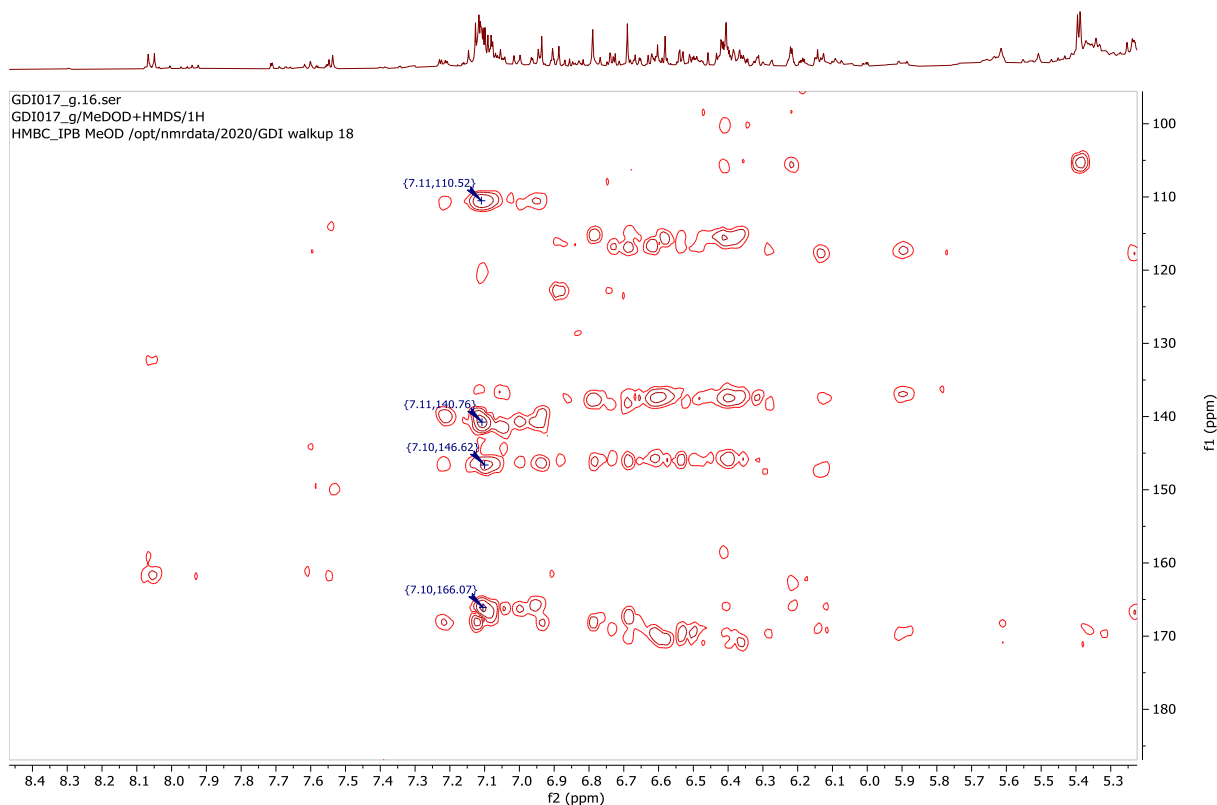
Na mesma região, porém no espectro referente aos extratos das folhas (Figura 50), é possível atribuir outros sinais característicos de flavonoides, porém dissustituídos no anel B, como a quercetina e seus derivados glicosilados. Os sinais já citados para os carbonos C6, C8, C2', C3', C4', C5' e C6' também estão presentes, porém é possível destacar os sinais em δ 7,34 / δ 116,92; δ 7,07 / δ 115,59 e δ 7,3 e δ 112,90 que são correspondentes respectivamente aos C2', C5' e C6', sendo possível observar o duplo duplete nos pares sinal de ^1H δ 7,3, correspondente ao acoplamento orto ($J = 2,2$ Hz) com o H5' e meta com H2' ($J = 8,4$). Os valores de J foram calculados no espectro de ^1H que se encontra no apêndice D.

Figura 50 – Expansão do mapa de contorno HSQC do extrato metanólico das folhas na região entre δ 6,0 e 8,2 / 90 e 150 ppm



Usando o mapa de contorno HMBC é possível atribuir alguns sinais a derivados de ácido gálico, ou alguns galotaninos, a região em torno de δ 110,52, pode ser relacionada ao C1 da estrutura do ácido gálico ou galoil, enquanto a região em torno de δ 140,76, é correspondente ao C4, a região de δ 146,62 aos C3 e C5 e pôr fim a região de δ 166,07, ao carbono carbonílico.

Figura 51 – Expansão do mapa de contorno HMBC do extrato metanólico das flores na região entre δ 5,3 e 8,4 / δ 100 e 180 ppm

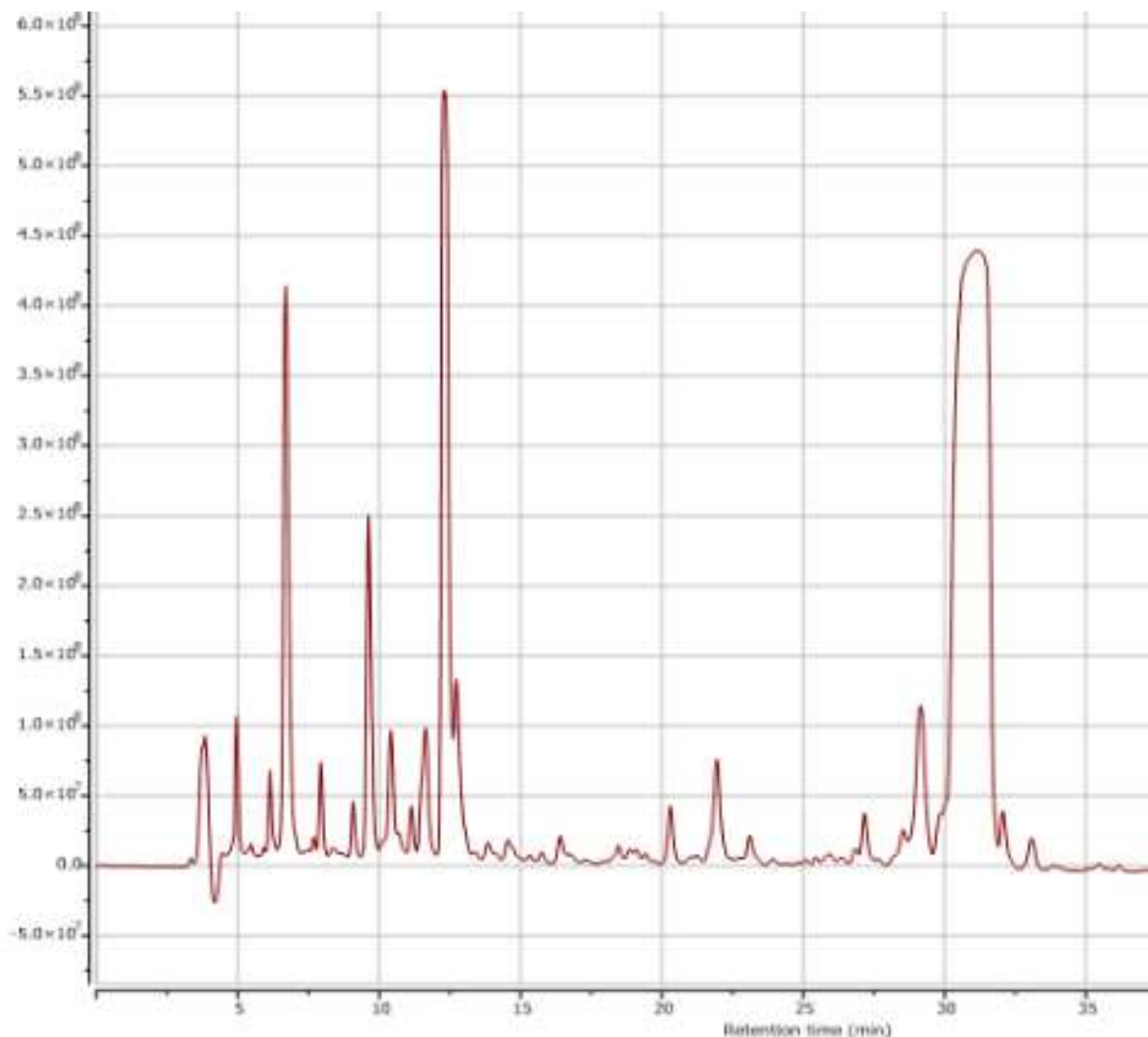


5.4.3 Isolamento e elucidação do composto II

A partição em acetato de etila das flores foi escolhida para fazer o isolamento de compostos, devido à presença de um composto nitrogenado, atribuído pela molécula desprotonada com m/z par na análise de espectrometria de massas com ionização por eletrospray. Como compostos nitrogenados ainda não haviam sido reportados para a espécie e para o gênero, buscou-se o isolamento do composto.

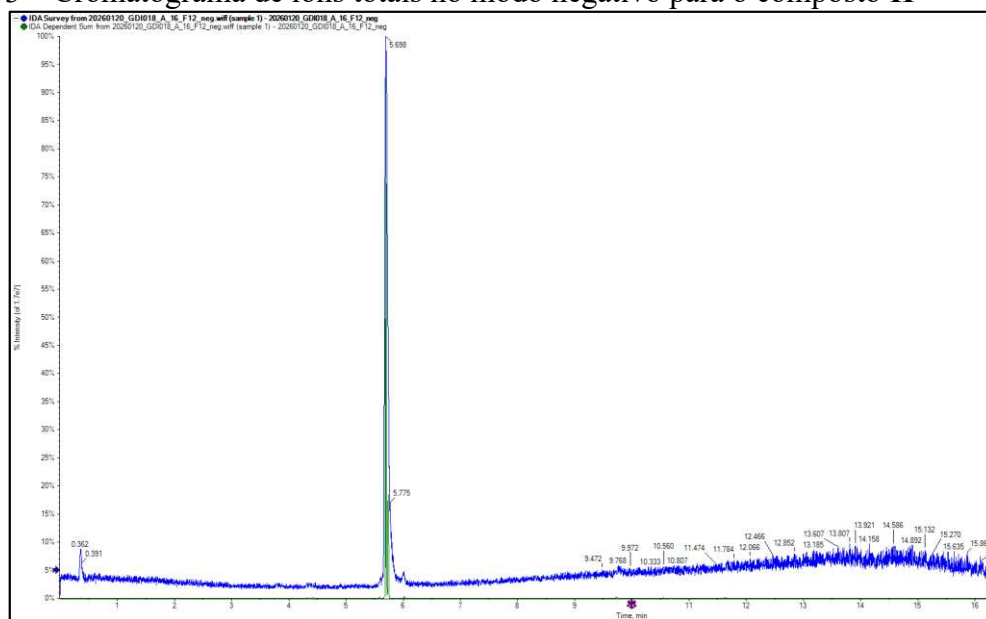
A coluna em Sephadex gerou 35 frações (B1-1 a B1-35), após o monitoramento por CCD. A fração 16 foi analisada por espectrometria de massas e apresentou o m/z 582 ($[M - H]^-$) no modo negativo e 606 ($[M + Na]^+$) no modo positivo (Figura E1), indicando tratar-se do composto nitrogenado. A fração foi então submetida a uma análise por cromatografia líquida de alta eficiência para uma tentativa de isolar o composto com tempo de retenção próximo a 31 minutos. A Figura 52 mostra o cromatograma.

Figura 52 – Cromatograma da fração B1-16



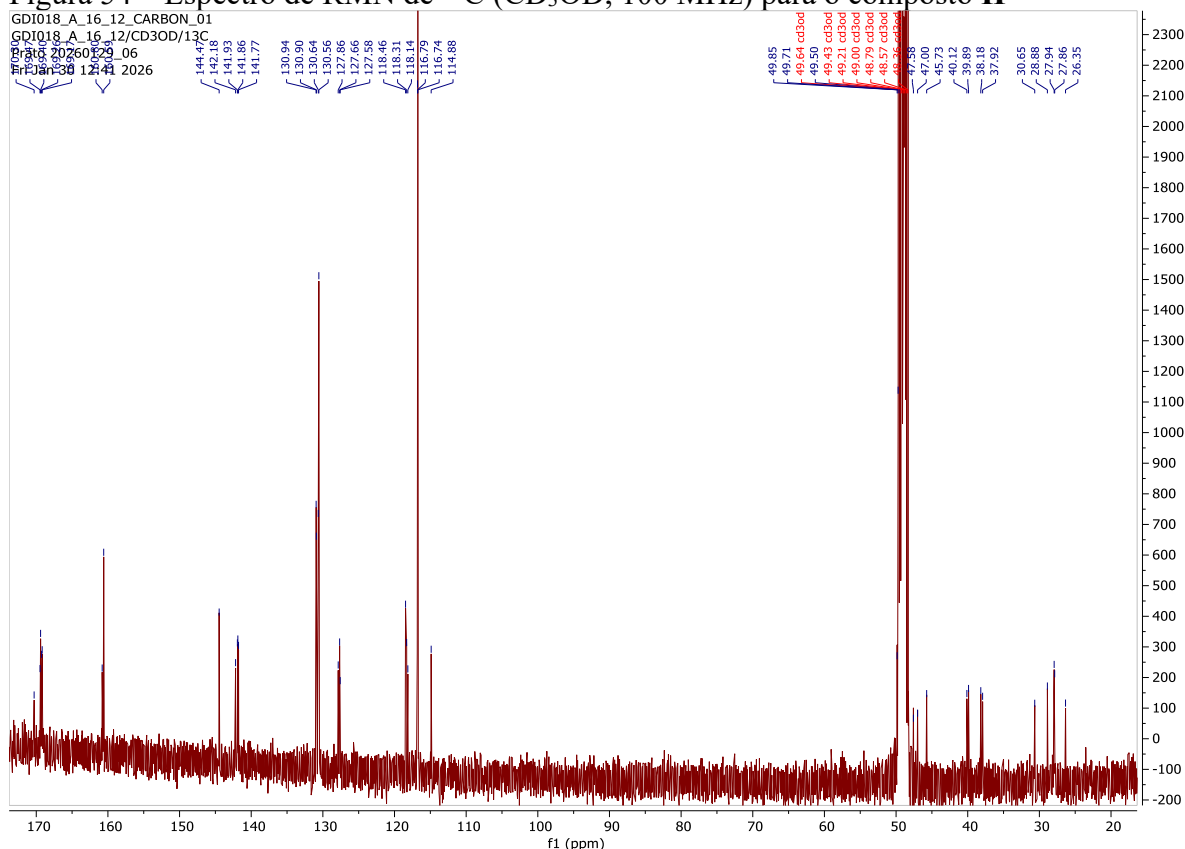
Os picos mais intensos foram coletados e injetados em um espectrômetro de massas, e o pico com t_R em torno de 30 minutos apresentou o m/z 582 ($[M - H]^{-1}$). Assim, o composto coletado se apresentou como um pó branco, solúvel em metanol. Ao ser analisado por CLAE-EM com ionização por eletrospray, apresentou um único pico (Figura 53), indicando ser um composto puro. Em seguida, a amostra foi submetida à análise de RMN de ^{13}C (Figura 54) para a elucidação estrutural do composto **II**.

Figura 53 – Cromatograma de íons totais no modo negativo para o composto **II**



Fonte: O autor (2026).

Figura 54 – Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz) para o composto **II**



Fonte: O autor (2026).

No espectro de ^{13}C , apareceram mais sinais de carbono do que o esperado para as possíveis fórmulas moleculares calculadas para o m/z 582 no modo negativo. Utilizando a

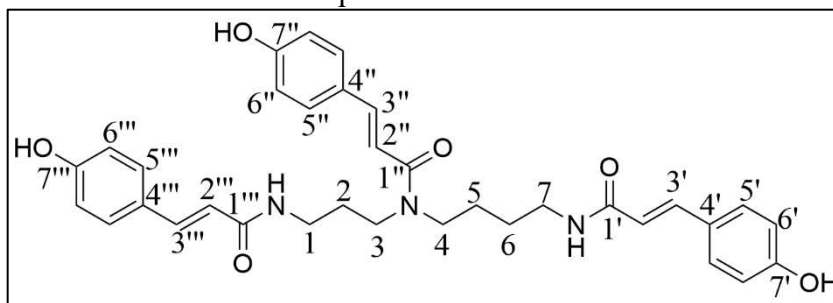
espectrometria de massas e o RMN, foi atribuída ao composto a estrutura do composto tricoumaroil-espermidina.

