

ALBANITA DE JESUS RODRIGUES DA SILVA

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FARMACOBOTÂNICO, QUÍMICO E
BIOLÓGICO DE *Tococa guianensis* AUBLET
(MELASTOMATACEAE)**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA
“PROF. DELBY FERNANDES DE MEDEIROS”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS**

João Pessoa - PB

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ALBANITA DE JESUS RODRIGUES DA SILVA

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FARMACOBOTÂNICO, QUÍMICO E
BIOLÓGICO DE *Tococa guianensis* AUBLET
(MELASTOMATACEAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências Saúde, do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS. Área de concentração: FARMACOQUÍMICA.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha

CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a Silene Carneiro do Nascimento

João Pessoa - PB

2008

S58bc Silva, Albanita de Jesus Rodrigues.

Contribuição ao estudo farmacobotânico, químico e biológico de *Tococa guianensis* Aublet, (Melastomataceae), 2008.

João Pessoa, 2008.

218p.:il._

Orientador: Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha

Tese (doutorado) – UFPB/CCS/LTF

1. Química – Produtos Naturais 2. *Tococa guianensis*
2. *Tococa guianensis* 3. Técnica hifenada 4. Flavonóides
5. Antimicrobiano 6. Citotoxicidade.

UFPB/BC

CDU: 54C

ALBANITA DE JESUS RODRIGUES DA SILVA

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FARMACOBOTÂNICO, QUÍMICO E BIOLÓGICO
DE *Tococa guianensis* AUBLET (MELASTOMATACEAE).**

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha
Orientador

Profa. Dra. Bagnólia Araújo da Silva
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinadora Interna

Profa. Dra. Celidarque da Silva Dias
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinadora Interna

Profa. Dra. Laíse de Holanda Cavalcanti Andrade
(Universidade Federal de Pernambuco)
Examinadora Externa

Profa. Dra. Ivana Maria Fachine Sette
(Universidade Estadual da Paraíba)
Examinadora Externa

Dedicatória

A Deus,

Senhor da minha vida, por sua
benignidade e tão rica misericórdia. Pois
Ele foi quem fez os céus, a terra e tudo
que nela há, e nos dá permissão de
contemplar as suas maravilhas.

À Antônia e Arnaldo (*in memoriam*) meus
pais, pelos seus esforços,
incentivos na minha vida acadêmica.

Agradecimentos

AGRADECIMENTOS

A concretização deste trabalho só foi possível graças à colaboração de diversas pessoas e Instituições às quais desejo, de público, apresentar os meus agradecimentos:

Apresento a minha gratidão ao Deus Trino e Soberano, por me ter sustentado até agora, e pelas suas divinas misericórdias, pois sem o seu maravilhoso auxílio não teria conseguido trilhar esta estrada da vida.

À minha família, pelas orações, carinho, apoio, estímulo, sempre presente em todas as instâncias de minha vida, principalmente em momentos árduos, da qual ressalto: minha mãe, irmãs, irmãos, cunhadas, cunhados, sobrinhas e sobrinhos. Quero, ainda, destacar o apoio de Juliane Fonseca da Silva (sobrinha), e de Arnaldo Rodrigues da Silva Neto (sobrinho), que auxiliaram em programas computacionais, e à Tatiane Fonseca da Silva (sobrinha), pelas matérias extraídas da internet, e de Abrenilson Jesus Rodrigues da Silva (irmão) com o auxílio da revisão do computador, bem como Ângela Carla Rodrigues Ribeiro (irmã) pelo seu grande apoio na redação do Abstract e de textos relacionados à pesquisa. Todas as contribuições foram por demais enriquecedoras para o fecho deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Emídio de Vasconcelos Leitão da Cunha, do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba (LTF-UFPB), pela orientação, sugestões, durante todo o desenvolvimento e redação final da tese.

À Prof^a Dr^a Silene Carneiro do Nascimento, do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (DA-UFPE), pela presença constante, desde a fase embrionária do projeto até a efetivação desta pesquisa, no seu papel de co-orientadora e de amiga, colaborando e sugerindo eficazmente, de modo especial na parte prática e na redação sobre citotoxicidade.

Ao Prof. Dr. Joseph Miller (*in memoriam*), que foi um dos grandes colaboradores incansáveis do LTF-UFPB, que deu total apoio na elaboração do projeto de doutorado, doando o seu tempo, bem como a sua bagagem científica na posição de colaborador renomado junto aos órgãos de financiamento do presente estudo, onde eu externo meu especial apreço.