O número de sinais observados no RMN de ^{13}C além do esperado, pode indicar a presença de uma mistura de isômeros. A estrutura possui três ligações duplas que podem estar na configuração E ou Z, o que indica a possibilidade de oito diferentes isômeros ou diastereômeros, como, por exemplo, uma estrutura *EEE* ou *ZZZ*. Além disso, outro indício é a duplicidade de sinais. Na Figura 55, a estrutura está atribuída às três duplas na conformação Z. A determinação da estereoquímica absoluta só seria possível com as constantes de acoplamento no espectro de ^1H ; porém, como os sinais se sobrepuseram, não foi possível essa atribuição. O espectro de ^1H encontra-se no Apêndice E.

Um trabalho realizado por Mori *et al.*, (2019) analisou o RMN dos oito isômeros a fim de verificar as diferenças nos sinais e chegar a uma metodologia para diferenciá-los, no trabalho foi testada a estabilidade desses compostos frente à exposição à luz, e verificou-se que ocorre isomerização ao serem expostos à luz. Além disso, no trabalho foi realizada uma corrida cromatográfica com os oito isômeros e alguns coeluíram. Assim, ou foi isolada uma mistura de isômeros ou ocorreu isomerização do composto após o isolamento.

A Tabela 15 traz a tabela com os valores de deslocamento de ^{13}C para o composto obtidos neste trabalho e os dados reportados na literatura por Yang *et al.*, (2012), por ser uma mistura, os sinais correspondentes ao grupo espermidina estão duplicados, já os sinais correspondentes aos grupos coumaroils estão descritos como a faixa em que aparecem, uma vez que são esperados até seis sinais para cada um dos carbonos. Na Figura 55 tem-se as respectivas numerações de cada carbono.

Figura 55 – Estrutura do tricoumaroil-espermidina



Fonte: O autor (2026)

Tabela 15 – Dados de RMN ^{13}C obtidos para o tricoumaroil-espermidina

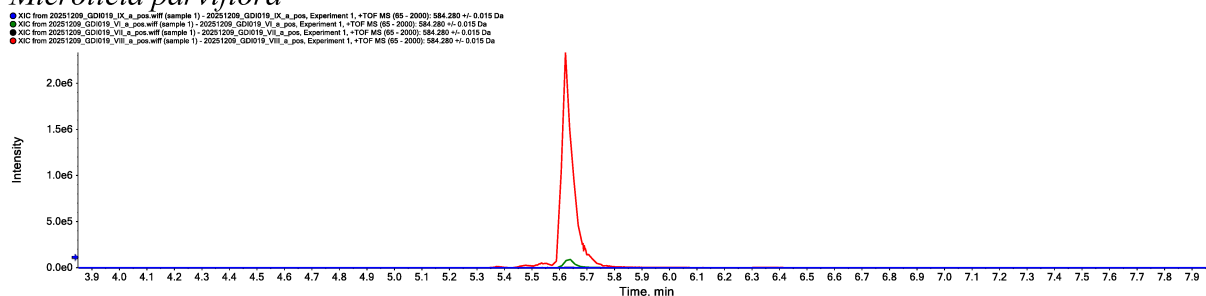
Posição	δ ppm ^{13}C MeOD 100 MHz	δ ppm ^1H MeOD 125 MHz
1	37,92 / 38,18	37,9 / 38,2
2	28,88 / 30,65	28,9 / 30,6
3	45,73 / 47,0	45,7 / 47,0
4	47,58 / 49,5	47,6 / 49,0
5	26,35 / 27,86	26,3 / 27,8
6	27,94 / 28,88	27,9 / 28,0
7	38,89 / 40,12	39,9 / 40,1
1'	169,17 - 170,3	169,2 - 169,4
2'	118,14 - 118,46	118,2 - 118,5
3'	140,17 - 142,18	141,8 - 144,4
4'	127,58 - 127,86	127,6 - 127,9
5'	130,56 - 130,91	130,6 - 130,9
6'	116,74 - 116,79	116,7 - 116,8
7'	160,59 - 160,80	160,5 - 160,7

Fonte: O autor (2026)

Esses compostos são relacionados às flores de diversas espécies, principalmente nas anteras e no pólen. Alguns autores acreditam que esses compostos auxiliam na defesa contra radiação Uv-vis, uma vez que eles apresentam absorbância máxima em 315 – 330 nm, combinando com flavonóis presentes nas flores que absorvem em 354 nm, são capazes de ter proteção UV-A e UV-B. Também acreditam que possam tornar o pólen mais atrativo para polinizadores, atuam na estrutura do pólen e também auxiliam na proteção contra microrganismos, uma vez que esses compostos já foram relatados com essas atividades (Vogt, 2018).

No presente trabalho o composto também foi encontrado em maior quantidade nas flores, e em menor concentração nas folhas. Nos galhos e raízes o composto não foi identificado como pode ser visto no cromatograma de íon extraído para os quatro órgãos (Figura 56). Uma vez que esses compostos são normalmente reportados em flores, a presença do composto nas folhas pode ser por contaminação no manuseio durante o processo de colheita, secagem, uma vez que as flores são pequenas e distribuídas no meio das folhas da espécie como pode ser visto na Figura 57.

Figura 56 – Cromatograma de íon extraído para o m/z 584 nos extratos dos quatro órgãos da *Microlicia parviflora*



Nota: Vermelho: Extrato das flores; Verde: Extrato das folhas

Fonte: O autor (2026).

Figura 57 – Foto de ramos de *Microlicia parviflora* (Melastomataceae) em período de floração



Fonte: O autor (2026)

5.4.4 Atividades biológicas

5.4.4.1 Atividade antibacteriana

Os extratos metanólicos e suas partições foram avaliados contra uma bactéria Gram-positiva (*Bacillus subtilis*) e uma Gram-negativa (*Aliivibrio fisheri*). Os resultados foram expressos em inibição de crescimento dos microrganismos. Assim, valores próximos a 100% indicam que a amostra foi capaz de impedir o crescimento (Tabela 16).

Tabela 16 – Resultados obtidos para avaliação antibacteriana dos extratos de *Microlicia parviflora*

Amostras	<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Aliivibrio fischeri</i>	
	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	500 $\mu\text{g mL}^{-1}$	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	500 $\mu\text{g mL}^{-1}$
EMF	103	116	37,36	100
EMFI	– 56	114	31,44	100
EMG	– 6	113	21,34	100
EMR	– 20	5	– 1,55	100
EHMF1	– 9	109	35,17	100
PHFI	103	97	94,89	100
PAEFI	47	131	29,23	100
PAFI	22	– 13	12,49	100
PAD	30	– 2	13,47	100
PMD	56	84	12,47	100

Nota: O controle cloranfenicol foi testado nas concentrações de 1 e 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, inibindo 96,16 e 99,94% respectivamente; EMF: extrato metanólico das folhas; EMG: galhos; EMFI: flores; EMR: raízes; EHMF1: extrato hidrometanólico das flores; PHFI: partição em heptano das flores; PAEFI: partição em acetato de etila das flores; PAFI: partição aquosa das flores; PAD: partição aquosa após filtração em Diaion HP20; PMD: partição metanólica após filtração em Diaion HP20.

Fonte: O autor (2026).

Em relação à bactéria *A. fischeri*, na concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ todas as amostras testadas foram ativas, porém na menor concentração a amostra mais ativa foi a partição em heptano das flores (PHFI), com aproximadamente 98% de inibição. Já para a *B. subtilis*, na menor concentração somente o extrato em metanol das folhas (EMF) e novamente a PHFI apresentaram alta inibição, já na maior concentração, os extratos das flores e galhos também apresentaram inibição próxima a 100% e a partição em acetato de etila (PAEFI).

No Capítulo 4, os extratos e partições já haviam apresentado resultados promissores contra diferentes espécies da cavidade oral; porém, os extratos foram obtidos diferentemente dos estudados nesse capítulo, em que, no Capítulo 4, os extratos ativos foram obtidos em hexano e, como já discutido, normalmente concentram substâncias que tendem a ser ativas contra bactérias devido às características da estrutura celular desses microrganismos. No capítulo presente, os extratos foram obtidos ou em metanol ou em solução metanol:água (8:2), e ainda assim foram observados resultados promissores, esses resultados reforçam o potencial que a espécie possui como uma possível fonte de novos compostos ativos.

5.4.4.2 Inibição do crescimento de células de câncer colorretal e de próstata

Os extratos e partições foram testados contra os dois tipos de células de câncer. Os resultados são apresentados em termos de viabilidade celular, assim, resultados próximos de

0% indicam que as amostras inibiram o crescimento, e amostra perto de 100% indica que não houve inibição do crescimento (Tabela 17).

Tabela 17 – Resultados de viabilidade celular para as células de câncer de colorretal e de próstata

Amostras	Câncer de Colo ¹ (%)	Câncer de próstata ¹ (%)
EMF	43	54
EMFI	37	53
EMG	25	47
EMR	9	28
EHMFI	30	62
PHP	36	47
PAEFI	27	48
PAFI	24	47
PAD	102	98
PMD	0	26

Nota: ¹: Concentração 50 µg mL⁻¹; EMF: extrato metanólico das folhas; EMG: galhos; EMFI: flores; EMR: raízes; EHMFI: extrato hidrometanólico das flores; PHFI: partição em n-heptano das flores; PAEFI: partição em acetato de etila das flores; PAFI: partição aquosa das flores; PAD: partição aquosa após filtração em Diaion HP20; PMD: partição metanólica após filtração em Diaion HP20.

Fonte: O autor (2026).

Algumas amostras se mostraram ativas contra as células testadas. Em relação aos extratos metanólicos, o melhor resultado foi do extrato obtido das raízes (EMR), que apresentou uma viabilidade de 9% para células de câncer colorretal e 28% para as de próstata. Já em relação ao extrato hidrometanólico das flores e partições, todas foram ativas com exceção da partição aquosa residual da extração com Diaion HP20 que apresentou viabilidade de 102%. Essa partição é esperado ser uma partição rica em açúcares e ácidos orgânicos, o que pode indicar a fraca atividade, já a partição metanólica pós-extração com Diaion HP20 foi a mais ativa, essa fração é esperado ser uma fração rica em compostos fenólicos que ficaram na fração aquosa, pela espectrometria de massas foi possível verificar que a fração se mostrou rica em derivados de ácido gálico, taninos e flavonoides glicosilados, a tabela com a anotação de alguns dos compostos e o TIC da amostra estão no apêndice F.

5.4.4.3 Atividade contra fitopatógenos importantes em lavouras

Os extratos foram avaliados quanto ao potencial biológico contra espécies causadoras de doenças em lavouras de trigo, tomate, batata, entre outros cultivares. Os resultados foram

dados em inibição de crescimento (Tabela 18), assim, valores próximos de 100% indicam melhor atividade, próximos a 0% ou negativos indicam que a amostra não foi capaz de impedir o crescimento dos patógenos.

Tabela 18 – Atividades biológicas contra fitopatógenos

Amostras	<i>Zymoseptoria tritici</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Phytophthora infestans</i>
EMF	59,7	73,7	94,6
EMFl	60,2	39,5	90,8
EMG	57,6	32,9	91,2
EMR	60,5	21,3	93,2
EHMFl	62,1	36,6	86,5
PHFl	46,5	98,7	-50,1
PAEFl	63,2	20,0	79,8
PAFl	60,2	- 3,6	86,1
PAD	4,9	- 11,4	-14,3
PMD	64,4	12,6	70,7
Terbinafina	82,7	105,5	94,2
Epoxiconazol	75	100,1	21,6
Dodina	97,4	98,3	95,6
Piraclostrobina	91,8	104,7	100

Nota: Concentração testadas: 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$; EMF: extrato metanólico das folhas; EMG: galhos; EMFl: flores; EMR: raízes; EHMFl: extrato hidrometanólico das flores; PHFl: partição em n-heptano das flores; PAEFl: partição em acetato de etila das flores; PAFl: partição aquosa das flores; PAD: partição aquosa após filtração em Diaion HP20; PMD: partição metanólica após filtração em Diaion HP20

As amostras foram mais ativas contra o oomiceto *P. infestans*, os extratos das quatro partes da planta apresentam valores de inibição acima de 90%, valores próximos aos controles testados. Para o fungo *B. cinerea*, o melhor resultado foi da partição em hexano (PHFl) obtida do extrato hidrometanólico, com inibição de 98,7%, próxima aos controles utilizados. Em relação ao *Z. tritici*, a maioria das amostras testadas apresentaram valores em torno de 60% de inibição, não sendo tão ativas quanto em relação aos outros dois patógenos testados.

Espécies de *Microlicia* já foram testadas contra fungos, porém os trabalhos foram contra espécies que infectam humanos, esse é o primeiro trabalho contra espécies relacionadas a cultivares.

5.5 Conclusões

Através de análises estatísticas como as PCA e HCA foi possível verificar como os diferentes órgãos variam sua composição química. Em ambas as análises a composição química das raízes e galhos se mostrou mais semelhante entre si do que em relação aos demais órgãos, enquanto folhas e flores apresentaram composição química mais distinta, porém com algumas semelhanças entre si. Utilizando os dados de RMN dos extratos, também foi possível traçar alguns comparativos entre os órgãos, flores apresentaram uma composição mais rica em açúcares e compostos fenólicos, enquanto folhas apresentaram composição mais rica em ácidos graxos e terpenos que os demais órgãos, raízes e galhos apresentaram novamente composição química similar, porém mais pobre que os demais órgãos.

Além da comparação dos metabólitos presentes nos diferentes órgãos, também foram realizados ensaios biológicos para os extratos metanólicos obtidos similarmente aos extratos preparados para a metabolômica, e para os extratos e partições preparados para o trabalho de isolamento.

Algumas amostras mostraram potencial antibacteriano, principalmente contra a *Bacillus subtilis*, onde o extrato metanólico das folhas e a partição em *n*-heptano inibiram em torno de 100% o crescimento bacteriano na menor concentração testada ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$). Em relação aos fitopatógenos, os melhores resultados foram contra o oomiceto *Phytophthora infestans*, em que os extratos metanólicos dos quatro órgãos inibiram o crescimento próximo a 100% na concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. Por fim, em relação às atividades anticâncer, contra células de câncer colorretal, o extrato metanólico das raízes e uma fração rica em taninos hidrolisáveis foram capazes de inibir o crescimento das células na concentração de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$.

No trabalho também foi isolada uma mistura de isômeros do tricoumaroil-espermidina das flores. É a primeira vez que esse composto é reportado para a espécie e para o gênero. Além disso, é a primeira vez que a espécie é avaliada para as atividades biológicas testadas.

6 REFERÊNCIAS

- AABY, K.; MAZUR, S.; NES, A.; SKREDE, G. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. **Food Chemistry**, vol. 132, n. 1, p. 86–97, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.037>.
- ABUBAKAR, A. R.; HAQUE, M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, vol. 12, n. 1, 2020. DOI: https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- ABU-REIDAH, I. M.; ALI-SHTAYEH, M. S.; JAMOUS, R. M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A. HPLC-DAD-ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. **Food Chemistry**, vol. 166, p. 179–191, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.011>.
- ABU-REIDAH, M. I.; ALI-SHTAYEH, M. S.; JAMOUS, R. M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A. Comprehensive metabolite profiling of *Arum palaestinum* (Araceae) leaves by using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Food Research International**, vol. 70, p. 74–86, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.023>.
- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Vol. 456. Carol Stream, IL, USA: Allured publishing corporation, 2007.
- AKANDE, T.; KHATIB, M.; OLA SALAWU, S.; AFOLABI AKINDAHUNSI, A.; DI CESARE MANNELLI, L.; GHELARDINI, C.; BALLI, D.; CECCHI, L.; MULINACCI, N. 1H NMR and HPLC-DAD-MS for the characterization of ellagitannins and triterpenoids of less investigated *Anogeissus leiocarpus* DC (Combretaceae) stem bark. **Food Chemistry**, vol. 375, n. December 2021, p. 131813, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131813>.
- ALENCAR, A.; SHIMBO, J. Z.; LENTI, F.; MARQUES, C. B.; ZIMBRES, B.; ROSA, M.; ARRUDA, V.; CASTRO, I.; FERNANDES, M.; ALENCAR, I.; PIONTEKOWSKI, V.; RIBEIRO, V. Savanna Native Vegetation Using Landsat Data Processed in the Google Earth Engine Platform, vol. 2017, 2020.

AMMAR, S.; KELEBEK, H.; ZRIBI, A.; ABICHO, M.; SELLI, S.; BOUAZIZ, M. LC-DAD/ESI-MS/MS characterization of phenolic constituents in Tunisian extra-virgin olive oils: Effect of olive leaves addition on chemical composition. **Food research international (Ottawa, Ont.)**, Canada, vol. 100, n. Pt 3, p. 477–485, Oct. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.001>.

ANTINARELLI, L. M. R.; PINTO, N. C.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial activity of some Brazilian plants, with particular reference to *Casearia sylvestris*. **scielo**, vol. 87, 2015.

ARAUJO, N. M. P.; ARRUDA, H. S.; DOS SANTOS, F. N.; DE MORAIS, D. R.; PEREIRA, G. A.; PASTORE, G. M. LC-MS/MS screening and identification of bioactive compounds in leaves, pulp and seed from *Eugenia calycina* Cambess. **Food Research International**, vol. 137, n. March, p. 109556, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109556>.

ASBAHANI, A. El; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; ADDI, E. H. A.; CASABIANCA, H.; MOUSADIK, A. El; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI, A. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 483, nos. 1–2, p. 220–243, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>.

BERNARDINI, S.; TIEZZI, A.; LAGHEZZA MASCI, V.; OVIDI, E. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. **Natural Product Research**, vol. 32, n. 16, p. 1926–1950, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1356838>.

BOMFIM, E. M. S.; COELHO, A. A. O. P.; SILVA, M. C.; MARQUES, E. J.; VALE, V. L. C. Phytochemical composition and biological activities of extracts from ten species of the family Melastomataceae Juss. vol. 82, p. 1–6, 2022.

BOMFIM-PATRÍCIO, M. C.; SALATINO, A.; MARTINS, A. B.; WURDACK, J. J.; SALATINO, M. L. F. Flavonoids of *Lavoisiera*, *Microlicia* and *Trembleya* (Melastomataceae) and their taxonomic meaning. **Biochemical Systematics and Ecology**, vol. 29, n. 7, p. 711–726, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(00\)00116-2](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(00)00116-2).

BORGHETTI, F.; SILVA, L. de C. R.; PINHEIRO, J. D.; VARELLA, B. B.; FERREIRA, A. G. Aqueous leaf extract properties of Cerrado species in Central Brazil. 2005. **Proceedings of the 4th World Congress on Allelopathy**, eds. JDI Harper, M. An, H. Wu and JH Kent, Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia. 2005.

BRAY, F.; LAVERSANNE, M.; SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. February, p. 229–263, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21834>.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. Biochemistry and molecular biology of plants. John wiley & sons, 2015.

CAESAR, L. K.; CECHE, N. B. Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1 + 1 does not equal 2. **Natural product reports**, England, vol. 36, n. 6, p. 869–888, Jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1039/c9np00011a>.

CARVALHO, B. M.; MAIA, C.; COURTENAY, O.; LLABRÉS-BRUSTENGA, A.; LOTTO BATISTA, M.; MOIRANO, G.; VAN DAALEN, K. R.; SEMENZA, J. C.; LOWE, R. A climatic suitability indicator to support *Leishmania infantum* surveillance in Europe: a modelling study. **The Lancet Regional Health - Europe**, vol. 43, p. 100971, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2024.100971>.

CASSIANO, D. S. A.; PACHECO, A. G. M.; DA COSTA, M. M.; ALMEIDA, J. R. G. S.; VIEIRA, I. J. C.; BRANCO, A. Antimicrobial activity and chemical analysis of *Microlicia hatschbachii* Wurdack (Melastomataceae) extract. **Natural product research**, England, vol. 28, n. 5, p. 333–336, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2013.855930>.

CATANI, L.; GRASSI, E.; COCOZZA, A.; GUIDI, L.; SANDULLI, R.; MANACHINI, B.; SEMPRUCCI, F. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology Essential oils and their applications in agriculture and agricultural products: A literature analysis through VOSviewer. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, vol. 45, n. September, p. 102502, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102502>.

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**, vol. 2019, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/8623909>.

CHEN, S.; FANG, L.; XI, H.; GUAN, L.; FANG, J.; LIU, Y.; WU, B.; LI, S. Simultaneous qualitative assessment and quantitative analysis of flavonoids in various tissues of lotus (*Nelumbo nucifera*) using high performance liquid chromatography coupled with triple quad mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, vol. 724, p. 127–135, 2012. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.02.051>.

COOMBER, A.; SAVILLE, A.; RISTAINO, J. B. Evolution of *Phytophthora infestans* on its potato host since the Irish potato famine. n. December 2023, p. 1–12, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50749-4>.

CORRÊA, J. G. de S.; 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.; DE CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; VISENTAINER, J. V.; SANTIN, S. M. de O. Chemical profile, antioxidant and anti-inflammatory properties of *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae) fruits extract. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 273, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113979>.

COTA, B. B.; DE OLIVEIRA, A. B.; VENTURA, C. P.; MENDONÇA, M. P.; BRAGA, F. C. Antimicrobial activity of plant species from a Brazilian hotspot for conservation priority. **Pharmaceutical Biology**, vol. 40, n. 7, p. 542–547, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1076/phbi.40.7.542.14682>.

CRESCENZI, M. A.; CERULLI, A.; MASULLO, M.; MONTORO, P.; PIACENTE, S. Comparison of Vegetable Waste Byproducts of Selected Cultivars of *Foeniculum vulgare* Mill. by an Integrated LC-(HR)MS and 1H-NMR-Based Metabolomics Approach. **Phytochemical Analysis**, vol. 36, n. 4, p. 1017–1030, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1002/pca.3488>.

CUCUNUBÁ, Z. M.; GUTIÉRREZ-ROMERO, S. A.; RAMÍREZ, J. D.; VELÁSQUEZ-ORTIZ, N.; CECCARELLI, S.; PARRA-HENAO, G.; HENAO-MARTÍNEZ, A. F.; RABINOVICH, J.; BASÁÑEZ, M. G.; NOUVELLET, P.; ABAD-FRANCH, F. The epidemiology of Chagas disease in the Americas. **The Lancet Regional Health - Americas**, vol. 37, p. 100881, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lana.2024.100881>.

CUNHA, G. O. S.; CRUZ, D. C. da; SEVERO MENEZES, A. C. An Overview of *Miconia* Genus: Chemical Constituents and Biological Activities. **Pharmacognosy Reviews**, vol. 13, n. 26, p. 77–88, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5530/phrev.2019.2.8>.

DA SILVA, V. B.; 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. de A.; PEREIRA, M. E. da S. S.; DE SOUZA, D. L.; DE ALCÂNTARA, B. M.; GENERINO, M. E. M.; SILVA, J. T. da C.; FILHO, A. M.; DA SILVA, S. B.; MOON, M.; KIM, B.; DA COSTA, J. G. M. The Genus *Miconia* Ruiz & Pav. (Melastomataceae): Ethnomedicinal Uses, Pharmacology, and Phytochemistry. **Molecules**, vol. 27, n. 13, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27134132>.

DANISE, T.; INNANGI, M.; CURCIO, E.; PICCOLELLA, S.; FIORETTO, A.; PACIFICO, S. White poplar (*Populus alba* L.) leaf waste recovery and intercropping outcome on its polyphenols. **Industrial Crops and Products**, vol. 171, p. 113866, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113866>.

DE MELO, C. C.; DE SOUSA, B. R.; DA COSTA, G. L.; OLIVEIRA, M. M. E.; DE LIMA-NETO, R. G. Colonized patients by *Candida auris*: Third and largest outbreak in Brazil and impact of biofilm formation. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, vol. 13, 2023.

DEMARQUE, D. P.; CROTTI, A. E. M.; VESSECCHI, R.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: An important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. **Natural Product Reports**, vol. 33, n. 3, p. 432–455, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1039/c5np00073d>.

DHIFI, W.; BELLILI, S.; JAZI, S.; BAHLOUL, N.; MNIF, W. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. **Medicines**, vol. 3, n. 4, p. 25, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicines3040025>.

DOS SANTOS, C. H. C.; DE CARVALHO, M. G.; FRANKE, K.; WESSJOHANN, L. Dammarane-type triterpenoids from the stem of *Ziziphus glaziovii* Warm. (Rhamnaceae). **Phytochemistry**, vol. 162, p. 250–259, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.03.010>.

DUTRA, R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, vol. 112, p. 4–29, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.01.021>.

ELLWANGER, J. H.; NOBRE, C. A.; CHIES, J. A. B. Brazilian Biodiversity as a Source of Power and Sustainable Development: A Neglected Opportunity. **Sustainability (Switzerland)**, vol. 15, n. 1, p. 1–16, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/su15010482>.

ENGSTRÖM, M. T.; KARONEN, M. Mass Spectrometry-Based Applications in Tannin Analytics: From Qualitative and Quantitative Analyses to Biological Activity. **Mass Spectrometry Reviews**, vol. 45, n. 1, p. 120–146, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1002/mas.70013>.

ERŞAN, S.; GÜÇLÜ ÜSTÜNDAĞ, Ö.; CARLE, R.; SCHWEIGGERT, R. M. Identification of phenolic compounds in red and green pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls (exo- and mesocarp) by HPLC-DAD-ESI-(HR)-MSn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 64, n. 26, p. 5334–5344, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01745>.

FABRE, N.; RUSTAN, I.; HOFFMANN, E. de; QUETIN-LECLERCQ, J. Chloroplast dna diversity in the wild shrub *Cytisus scoparius* L. (leguminosae). **Israel Journal of Plant Sciences**, vol. 50, n. 1, p. 1–9, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1560/PCLD-GFHW-WUUE-8HND>.

FACCIN, K. M.; LEITE, O. S.; PILATI, S. F. M. Aplicações dos óleos essenciais na odontologia: uma revisão de literatura. **Rev. Flum. Odontol.(Online)**, p. 13–30, 2025.

FANG, W.; WU, J.; CHENG, M.; ZHU, X.; DU, M.; CHEN, C.; LIAO, W.; ZHI, K.; PAN, W. Diagnosis of invasive fungal infections: challenges and recent developments. **Journal of Biomedical Science**, vol. 30, n. 1, p. 1–35, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12929-023-00926-2>.

FARIAS, W. C.; FERREIRA, H. D.; SÁ, S.; CUNHA, L. C.; NETO, J. R. O.; BORGES, L. L.; PAULA, J. R.; FIUZA, T. S. Evaluation of the chemical composition and variability of the volatile oils from *Trembleya parviflora* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 28, n. 4, p. 414–420, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.04.009>.

FERNANDES, S. R.; FERREIRA, H. D.; CHAUL, L. T.; SÁ, S.; ALVES, V. F.; TRESVENZOL, L. M. F.; FERRI, P. H.; SANTOS, P. A.; PAULA, J. R.; FIUZA, T. S. Chemical composition of the essential oil and evaluation of the antimicrobial activity of *Trembleya phlogiformis* DC leaves. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, vol. 18, n. 4, p. 828–836, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-084X/0051>.

FERNANDES, Sarah R.; FERREIRA, H. D.; DE SÁ, S.; BORGES, L. L.; TRESVENZOL, L. M. F.; FERRI, P. H.; DOS SANTOS, P. A.; PAULA, J. R.; FIUZA, T. S. Chemical composition and seasonal variation of the volatile oils from *Trembleya phlogiformis* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 27, n. 4, p. 419–425, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2017.03.003>.

FERREIRA, L. L. G.; DE MORAES, J.; ANDRICOPULO, A. D. Approaches to advance drug discovery for neglected tropical diseases. **Drug Discovery Today**, vol. 27, n. 8, p. 2278–2287, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.04.004>.

FERREIRA, P. M. P.; ARCANJO, D. D. R.; PERON, A. P. Drug development, Brazilian biodiversity and political choices: Where are we heading? **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews**, vol. 26, n. 5, p. 257–274, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/10937404.2023.2193762>.

GALLEGO-JARA, J.; LOZANO-TEROL, G.; ALBA, R.; MANUEL, C.; PUENTE, T. D. D. A Compressive Review about Taxol®: History and Future Challenges. **Molecules**, vol. 25, n. 5986, p. 1–24, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25245986>.

GAO, M.; WANG, H.; ZHU, L. Quercetin Assists Fluconazole to Inhibit Biofilm Formations of Fluconazole-Resistant *Candida Albicans* in *In Vitro* and *in Vivo* Antifungal Managements of Vulvovaginal Candidiasis. **Cellular Physiology and Biochemistry**, vol. 40, nos. 3–4, p. 727–742, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1159/000453134>.

GASHAW, A. D.; DESTA, M. A.; YAYA, E. E. A comprehensive review-current development in spectroscopic and chromatographic techniques for natural product analysis. **Results in Chemistry**, vol. 16, p. 102341, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2025.102341>.

GODLEWSKA, K.; RONGA, D.; MICHALAK, I. Plant extracts - importance in sustainable agriculture. **Italian Journal of Agronomy**, vol. 16, n. 2, p. 1851, 2021. DOI: <https://doi.org/10.4081/ija.2021.1851>.

GOKSEN, G. Elucidation and quantification health-promoting phenolic compounds, antioxidant properties and sugar levels of ultrasound assisted extraction, aroma compositions and amino acids profiles of macroalgae, *Laurencia papillosa*. **Ultrasonics Sonochemistry**, vol. 98, p. 106527, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106527>.

GOODACRE, R., BROADHURST, D., SMILDE, A. K., KRISTAL, B. S., BAKER, J. D., BEGER, R., BESSANT, C., CONNOR, S., CAPUANI, G., CRAIG, A., EBBELS, T., KELL, D. B., MANETTI, C., NEWTON, J., PATERNOSTRO, G., SOMORJAI, R., SJÖSTRÖM, M., TRYGG, J., & WULFERT, F. Proposed minimum reporting standards for data analysis in metabolomics. **Metabolomics**, vol. 3(3), p. 231–241, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11306-007-0081-3>

GOPI, K.; ANBARASU, K.; RENU, K.; JAYANTHI, S.; VISHWANATH, B. S.; JAYARAMAN, G. Quercetin-3-*O*-rhamnoside from *Euphorbia hirta* protects against snake Venom induced toxicity. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, vol. 1860, n. 7, p. 1528–1540, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.03.031>.

HASIN, Y.; SELDIN, M.; LUSIS, A. Multi-omics approaches to disease. **Genome Biology**, vol. 18, n° 1, p. 1–15, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1215-1>

HARRIEDER, E. M.; KRETSCHMER, F.; BÖCKER, S.; WITTING, M. Current state-of-the-art of separation methods used in LC-MS based metabolomics and lipidomics. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, vol. 1188, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.123069>.

HUANG, Z.; HU, Z.; TU, C.; HUANG, X.; LIU, H. Rapid screening for organic acidurias based on abnormal patterns of organic acids in neonatal urine by tandem mass spectrometry with automated flow injection. **Microchemical Journal**, vol. 171, p. 106871, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106871>.

ISAZA, J. H.; ITO, H.; YOSHIDA, T. Oligomeric hydrolyzable tannins from *Monochaetum multiflorum*. **Phytochemistry**, vol. 65, n. 3, p. 359–367, 2004. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2003.11.017>.

JAMAL, C. M.; TAVARES, K. G.; RASLAN, D. S.; MIRAGLIA, M. C. M.; DUARTE, I. D. G. Isolation of constituents as analgesic agents from *Lavoisiera pulcherrima* DC.(Melastomataceae). 1997. **II WOCMAP Congress Medicinal and Aromatic Plants, Part 2: Pharmacognosy, Pharmacology, Phytomedicine, Toxicology 501**. 1997. p. 145–150.

JEFFERY-SMITH, A.; TAORI, S. K.; SCHELENZ, S.; JEFFERY, K.; JOHNSON, E. M.; BORMAN, A.; MANUEL, R.; BROWNA, C. S. *Candida auris*: A review of the literature. **Clinical Microbiology Reviews**, vol. 31, n. 1, p. 1–2, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00029-17>.