À Prof^a Dr^a Laíse de Holanda Cavalcanti Andrade, do Departamento de Botânica-UFPE, por ter sido sempre atuante na minha vida acadêmica e pela pessoa que é, demonstrando grande equilíbrio, sapiência, ética e esmero no desenvolver da sua função, procurando, em todos os momentos, fazer o melhor por seus alunos, dignificando plenamente o seu papel de educadora e de ser humano nesta face da Terra. Tudo isso revelado em suas orações e no delineamento da redação da Tese. Muito obrigada por tudo.

Ao Prof. Dr. Norberto Peporine Lopes e, ao Pesquisador Dr. Leonardo Gobbo Neto, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade Federal de São Paulo (USP), pela prestimosa colaboração nas análises de substâncias polares pelo método hifenado e pela paciência, referente às discussões oriundas da interpretação dos dados, bem como pelas críticas e sugestões, durante a redação final do texto. Serei sempre grata.

À Prof^a Dr^a Márcia Silva do Nascimento, do DA-UFPE, às suas orientandas Cláudia de Albuquerque Maranhão e Andréia Delmiro Bandeira, do Curso de Pós-Graduação de Química Fundamental, do Departamento de Química Fundamental – UFPE (DQF-UFPE), que disponibilizaram o espaço físico do Laboratório de Produtos Naturais, bem como material Sephadex LH-20 e cromatoplacas para trabalhar as substâncias polares, e o aparelho de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

(CLAE), para o monitoramento das substâncias. Acrescento, ainda, o enriquecimento das discussões em Seminários organizados pela referida professora.

Ao Prof. Dr. Valmar Correa de Andrade, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pela minha iniciação à pesquisa, onde fui preparada para leitura botânica em latim, e o desenvolvimento de estudos da família Leguminosa em nível *Lato sensu*, e que promoveu o meu forte interesse pela área botânica, pois me despertou a leitura da potencialidade desta área para a comunidade.

À Prof^a Dr^a Alda de Andrade Chiappeta, do Departamento de Antibióticos-UFPE, que disponibilizou o Laboratório de Microbiologia no DA-UFPE, auxiliando nos ensaios antimicrobianos e na documentação fotográfica dos resultados.

Ao Prof. Dr. Fernando Hallwass e ao Técnico Ricardo Oliveira da Silva, da Central Analítica do DQF-UFPE, pela execução de experimentos de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-¹H), para o monitoramento das frações potencialmente flavonoídicas.

Ao Técnico Vicente Carlos Costa, do LTF-UFPB, por ter contribuído com os experimentos em RMN, auxiliando na seleção do grupo químico para a execução desta pesquisa.

Ao Técnico Raimundo Nonato da Silva, do LTF-UFPB, que sempre me apoiou nas atividades laboratoriais, principalmente em situações bem difíceis. Também estendo os meus agradecimentos aos demais técnicos e auxiliares desta casa.

Ao Prof. Dr. Marcos Salgado Vital, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Roraima - UFRR, pelo papel de coordenador nas definições do custeio da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Frank James Pinheiros, do Departamento de Biologia – UFRR, pela prestimosa colaboração referente à elaboração gráfica do índice de estudos etnobotânicos de espécies da família Melastomataceae.

Ao Prof. Dr. Nicácio Henrique da Silva e ao Técnico João Antônio Virgínio do Departamento de Bioquímica-UFPE, que auxiliaram no “screening” fitoquímico e monitoramento de cromatografias de camada delgada e preparativa das substâncias.

Ao Desenhista Frank Silva, pela confecção das ilustrações do material botânico e dos mapas.

À Professora Rivane Siqueira Pontes, pelo grande apoio, no tocante à revisão gramatical dos textos das pesquisas, muito obrigada.

À Janaína Versiani dos Anjos, aluna do Curso de Pós-Graduação do DQF-UFPE, por ter fornecido o Programa ChemDraw Ultra 7.0, contribuindo, dessa forma, para as ilustrações das estruturas.

Aos colegas da Pós-Graduação e de iniciação, dos quais ressalto o apoio de Marco Antônio Ventura Romero, Stanley Yuan Chavez Gutierrez, Kristerson Reinaldo Luna Freire, Roberto Jefferson Bezerra do Nascimento, Thaísa Luti Rolim e Raquel Bezerra de Sá de Souza Nogueira.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro referente ao Programa de Qualificação Interinstitucional (PQI) que possibilitou a execução desta pesquisa.

À Universidade Federal de Roraima (UFRR), por todas as facilidades concedidas durante o desenvolvimento deste trabalho, principalmente ao Prof. Dr Roberto Ramos quando na posição de Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação; e da Mestre Eneida Jucene Cavalcanti do Departamento de Biologia, que muito me

apoiou na finalização desta pesquisa junto ao mesmo, no tocante ao meu afastamento das atividades didático-pedagógicas para a concretização deste Doutorado.