KALICHARAN, R. E.; FERNANDEZ, J. Triple Threat: How Global Fungal Rice and Wheat Pathogens Utilize Comparable Pathogenicity Mechanisms to Drive Host Colonization. vol. 38, n. 2, p. 173–186, 2025.

KAUR, J.; NOBILE, C. J. Antifungal drug-resistance mechanisms in *Candida* biofilms. **Current Opinion in Microbiology**, vol. 71, p. 102237, 2023. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102237>.

KHALLOUKI, F.; BREUER, A.; MERIEME, E.; ULRICH, C. M.; OWEN, R. W. Characterization and quantitation of the polyphenolic compounds detected in methanol extracts of *Pistacia atlantica* Desf. fruits from the Guelmim region of Morocco. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, vol. 134, p. 310–318, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.11.023>.

KOŁTUN-JASION, M.; CZERWIEC, K.; PARZONKO, A.; BAKIERA, A.; OŻAROWSKI, M.; KISS, A. K. Comprehensive profiling of *Rhodiola rosea* roots and corresponding products: phytochemical insights and modulation of neuroinflammation in BV2 microglial cell model. **Frontiers in Pharmacology**, vol. 16, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1608767>.

KOUTSONI, O. S.; KARAMPETSOU, K.; DOTSIKA, E. In vitro Screening of Antileishmanial Activity of Natural Product Compounds: Determination of IC₅₀, CC₅₀ and SI Values. **Bio-protocol**, vol. 9, n. 21, p. 1–17, 2019. DOI: <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3410>.

KUETE, V. Potential of Cameroonian plants and derived products against microbial infections: a review. **Planta medica**, Germany, vol. 76, n. 14, p. 1479–1491, Oct. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250027>.

LASS-FLÖRL, C.; STEIXNER, S. The changing epidemiology of fungal infections. **Molecular Aspects of Medicine**, vol. 94, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2023.101215>.

LEE, J. E.; JAYAKODY, J. T. M.; KIM, J. Il; JEONG, J. W.; CHOI, K. M.; KIM, T. S.; SEO, C.; AZIMI, I.; HYUN, J. M.; RYU, B. M. The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review. **Foods**, vol. 13, n. 19, p. 1–21, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods13193151>.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L., and COX M. M. Lehninger principles of biochemistry. **Macmillan**, 2005.

LI, Q.; JIN, Y.; JIANG, R.; XU, Y.; ZHANG, Y.; LUO, Y. Dynamic changes in the metabolite profile and taste characteristics of Fu brick tea during the manufacturing process. **Food Chemistry**, vol. 344, p. 128576, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128576>.

LINGALA, S. M.; GHANY, M. G. M. Mhs. Extraction and Analysis of Terpenes/ Terpenoids Public Access. **Curr Protoc Plant Biol**, vol. 25, n. 3, p. 289–313, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/cppb.20024.Extraction>.

LIONAKIS, M. S.; CHOWDHARY, A. *Candida auris* Infections. **New England Journal of Medicine**, vol. 391, n. 20, p. 1924–1935, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1056/nejmra2402635>.

LIU, J. K. Natural products in cosmetics. **Natural Products and Bioprospecting**, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13659-022-00363-y>.

LODI, L.; VOARINO, M.; STOCCO, S.; RICCI, S.; AZZARI, C.; GALLI, L.; CHIAPPINI, E. Immune response to viscerotropic *Leishmania*: a comprehensive review. **Frontiers in Immunology**, vol. 15, p. 1–14, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1402539>.

LU, Y.; PANG, Z.; XIA, J. Comprehensive investigation of pathway enrichment methods for functional interpretation of LC-MS global metabolomics data. **Briefings in Bioinformatics**, vol. 24, no 1, p. 1–15, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbac553>

MA, D.; GUO, Y.; ALI, I.; LIN, J.; XU, Y.; YANG, M. Accumulation characteristics of plant flavonoids and effects of cultivation measures on their biosynthesis: A review. **Plant Physiology and Biochemistry**, vol. 215, p. 108960, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108960>.

MAGALHÃES, P. K. A.; ARAUJO, E. N.; SANTOS, A. M.; VANDERLEI, M. B.; SOUZA, C. C. L.; CORREIA, M. S.; FONSECA, S. A.; PAVÃO, J. M. J. S.; SOUZA, M. A.; COSTA, J. G.; SANTOS, A. F.; MATOS-ROCHA, T. J. Ethnobotanical and ethnopharmacological study of medicinal plants used by a traditional community in Brazil's northeastern. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 82, p. 1–11, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.237642>.

MAHIZAN, N. A.; YANG, S.; MOO, C.-L.; SONG, A. A.-L. Terpene Derivatives as a Potential Agent against. **Molecules**, vol. 24, p. 1–21, 2019.

MAJOOR, A.; MICHEL, G.; MARTY, P.; BOYER, L.; POMARES, C. Leishmanioses: stratégies de développement de traitements. **Parasite (Paris, France)**, vol. 32, p. 18, 2025.

MARTÍN-ESCOLANO, J.; MARÍN, C.; ROSALES, M. J.; TSAOUSIS, A. D.; MEDINA-CARMONA, E.; MARTÍN-ESCOLANO, R. An Updated View of the *Trypanosoma cruzi* Life Cycle: Intervention Points for an Effective Treatment. **ACS Infectious Diseases**, vol. 8, n. 6, p. 1107–1115, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.2c00123>.

MEILE, L.; CARRASCO-LÓPEZ, C.; SÁNCHEZ-VALLET, A.; LORRAIN, C.; KEMA, G. H. J.; SAINTENAC, C. The Molecular Dialogue Between *Zymoseptoria tritici* and Wheat. vol. 38, n. 2, p. 118–133, 2025.

MENA, P.; CALANI, L.; DALL'ASTA, C.; GALAVERNA, G.; GARCÍA-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**, vol. 17, n. 12, p. 14821–14840, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules171214821>.

MORI, S.; AKAMATSU, M.; FUKUI, H.; TSUKIOKA, J.; GOTO, K.; HIRAI, N. The unusual conformational preference of N 1 ,N 5 ,N 10 -tri-p-coumaroylspermidine E-Z isomers from the Japanese apricot tree, *Prunus mume*, for the (ZZZ)-form. **Phytochemistry Letters**, vol. 31, n. February, p. 131–139, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.02.028>.

NEWMAN, D. J. Natural products and drug discovery. **National Science Review**, vol. 9, n. 11, p. nwac206, 1 Nov. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/nsr/nwac206>.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Drugs and Leads to Drugs: The Historical Perspective. *In: Introduction to Natural Products for Drug Discovery*. 2010.

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**, vol. 83, n. 3, p. 770–803, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>.

NICASTRO, R.; PAPALE, M.; FUSCO, G. M.; CAPONE, A.; MORRONE, B.; CARILLO, P. Legal Barriers in Sustainable Agriculture: Valorization of Agri-Food Waste and Pesticide Use Reduction. **Sustainability (Switzerland)**, vol. 16, n. 19, p. 1–23, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/su16198677>.

NONO, R. N.; BARBONI, L.; TEPONNO, R. B.; QUASSINTI, L.; BRAMUCCI, M.; VITALI, L. A.; PETRELLI, D.; LUPIDI, G.; TAPONDJOU, A. L. Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory activities and phytoconstituents of extracts from the roots of *Dissotis thollonii* Cogn. (Melastomataceae). **South African Journal of Botany**, vol. 93, p. 19–26, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.03.009>.

NUNES, M. C. P.; BERN, C.; CLARK, E. H.; TEIXEIRA, A. L.; MOLINA, I. Clinical features of Chagas disease progression and severity. **The Lancet Regional Health - Americas**, vol. 37, p. 100832, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lana.2024.100832>.

OLIVEIRA, D. M.; FURTADO, F. B.; GOMES, A. A. S.; BELUT, B. R.; Nascimento, E. A.; MORAIS, S. A. L.; MARTINS, C. H. G.; SANTOS, V. C. O.; da Silva, C. V.; Teixeira, T. L.; Cunha, L. C. S.; de Oliveira, A.; Aquino, F. J. T. “Chemical Constituents and Antileishmanial and Antibacterial Activities of Essential Oils from *Scheelea Phalerata*.” **ACS Omega** 5(3):1363–70, 2020. DOI:10.1021/acsomega.9b01962.

OLIVEIRA, C. N. P. de; PEIXOTO, T. G.; TEIXEIRA, L. G. M. L.; PESSOA, S. B. A.; PEDROSA, N. M.; XAVIER, V. F.; VIEIRA, P. M. de A.; SOARES, C. D. V.; FARACO, A. A. G.; QUEIROZ, K. B. de; SILVA, F. G. D. e; CASTILHO, R. O. Optimization of *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) Extraction: Chemical Evaluation, Cytotoxicity, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities. **Molecules**, vol. 31, n. 2, p. 224, 2026. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules31020224>.

PACIFICO, R.; ALMEDA, F. Lavoisiereae: A Neotropical Tribe with Remarkable Endemism on Eastern Brazilian Mountaintops. **Systematics, Evolution, and Ecology of Melastomataceae**, p. 385–408, 2022. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-99742-7_19.

PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, A.; SALGUEIRO, L.; PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, R.; MARTINEZ-DE-OLIVEIRA, J.; PINA-VAZ, C.; QUEIROZ, J.; RODRIGUES, A. Anti-*Candida* Activity of Essential Oils. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, vol. 9, n. 11, p. 1292–1305, 2009. DOI: <https://doi.org/10.2174/138955709789878150>.

PATHAK, V. M.; VERMA, V. K.; RAWAT, B. S.; KAUR, B.; BABU, N.; SHARMA, A.; DEWALI, S.; YADAV, M.; KUMARI, R.; SINGH, S.; MOHAPATRA, A.; PANDEY, V.; RANA, N.; CUNILL, J. M. Current status of pesticide effects on environment, human health and it's eco-friendly management as bioremediation: A comprehensive review. **Frontiers in Microbiology**, vol. 13, n. August, p. 1–29, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.962619>.

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**, India, vol. 14, n. 1, p. 14, Mar. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41368-022-00163-7>.

PENNEYS, D. S.; ALMEDA, F.; REGINATO, M.; MICHELANGELI, F. A.; GOLDENBERG, R.; FRITSCH, P. W.; STONE, R. D. A New Melastomataceae Classification Informed by Molecular Phylogenetics and Morphology. 2022. 109–165 p. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-99742-7_5.

PEREIRA, M. do C.; NELSON, D. L.; STOIANOFF, M. A. R.; SANTOS, S. G.; NOGUEIRA, L. J.; COUTINHO, S. C.; DE CARVALHO, M. A. R.; BARBOSA, L. C. A. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from *Microlicia crenulata*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, vol. 18, n. 1, p. 18–28, 2 Jan. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.935055>.

PINHEIRO, E. D. S.; ARAÚJO, C. E. L.; CUNHA, E. S. M.; ROCHA, A. M. da; LOPES NUNES GALVÃO, D.; SOUZA, E. A. de; DA SILVA, M. P. C. O. A. M.; RAMOS, A. N. From invisibility to political power: Policy lessons from a decade of Brazil's Social Forum for

Infectious and Neglected Diseases. **PLoS neglected tropical diseases**, vol. 20, n. 5, p. e0014336, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0014336>.

PRADHAN, S.; SCHWARTZ, R. A.; PATIL, A.; GRABBE, S.; GOLDUST, M. Treatment options for leishmaniasis. **Clinical and Experimental Dermatology**, vol. 47, n. 3, p. 516–521, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/ced.14919>.

QAMAR, F.; ASHRAFI, K.; SINGH, A.; DASH, P. K.; ABDIN, M. Z. Industrial Crops & Products Artemisinin production strategies for industrial scale: Current progress and future directions. **Industrial Crops & Products**, vol. 218, n. June, p. 118937, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118937>.

QUATRIN, A. Andréia Quatrin. **CASCA DE JABUTICABA: METABOLIZAÇÃO E IMPLICAÇÕES NA PREVENÇÃO DAS COMPLICAÇÕES DO DIABETES**, Tese de doutorado, 2019.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; GANDHI, S. R.; PASSOS, F. R. S.; HEIMFARTH, L.; PEREIRA, E. W. M.; MONTEIRO, B. S.; DOS SANTOS, K. S.; DUARTE, M. C.; ABREU, L. S.; NASCIMENTO, Y. M.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; LIMA, Á. A. N.; ZENGİN, G.; QUINTANS, J. S. S. Dereplication and quantification of the ethanol extract of *Miconia albicans* (Melastomaceae) by HPLC-DAD-ESI/MS/MS, and assessment of its anti-hyperalgesic and anti-inflammatory profiles in a mice arthritis-like model: Evidence for involvement of TNF- α , I. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 258, n. December 2019, p. 112938, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112938>.

RAJASEKARAN, J. J.; KRISHNAMURTHY, H. K.; BOSCO, J.; JAYARAMAN, V.; KRISHNA, K.; WANG, T.; BEI, K. Oral Microbiome: A Review of Its Impact on Oral and Systemic Health, vol. 12, n. 9, p. 1797, 2024. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/microorganisms12091797>.

REDDY, G. K. K.; PADMAVATHI, A. R.; NANCHARAI, Y. V. Fungal infections: Pathogenesis, antifungals and alternate treatment approaches. **Current Research in Microbial Sciences**, vol. 3, n. April, p. 100137, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100137>.

RICARDO, L. M.; DIAS, B. M.; MÜGGE, F. L. B.; LEITE, V. V.; BRANDÃO, M. G. L. Evidence of traditionality of Brazilian medicinal plants: The case studies of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (barbatimão) barks and *Copaifera* spp. (copaíba) oleoresin in wound healing. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 219, n. February, p. 319–336, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.02.042>.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of ethnopharmacology**, Ireland, vol. 100, nos. 1–2, p. 80–84, Aug. 2005. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.025>.

ROSLEN, N. A. R.; ALEWI, N. A. M.; AHAMADA, H.; RASAD, M. S. B. A. Cytotoxicity screening of *Melastoma malabathricum* extracts on human breast cancer cell lines *in vitro*. vol. 4, n. 7, p. 545–548, 2014. DOI: <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C658>.

ROSSO, M. De; LONZARICH, V.; NAVARINI, L.; FLAMINI, R. Current Research in Food Science Identification of new glycosidic terpenols and norisoprenoids (aroma precursors) in *C. arabica* L. green coffee by using a high-resolution mass spectrometry database developed in grape metabolomics. **Current Research in Food Science**, vol. 5, p. 336–344, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.01.026>.

SÁ, I. M. De; SENNA-VALLE, L. De; ALMEIDA, G. S. de. A tradição do uso de plantas tintoriais da comunidade rural de Santo Antonio do Rio Grande. **Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre**, vol. 5, n. 1, p. 276–278, 2007.

SADGROVE, N. J.; PADILLA-GONZÁLEZ, G. F.; PHUMTHUM, M. Fundamental Chemistry of Essential Oils and Volatile Organic Compounds, Methods of Analysis and Authentication. **Compounds, Methods of Analysis and Authentication**, vol. 11, n. 789, p. 34, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11060789>.

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**, vol. 293, n. February, p. 233–246, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.097>.

SALDANHA, L. L.; VILEGAS, W.; DOKKEDAL, A. L. Characterization of flavonoids and phenolic acids in *Myrcia bella* cambess. Using FIA-ESI-IT-MSn and HPLC-PAD-ESI-IT-MS combined with NMR. **Molecules**, vol. 18, n. 7, p. 8402–8416, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules18078402>.

SASIDHARAN, S.; SAUDAGAR, P. Leishmaniasis: where are we and where are we heading? **Parasitology Research**, vol. 120, n. 5, p. 1541–1554, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07139-2>.

SCIGELOVA, M.; HORNSHAW, M.; GIANNAKOPOULOS, A.; MAKAROV, A. Fourier transform mass spectrometry. **Molecular and Cellular Proteomics**, vol. 10, n. 7, p. 1–19, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1074/mcp.M111.009431>.

SEIBERT, J. B.; AMPARO, T. R.; SOUSA, L. R. D.; RODRIGUES, I. V.; PETIT, A.; PERVIER, P.; AZEVEDO, M. C.; SALES JUNIOR, P. A.; MURTA, S. M. F.; CARNEIRO, C. M.; TEIXEIRA, L. F. de M.; DE SOUZA, G. H. B.; VIEIRA, P. M. de A.; SANTOS, O. D. H. dos. Easy Obtainment and Biological Applicability of Pinocarvyl Acetate by Encapsulating of the *Microlicia graveolens* Essential Oil in Oil-in-Water Nanoemulsions. **Pharmaceutics**, vol. 17, n. 9, p. 1–16, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17091130>.

SEIDEL, D.; WURSTER, S.; JENKS, J. D.; SATI, H.; GANGNEUX, J. P.; EGGER, M.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; FORD, N. P.; CHOWDHARY, A.; SPRUTE, R.; CORNELLY, O.; THOMPSON, G. R.; HOENIGL, M.; KONTOYIANNIS, D. P. Impact of climate change and natural disasters on fungal infections. **The Lancet Microbe**, vol. 5, n. 6, p. e594–e605, 2024. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(24\)00039-9](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(24)00039-9).

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

SEZENER KABAY, M. G.; INAL, S.; GÖKMEN, S.; ERGÜDEN, V. E.; FINDIK, A.; GÜVENÇ, T.; KAYHAN, H.; GÜVENÇ, D. Antibacterial Effects of Essential Oils on *P. aeruginosa*, Methicillin-Resistant *S. aureus*, and *Staphylococcus* spp. Isolated from Dog Wounds. vol. 17, n. 11, p. 1494, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph17111494>.

SHARMA, A.; SHARMA, S.; KUMAR, A.; KUMAR, V.; SHARMA, A. K. Plant Secondary Metabolites: An Introduction of Their Chemistry and Biological Significance with Physicochemical Aspect BT - Plant Secondary Metabolites: Physico-Chemical Properties and Therapeutic Applications. *In*: SHARMA, A. K.; SHARMA, A. (eds.). Singapore: Springer Nature Singapore, 2022. p. 1–45. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-16-4779-6_1.

SHARMEEN, J. B.; MAHOMOODALLY, F. M.; ZENGİN, G.; MAGGI, F. Essential Oils as Natural Sources of Fragrance Compounds for Cosmetics and Cosmeceuticals. **Molecules**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26030666>.

SHRIVASTAV, G.; PRAVA JYOTI, T.; CHANDEL, S.; SINGH, R. Eco-Friendly Extraction: Innovations, Principles, and Comparison with Traditional Methods. **Separation and Purification Reviews**, vol. 54, n. 3, p. 241–257, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1080/15422119.2024.2381605>.

SILHAVY, T. J.; KAHNE, D.; WALKER, S. The bacterial cell envelope. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, vol. 370, n. 1679, p. 1–16, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0019>.

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**, vol. 11, n. 2, p. 239–244, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578x1601100227>.

SIQUEIRA, C. de P.; DE PAULA MENEZES, R.; BESSA, M. A. S.; SILVA, N. B. S.; JOÃO, D. A.; DA COSTA SILVA, T.; PRADO, D. G.; MORAIS, S. A. L. de; DE OLIVEIRA, A.; AQUINO, F. J. T. de; CUNHA, L. C. S.; MARTINS, C. H. G. Exploring and evaluating the in vitro antifungal, antibiofilm and antitoxin efficacy of *Artabotrys brachypetalus* Benth. against *Candida* spp. and its toxicity in vivo assays. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, vol. 25, n. 1, 2025. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12906-025-04877-z>.

SMERIGLIO, A.; BARRECA, D.; BELLOCCO, E.; TROMBETTA, D. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. **British Journal**

of **Pharmacology**, vol. 174, n. 11, p. 1244–1262, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/bph.13630>.

SOBEH, M.; MAHMOUD, M. F.; ABDELFAH, M. A. O.; CHENG, H.; EL-SHAZLY, A. M.; WINK, M. A proanthocyanidin-rich extract from *Cassia abbreviata* exhibits antioxidant and hepatoprotective activities in vivo. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 213, n. May 2017, p. 38–47, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.007>.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SEVERI, J. A.; LEE, K.; PREECHASUTH, K.; SANTOS, E.; GOW, N. A. R.; MUNRO, C. A.; VILEGAS, W.; PIETRO, R. C. L. R. Anti-Candida Targets and Cytotoxicity of Casuarinin Isolated from *Plinia cauliflora* Leaves in a Bioactivity-Guided Study, vol. 18, n. 7, p. 8095–8108, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules18078095>.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SEVERI, J. A.; RODRIGUES, E. R.; DE PAULA, M. I.; FREITAS, J. A.; VILEGAS, W.; PIETRO, R. C. L. R. Flavonoids from *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Myrtaceae) with antifungal activity. **Natural Product Research**, vol. 33, n. 17, p. 2579–2582, 2 Sep. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1460827>.

SPÍNOLA, V.; PINTO, J.; CASTILHO, P. C. Identification and quantification of phenolic compounds of selected fruits from Madeira Island by HPLC-DAD-ESI-MSn and screening for their antioxidant activity. **Food Chemistry**, vol. 173, p. 14–30, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.163>.

STECKEL, A.; SCHLOSSER, G. An organic chemist's guide to electrospray mass spectrometric structure elucidation. **Molecules**, vol. 24, n. 3, p. 1–11, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24030611>.

STUKENBROCK, E.; GURR, S. Address the growing urgency of fungal disease in crops, **Nature** 2022.

SUN, S.; YU, Y.; JO, Y.; HAN, J. H.; XUE, Y.; CHO, M.; BAE, S. J.; RYU, D.; PARK, W.; HA, K. T.; ZHUANG, S. Impact of extraction techniques on phytochemical composition and bioactivity of natural product mixtures. **Frontiers in Pharmacology**, vol. 16, n. July, p. 1–14, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1615338>.

SWETT, M. C.; RAYES, D. L.; CAMPOS, S. V.; KUMAR, R. N. Chagas Disease: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. **Current Cardiology Reports**, vol. 26, n. 10, p. 1105–1112, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11886-024-02113-7>.

SYABANA, M. A.; YULIANA, N. D.; BATUBARA, I.; FARDIAZ, D. α -glucosidase inhibitors from *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp leaves as revealed by metabolomics and in silico approaches. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 282, n. September 2021, p. 114618, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114618>.

TAAMALLI, A.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; ABAZA, L.; ISWALDI, I.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; ZARROUK, M.; SEGURA-CARRETERO, A. LC-MS-based metabolite profiling of methanolic extracts from the medicinal and aromatic species *Mentha pulegium* and *Origanum majorana*. **Phytochemical Analysis**, vol. 26, n. 5, p. 320–330, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/pca.2566>.

TIDMAN, R.; ABELA-RIDDER, B.; DE CASTAÑEDA, R. R. The impact of climate change on neglected tropical diseases: A systematic review. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, vol. 115, n. 2, p. 147–168, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/trstmh/traa192>.

TONINI, V.; ZANNI, M. Why is early detection of colon cancer still not possible in 2023?, vol. 30, n. 3, p. 211–224, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v30.i3.211>.

TOUDAHL, A. B.; FILHO, S. A. V.; SOUZA, G. H. B.; MORAIS, L. D.; DOS SANTOS, O. D. H.; JÄGER, A. K. Chemical composition of the essential oil from *Microlicia graveolens* growing wild in Minas Gerais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 22, n. 3, p. 680–681, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000038>.

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. **Systematics, Evolution, and Ecology of Melastomataceae**, p. 3–28, 2022. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-99742-7_1.

UMAMAHESWARI, C.; ASHA, S. Potential Therapeutic Arsenal: An Examination of Bioactive Compounds in the Melastomataceae Family. **Research Journal of Biotechnology**, vol. 20, n. 3, p. 243–253, 2025. DOI: <https://doi.org/10.25303/203rjbt2430253>.

VALVERDE MALAVER, C. L.; COLMENARES DULCEY, A. J.; RIAL, C.; VARELA, R. M.; MOLINILLO, J. M. G.; MACÍAS, F. A.; ISAZA MARTÍNEZ, J. H. Hydrolysable Tannins and Biological Activities of *Meriania hernandoi* and *Meriania nobilis* (Melastomataceae). **Molecules**, vol. 24, n. 4, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24040746>.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of chromatography**, 1963.

VAOU, N.; STAVROPOULOU, E.; VOIDAROU, C.; TSAKRIS, Z.; ROZOS, G.; TSIGALOU, C.; BEZIRTZOGLU, E. Interactions between Medical Plant-Derived Bioactive Compounds: Focus on Antimicrobial Combination Effects. **Antibiotics**, vol. 11, n. 8, p. 1–23, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081014>.

VENTURA, C. P.; DE OLIVEIRA, A. B.; BRAGA, F. C. Antimicrobial activity of *Trembleya laniflora*, *Xyris platystachia* and *Xyris pterygoblephara*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 17, n. 1, p. 17–22, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100005>.

VENTURA, C. P.; DIAS DE SOUZA FILHO, J.; BRAGA DE OLIVEIRA, A.; BRAGA, F. C. A flavanone and other constituents of the Brazilian endemic species *Trembleya laniflora* (D. Don) Cogn. (Melastomataceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, vol. 35, n. 1, p. 40–41, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2006.08.001>.

VERSIANE, A. F. A.; ROMERO, R.; REGINATO, M.; WELKER, C. A. D.; MICHELANGELI, F. A.; GOLDENBERG, R. Phylogenetic analysis of Microlicieae (Melastomataceae), with emphasis on the re-circumscription of the large genus *Microlicia*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, vol. 197, n. 1, p. 35–60, 1 Sep. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boab011>.

VERSIANE, A. F. A.; Romero, R.; Fontelas, J. C.; Goldenberg, R. “Flora of Espírito Santo: Tribe Microlicieae (Melastomataceae).” **Rodriguesia** 73. doi:10.1590/2175-7860202273002.

VOGT, T. Unusual spermine-conjugated hydroxycinnamic acids on pollen: Function and evolutionary advantage. **Journal of Experimental Botany**, vol. 69, n. 22, p. 5311–5318, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/ery359>.

VOLYNCHIKOVA, E.; KIM, K. D.; VOLYNCHIKOVA, E.; KIM, K. D. Biological Control of Oomycete Soilborne Diseases Caused by *Phytophthora capsici*, *Phytophthora infestans*, and *Phytophthora nicotianae* in Solanaceous Crops. **Mycobiolog** , vol. 50, n. 5, p. 269–293, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/12298093.2022.2136333>.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. Springer Science & Business Media, 1996.

WANG, W. A review of biocontrol agents in controlling late blight of potatoes and tomatoes caused by *Phytophthora infestans* and the underlying mechanisms. August, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.7706>.

WANG, X.; XU, J.; ZHANG, L. H.; YANG, W.; YU, H.; ZHANG, M.; WANG, Y.; WU, H. H. Global Profiling of the Antioxidant Constituents in Chebulae Fructus Based on an Integrative Strategy of UHPLC/IM-QTOF-MS, MS/MS Molecular Networking, and Spectrum-Effect Correlation. **Antioxidants**, vol. 12, n. 12, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12122093>.

WARE, I.; FRANKE, K.; DUBE, M.; ALI EL ENSHASY, H.; WESSJOHANN, L. A. Characterization and Bioactive Potential of Secondary Metabolites Isolated from *Piper sarmentosum* Roxb. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 24, n. 2, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24021328>.

WHO. African Traditional Medicine Day 2022. **African Traditional Medicine Day 2022**. 2022. DOI: <https://www.afro.who.int/regional-director/speeches-messages/african-traditional-medicine-day-2022>. Accessed: 22 May 2026.

WHO. Antimicrobial resistance. **Antimicrobial resistance**. 2023a. DOI: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.

WHO. Leishmaniasis. **Leishmaniasis**. 2023b. DOI: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>.

XIONG, P.; QIN, S. H.; LI, K. L.; LIU, M. J.; ZHU, L.; PENG, J.; SHI, S. L.; TANG, S. nv; TIAN, A. P.; CAI, W. Identification of the tannins in traditional Chinese medicine *Paeoniae Radix Alba* by UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS. **Arabian Journal of Chemistry**, vol. 14, n. 11, p. 103398, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103398>.

YAN S.K.; LIU R.H.; JIN H.Z.; LIU X.R.; YE J.; SHAN L.; ZHANG W.D. 2015. “‘Omics’ in Pharmaceutical Research: Overview, Applications, Challenges, and Future Perspectives.” *Chinese Journal of Natural Medicines* 13(1):3–21. doi:10.1016/S1875-5364(15)60002-4.

YANG, Z.; DONG, F.; BALDERMANN, S.; MURATA, A.; TU, Y.; ASAI, T.; WATANABE, N. Isolation and identification of spermidine derivatives in tea (*Camellia sinensis*) flowers and their distribution in floral organs. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 92, n. 10, p. 2128–2132, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.5596>.

YUAN, H.; MA, Q.; YE, L.; PIAO, G. The traditional medicine and modern medicine from natural products. **Molecules**, vol. 21, n. 5, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21050559>.

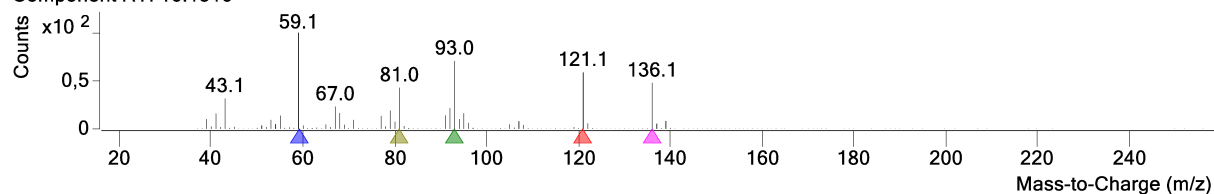
ZHAO, Q.; ZHANG, J. L. and Li, F. 2018. “Application of Metabolomics in the Study of Natural Products.” *Natural Products and Bioprospecting* 8(4):321–34. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13659-018-0175-9>.

ZHOU, M. C.; FEI, Y. T.; LAI, X. Z.; LAN, J.; LIU, B.; WANG, Z. W.; FANG, H.; LIU, J. P.; RONG, H. G. Progress and challenges in integrated traditional Chinese and western medicine in China from 2002 to 2021. **Frontiers in Pharmacology**, vol. 15, n. September, p. 1–13, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1425940>.

APÊNDICE A – CROMATOGRAMAS E ESPECTROS DE MASSAS REFERENTES AOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Figura A1 – espectro de fragmentação para o α -terpineol

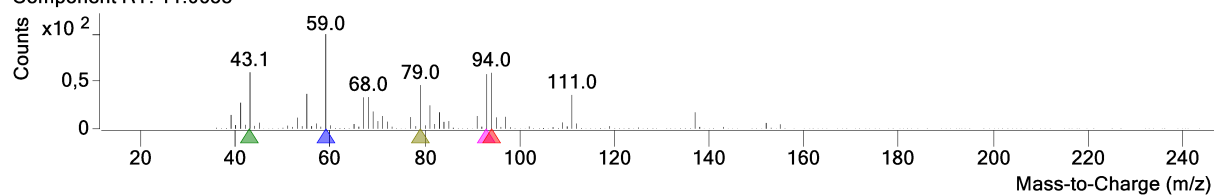
Component RT: 16.1516



Fonte: O autor (2026)

Figura A2 – espectro de fragmentação para o óxido de cis-linalol (furanoide)

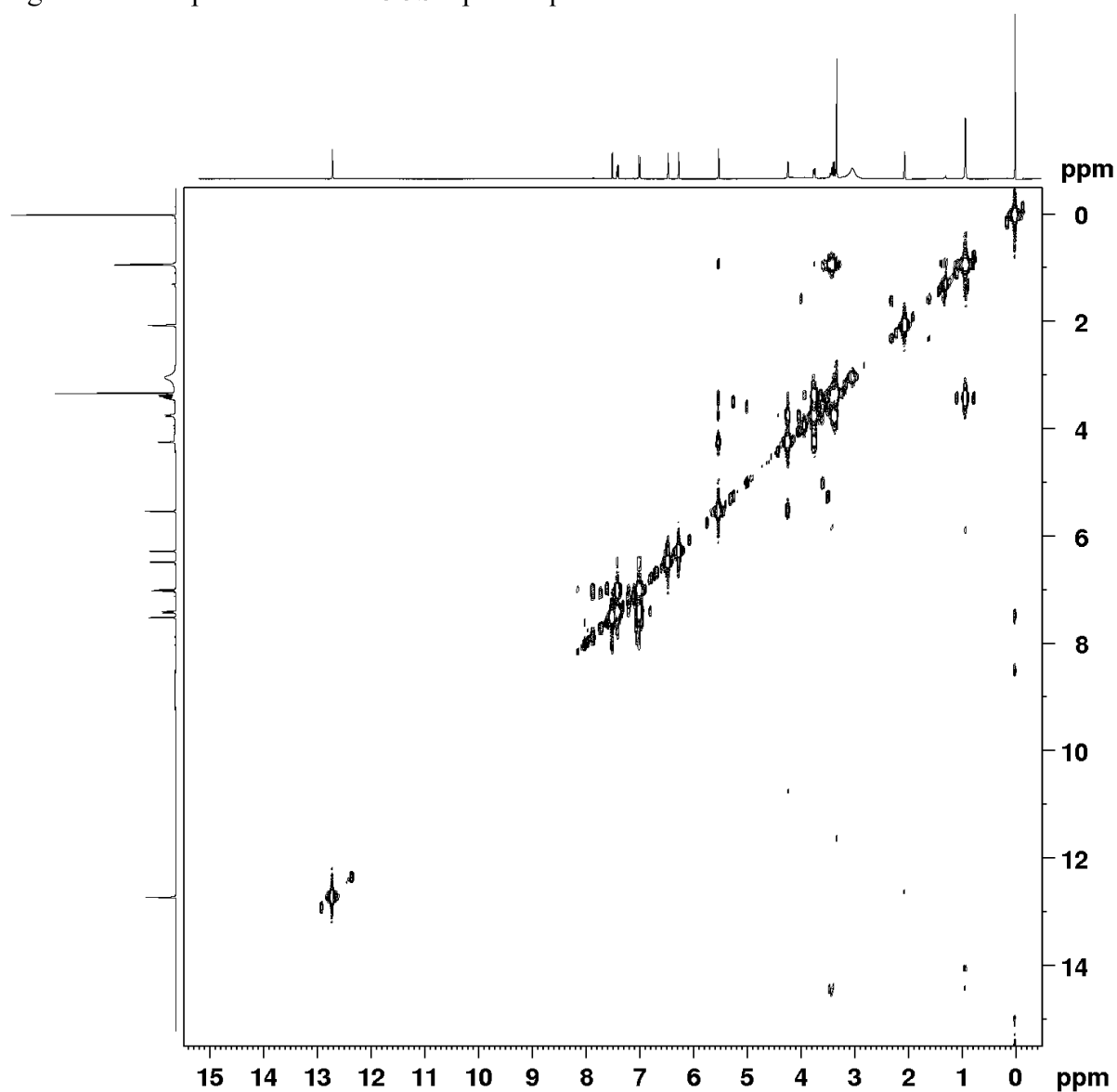
Component RT: 11.0653



Fonte: O autor (2026)

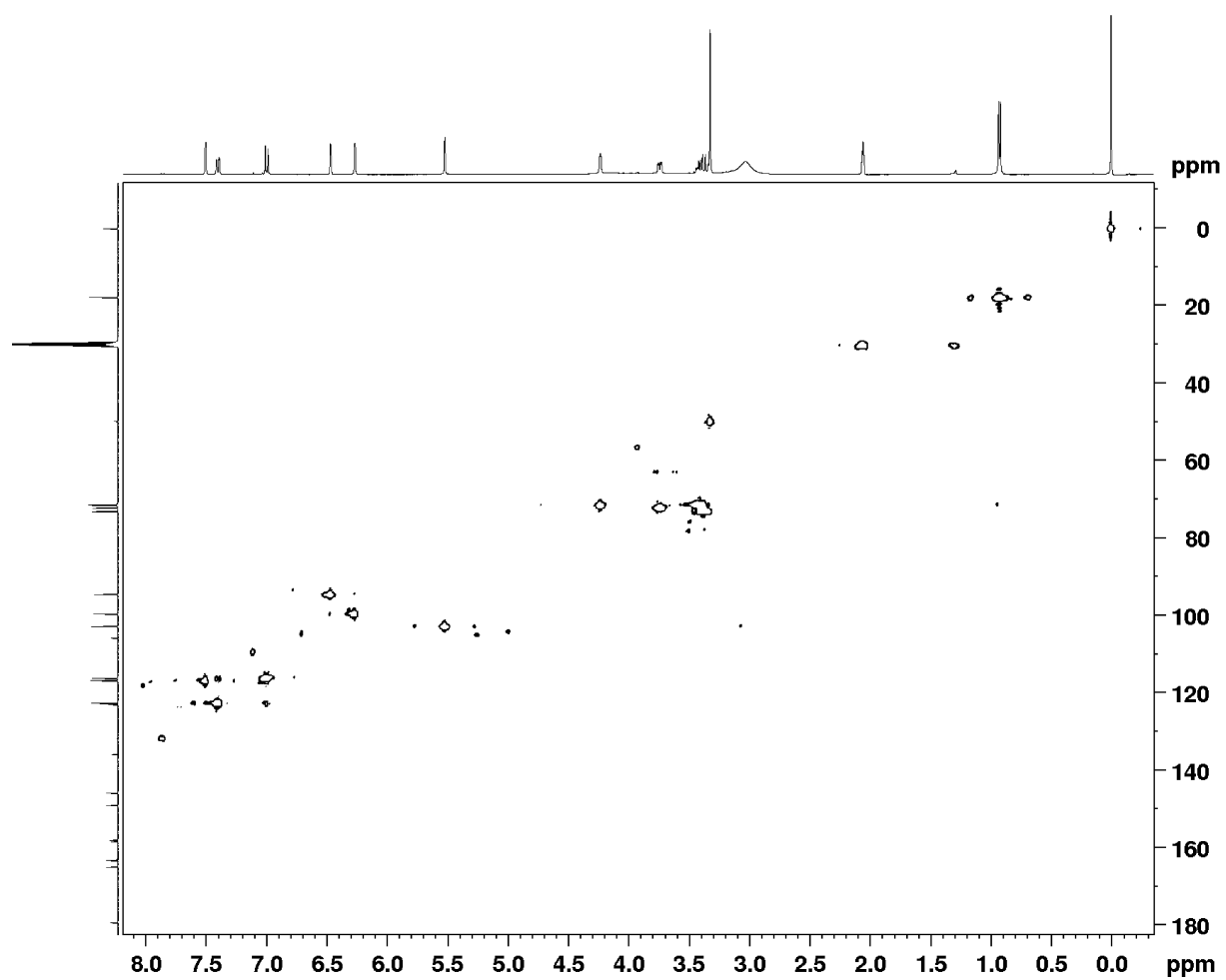
APÊNDICE B – ESPECTROS DE RMN DA QUERCITRINA

Figura B1 – Mapa de contorno COSY para a quercitrina

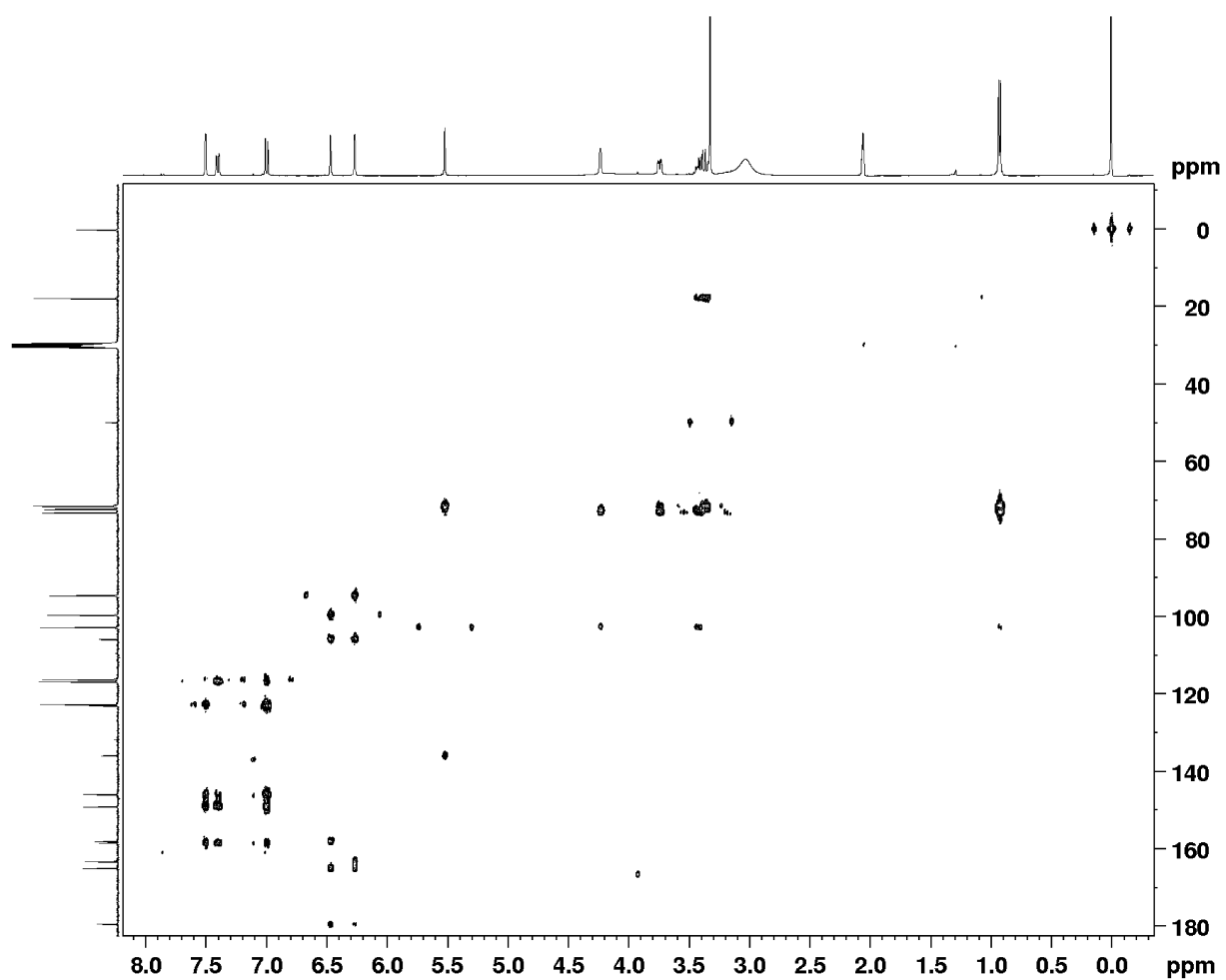


Fonte: O autor (2026)

Figura B2 – Mapa de contorno HSQC para o composto 1

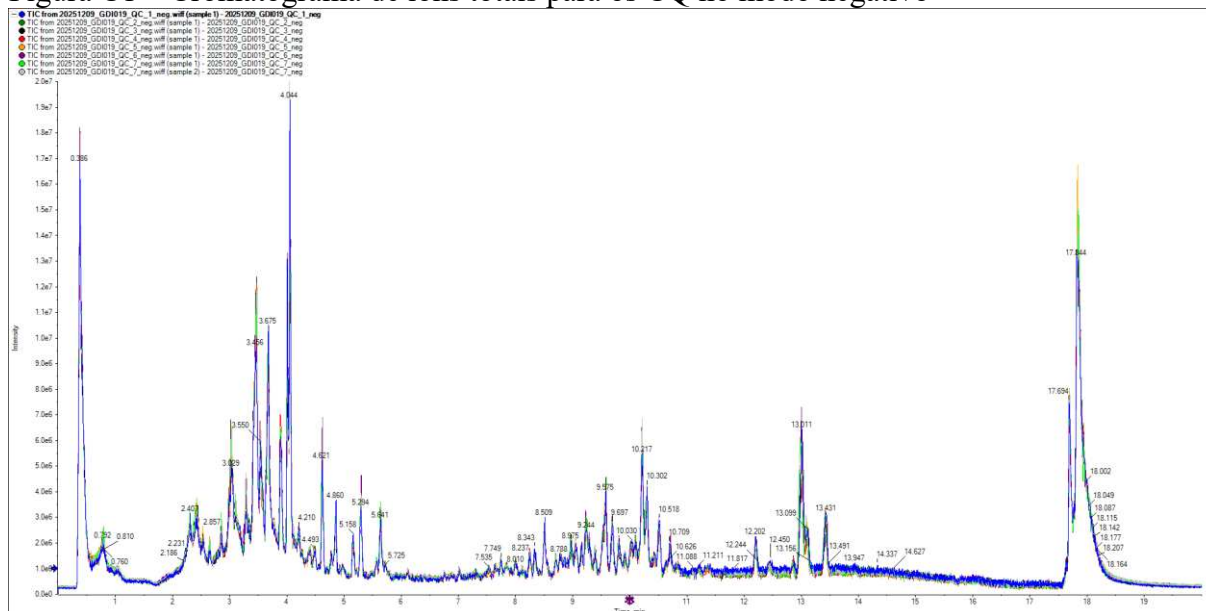


FiguraB3 – Mapa de contorno HMBC para o composto 1



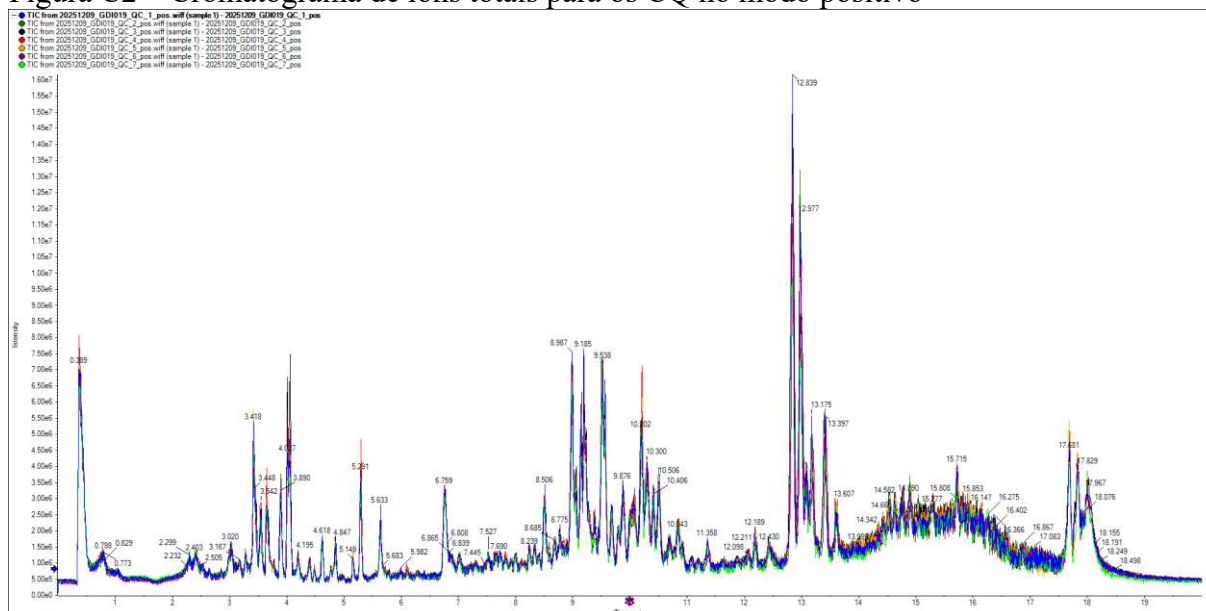
APÊNDICE C – IMAGENS REFERENTES AO ESTUDO METABOLÔMICO PARA A MICROLICIA PARVIFLORA

Figura C1 – Cromatograma de íons totais para os CQ no modo negativo



Fonte: O autor (2026)

Figura C2 – Cromatograma de íons totais para os CQ no modo positivo



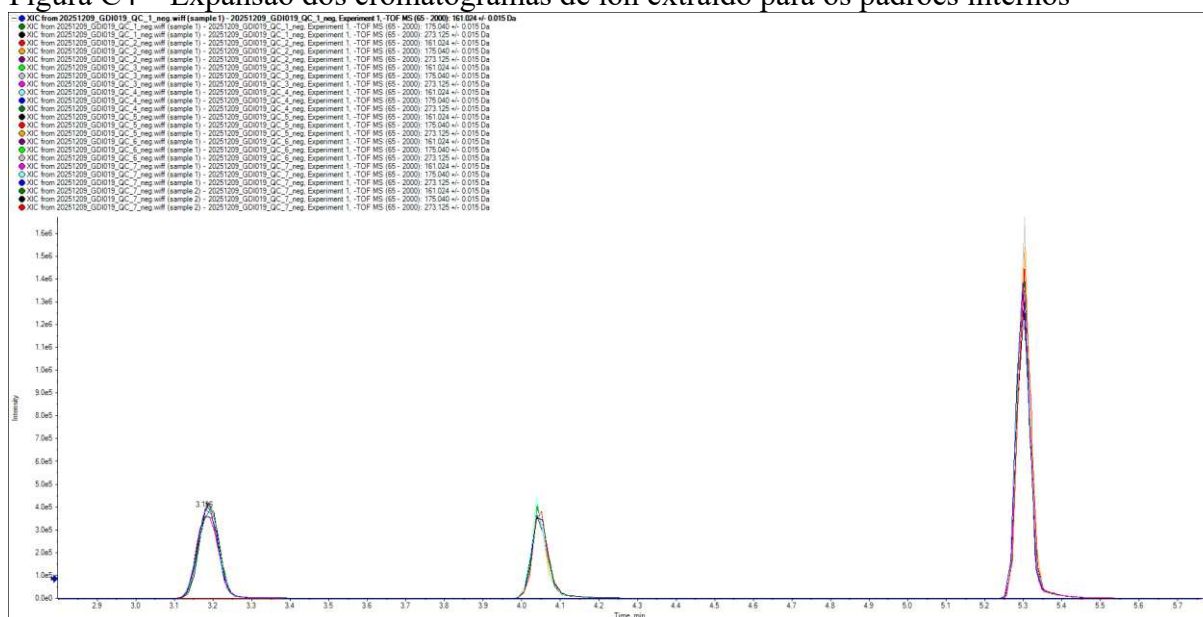
Fonte: O autor (2026)

Figura C3 – Cromatograma de íons extraídos para os padrões



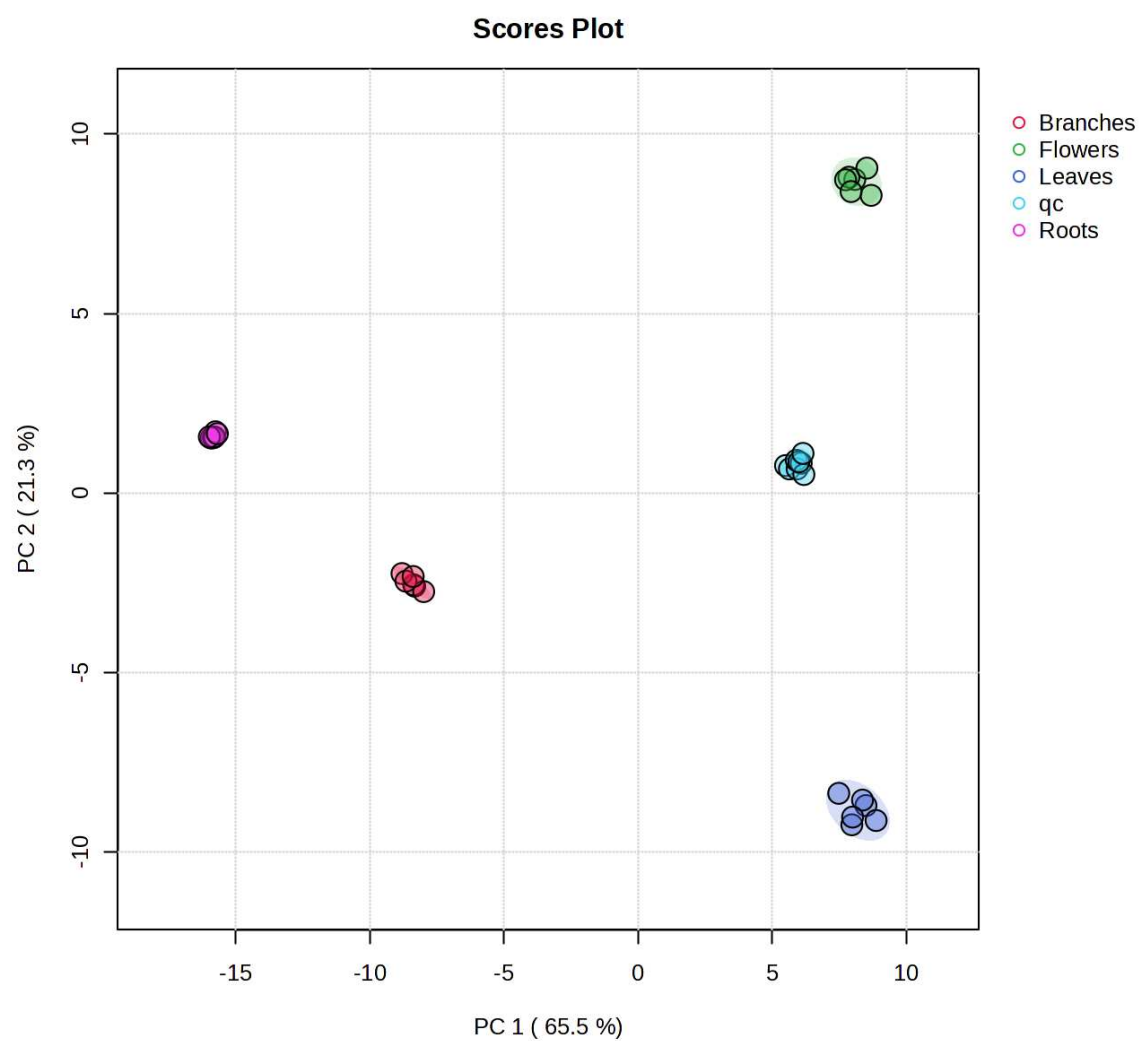
Fonte: O autor (2026)

Figura C4 – Expansão dos cromatogramas de íon extraído para os padrões internos



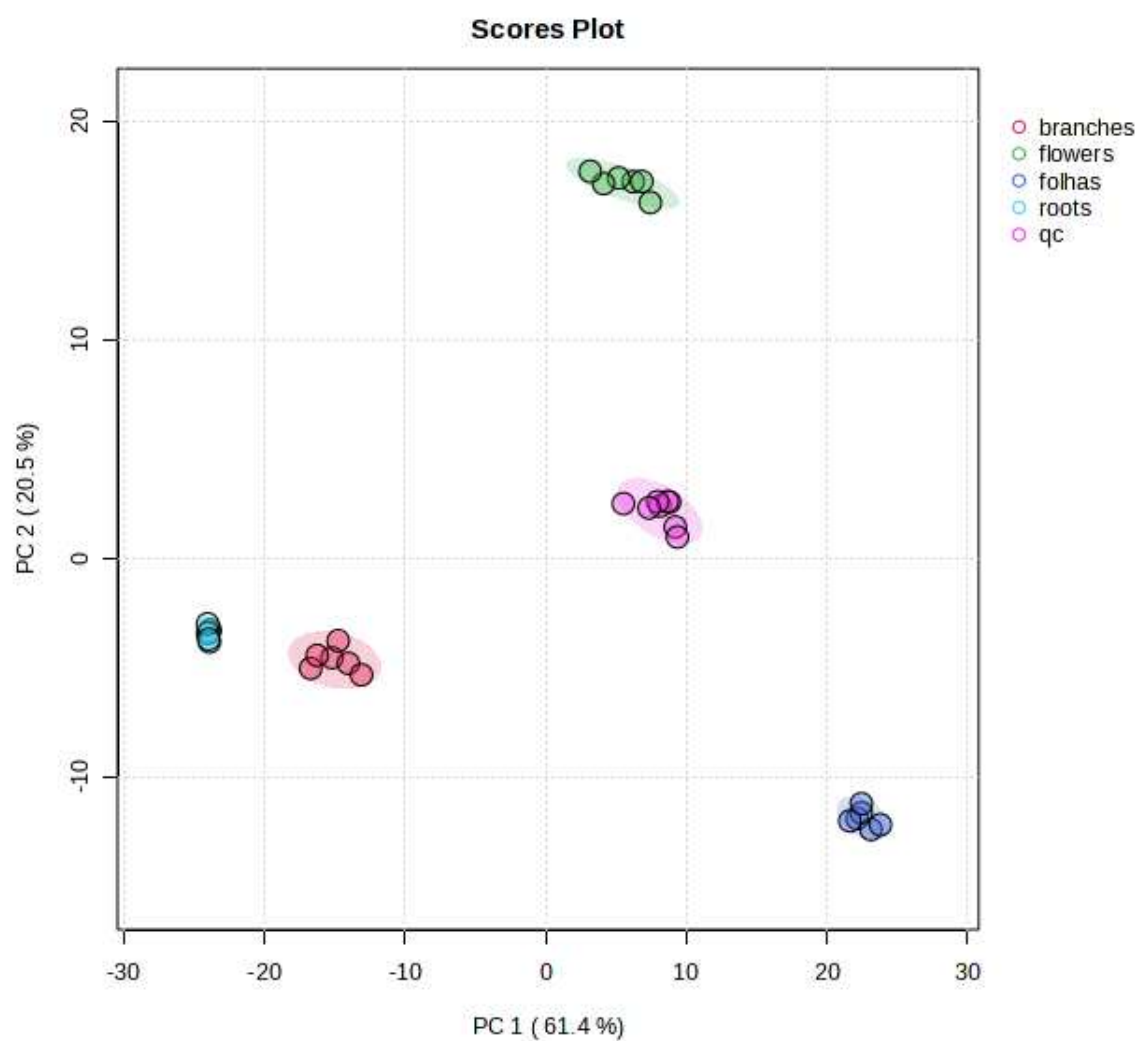
Fonte: O autor (2026)

Figura C5 – PCA com as amostras CQ para os extratos da *Microlicia parviflora* no modo negativo



Fonte: O autor (2026)

Figura C6 – PCA com as amostras CQ para os extratos da *Microlicia parviflora* no modo positivo



Fonte: O autor (2026)

**APÊNDICE D – ESPECTROS DE RMN PARA O ESTUDO COMPARATIVO DE
DIFERENTES ÓRGÃOS DE *Microlicia parviflora***

Figura D1 – Espectro de RMN ^1H do solvente utilizado no preparo dos extratos com padrão interno HMDSO

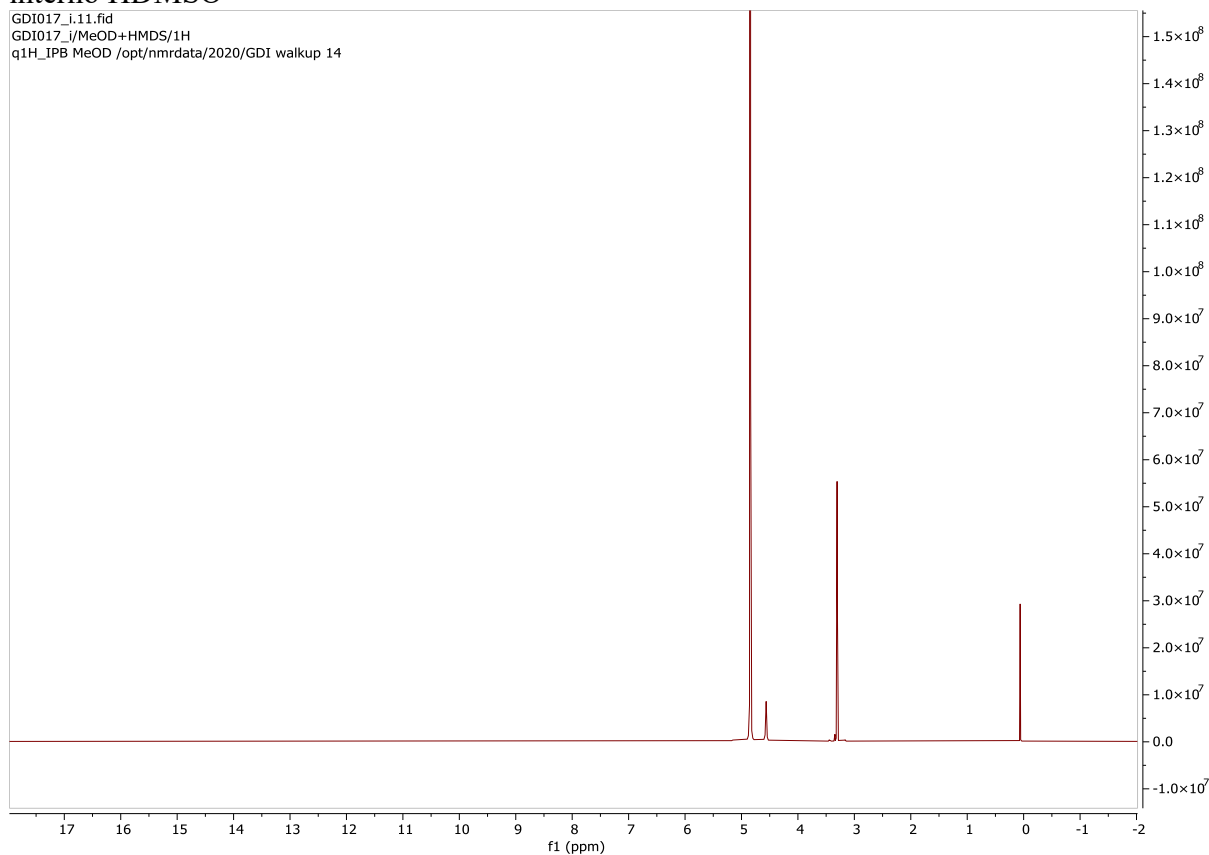


Figura D2 – Expansão do espectro de RMN ^1H do extrato das flores (CD_3OD , 500 MHz) na região de δ 7,9 – 8,12

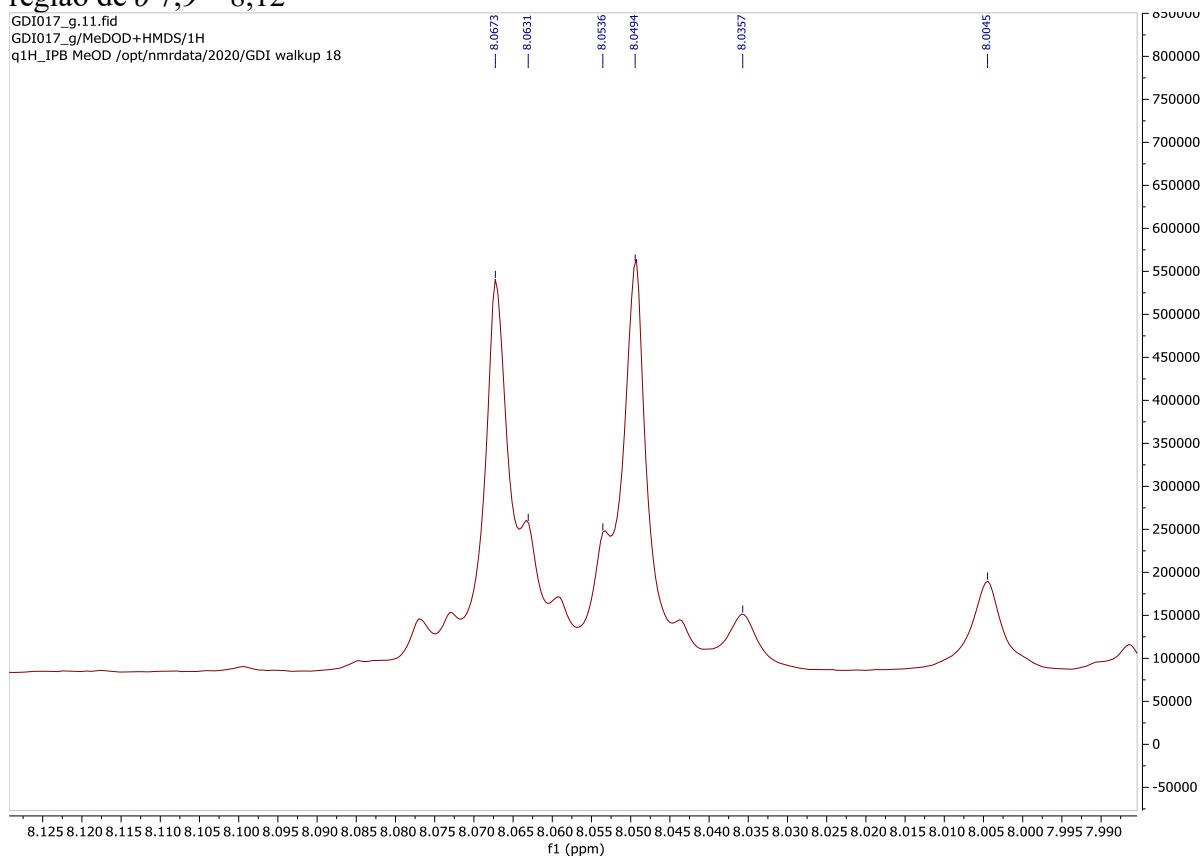
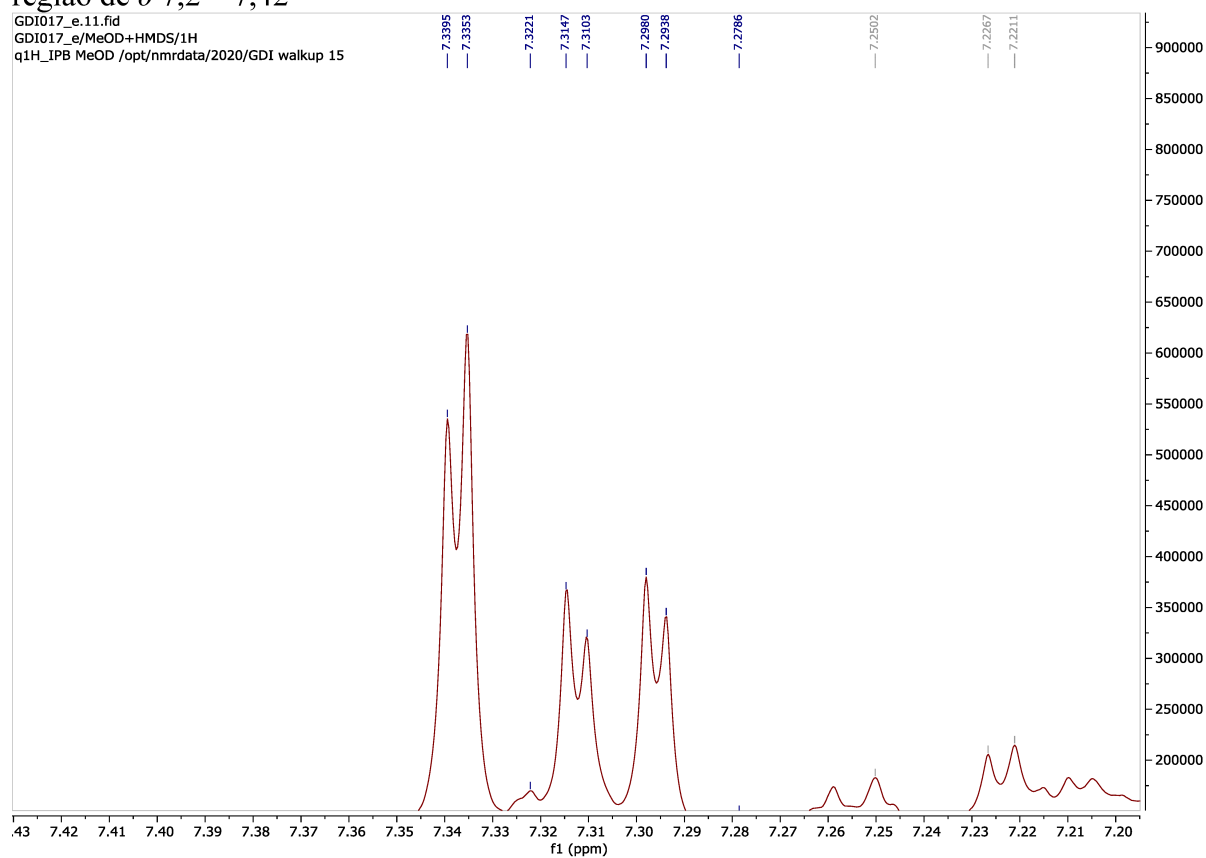


Figura D3 – Expansão do espectro de RMN ^1H do extrato das folhas (CD_3OD , 500 MHz) na região de δ 7,2 – 7,42



APÊNDICE E – ESPECTROS REFERENTES AO TRICOUMAOIL-ESPERMIDINA

Figura E1 – Espectro de massas da fração B1 - 16

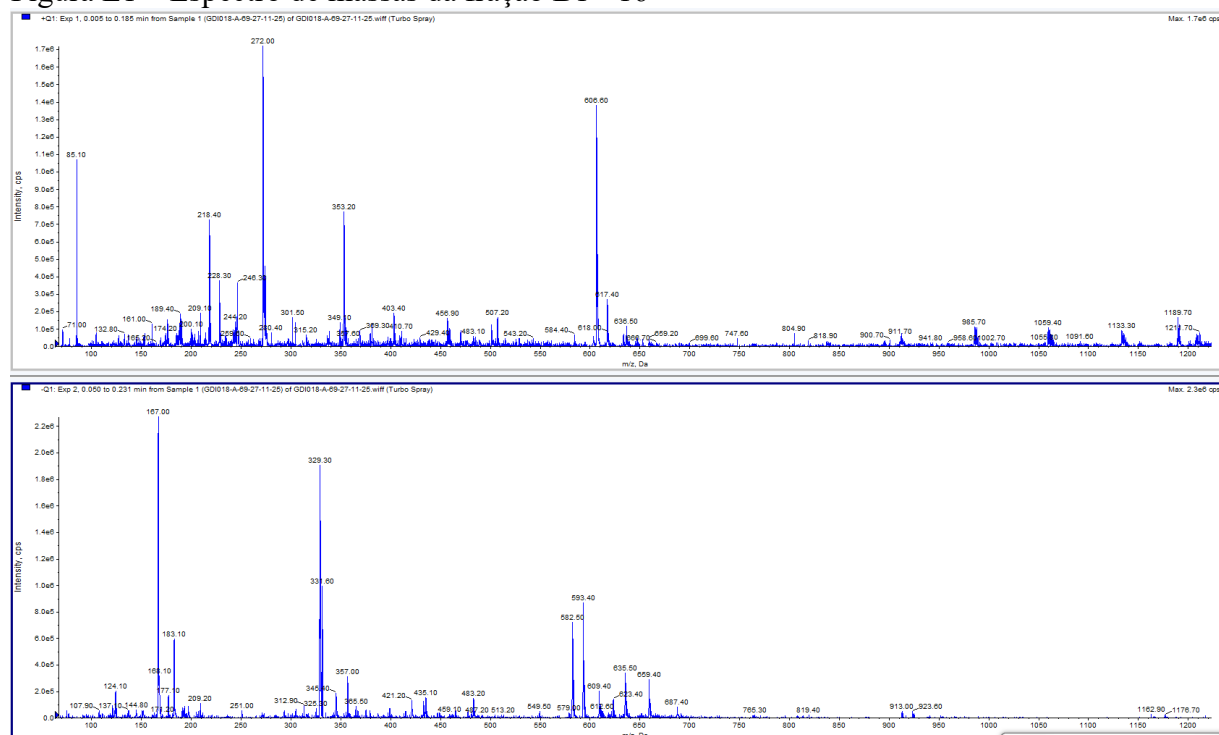
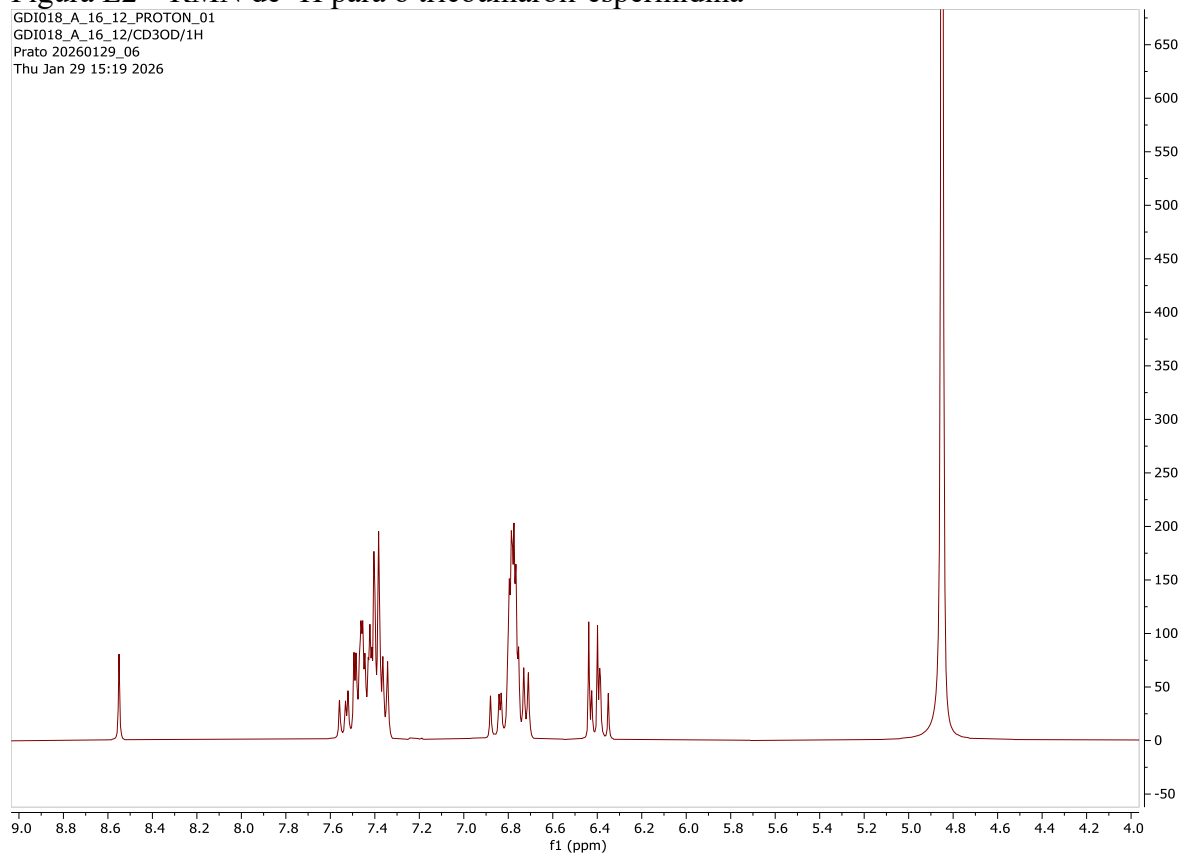


Figura E2 – RMN de ^1H para o tricoumaroil-espermidina



APÊNDICE F – DADOS REFERENTES ÀS FRAÇÕES DOS EXTRATOS HIDROMETANÓLICOS DAS FLORES

Figura F1 – Cromatograma de íons totais para a partição

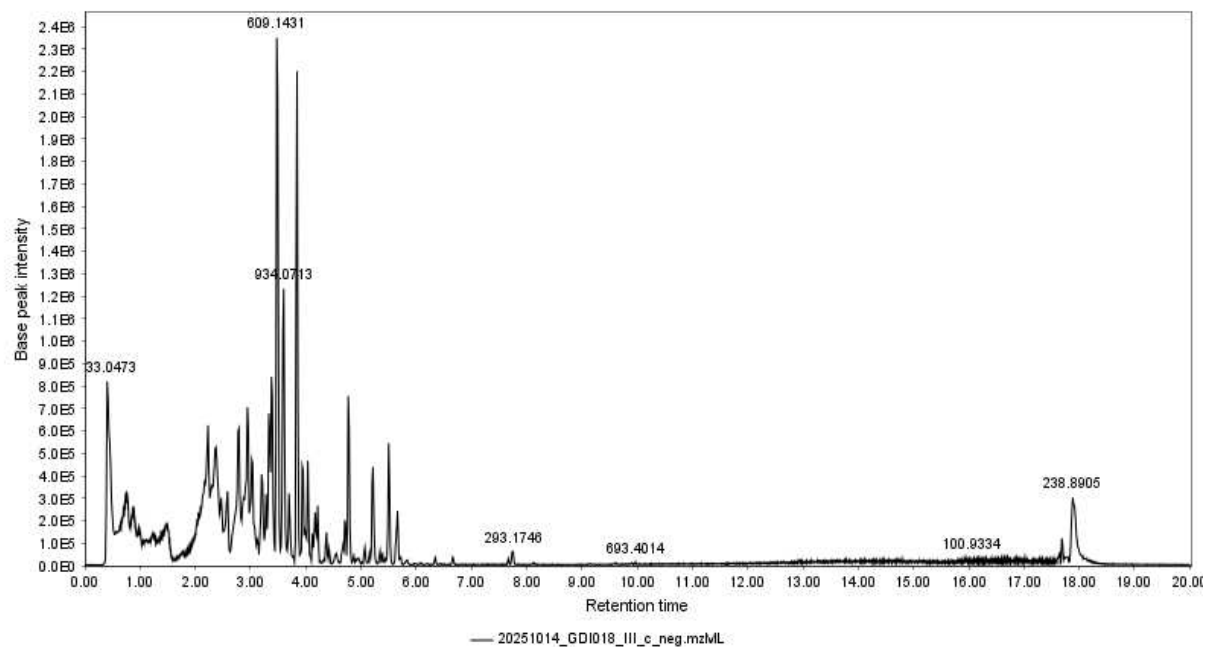


Tabela F1 – Compostos anotados para a fração EMD

t_R (min)	$[M - H]^-$	Massa exata	Erro (ppm)	Íons fragmentos m/z MS/MS	Fórmula molecular	Anotação	Referencia
0,39	331,0652	331,0671	- 5,74	331 , 271, 211, 169, 151, 125	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	Glucogalina	Xiong
0,40	933,0655	933,0640	1,61	933 , 915, 871, 613, 493, 301	C ₄₁ H ₂₆ O ₂₆	Castagalina	Singh
0,41	487,1175	--	--	487 , 469, 331,	--	Derivado de ácido gálico	--
0,42	1400,0088 ¹	--	--	1867, 1849, 1831, 1400, 933, 915, 871, 613, 301	--	Tanino hidrolisável	--
0,47	483,0767	483,0780	- 2,69	483 , 331, 313, 301, 169, 125	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	Digaloil glicose	Singh
0,48	783,0677	783,0686	- 1,15	783 , 483, 301, 275	C ₃₄ H ₂₄ O ₂₂	Penduculagina	Singh
1,93	633,0712	633,0733	- 3,32	633 , 463, 301, 275	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₈	HHDP galoil hexosídeo	Singh
2,16	953,0928	953,0902	2,73	953 , 935, 783, 633, 301, 275	C ₄₁ H ₃₀ O ₂₇	Ácido chebulágico	Wang
2,78	463,0521	463,0518	0,65	463, 301 , 300, 283, 272, 257, 244, 228	C ₂₀ H ₁₅ O ₁₃	Ácido elágico-hexosídeo	

3,12	934,0717	934,0718		1567, 1085, 934 , 783, 633, 451, 301	C ₈₂ H ₅₄ O ₅₂	Sanguinina H6 ou Agrimonina	Aaby, Engström
3,21	1870,5002 2	--	--	1870 , 1402, 935, 301	--	Tanino hidrolisável	--
3,30	684,0982 ¹	--	--	1067, 984, 301 , 275, 279, 169	--	Tanino hidrolisável	--
3,34	300,9980	300,9990		301 , 283, 245, 229, 201, 173, 145	C ₁₄ H ₆ O ₈	Ácido elágico	
3,51	609,1457	609,1461	– 0,66	609 , 301, 300, 275, 255	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	Rutina	Spinola
3,56	463,0871	463,0882	– 2,38	463 , 301, 300, 271, 255, 243	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	Miricetina ramnosídeo	Araujo <i>et al.</i> , 2020; Syabana <i>et al.</i> , 2022
3,78	609,1460	609,1461	– 0,71	609 , 315, 300, 285, 271, 255, 243	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	Miricetina di- rhamnosídeo	
3,97	447,0944	447,0933	2,46	447 , 285, 284, 255, 227	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	Canferol- hexosídeo	