Ao Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” da Universidade Federal da Paraíba (LTF-UFPB), ao Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva (antigo Diretor), e à Profª Drª Silvana Sales Jales (atual Diretora), que permitiram a liberação do espaço físico para a execução de parte da pesquisa.

Ao Programa de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, representado pela Profª Drª Bagnólia Araújo da Silva (antiga Coordenadora), e pelo Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho (atual Coordenador), Tânia Maria Alves de Araújo (Secretária do Programa), e demais Professores do Programa, que muito contribuíram para a minha formação e execução da pesquisa.

À Superintendência do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis em Boa Vista/RR, representada por Ademir Junes dos Santos (antigo Gerente Executivo IBAMA/RR), e Nilva Cardoso Baraúna (atual Gerente Executivo IBAMA/RR), pela liberação e registros das plantas para o processo de deslocamento do material botânico, oriundo de Roraima, para a realização de estudos taxonômicos e fitoquímico.

Ao Departamento de Antibióticos (DA-UFPE), nas pessoas da Profª Drª Silene Carneiro do Nascimento (antiga Chefe), Profª Drª Juliana Ferreira Cavalcanti de Albuquerque (atual Chefe), das Técnicas Maria dos Desterros Rodrigues e Maria Suzete Mendonça, pela liberação dos espaços físicos e pelo apoio aos experimentos executados neste Departamento.

Ao Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA-UFPE), nas pessoas da Profª Drª Cristina Alves Peixoto (antiga Chefe), e do Prof. Dr. Luiz Carlos Alves

(atual Chefe), e do Técnico Rafael José Ribeiro Padilha, que permitiram o desenvolvimento das análises micromorfológicas de estruturas foliares em microscopia eletrônica de varredura.

À Biblioteca Central da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), nas pessoas de Ana Katarina de Araújo e Edna de Andrade Saturno, por ter nos assistido com material bibliográfico das pesquisas delineadas nesta Tese.

RESUMO

Tococa guianensis Aublet (Melastomataceae) é uma espécie mirmecofítica com defesa anti-herbivoria, que tem ocorrência conhecida para o estado de Roraima. O presente trabalho teve o objetivo de contribuir com o estudo farmacobotânico, químico e biológico de *T. guianensis*. Fragmentos da folha e hipânquio foram desidratados e montados em suportes, sendo estes submetidos à metalização com banho de ouro e em seguida analisados em microscópio eletrônico de varredura para a verificação do tipo de indumento e estômato. Preparou-se o extrato etanólico bruto a 95% das partes aéreas de indivíduos pertencentes à referida espécie, em seguida foi particionado nas fases hexânica, clorofórmica e de acetato de etila, que foi procedida a cromatografia desta última fase pelo método clássico e cromatografia líquida em alta eficiência (CLAE), sendo ainda o material analisado pela técnica hifenada CLAE-DAD, CLAE-DAD-EM e CLAE-DAD-EM/EM; também foram desenvolvidos ensaios biológicos do tipo citotóxico (linhagens do tipo HEP-2 e KB) e antimicrobiano de *T. guianensis*. Com relação aos resultados, esta espécie apresentou três tipos de tricomas foliares, o primeiro simples, o segundo do tipo secretor multisseriado e o terceiro secretor-glandular, o estômato é do tipo anisocítico; foram identificados 17 flavonóides, dos quais 15 são flavonóis distribuídos em 3 canferóis, 5 miricetinas e 7 quercetinas, sendo 13 glicosilados em 3-O-glicosilação, 2 flavonas glicosilados em 6 e 8-C-glicosilação; 1 substância com 2 isômeros de posição, com fragmentações do massa que correspondem a compostos polifenólicos, outra substância com 2 isômeros de posição e são possíveis flavonóides, e mais 2 metabólitos secundários que pelo UV indicam ser flavonóides, mas que não foi possível registrar a faixa de fragmentação. Quanto às atividades biológicas, os flavonóis hiperina e isoquercetina indicaram baixa citotoxicidade, tendo Cl_{50} menor que 10 μ /mL, o fato marcante para o efeito deste resultado, deve-se a presença de um núcleo básico de quercetinas 3-O-glicosídeos que promove hidrância estérica, compatível aos recentes estudos; em nível antimicrobiano, o extrato bruto foi ativo para *Micrococcus luteus* (Schoeter) Cohn e *Staphylococcus aureus* Rosembach, a fase clorofórmica foi ativa para *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn e *M. luteus*, a fase acetato de etila foi ativa para *M. luteus* e parcialmente ativa para *S. aureus* Rosembach, os resultados da atividade estão associados às substâncias polares, uma vez que foi negativa para a fase hexânica. A análise de tricomas revelou a presença de tricoma longo multisseriado e secretor ainda não referido para *T. guianensis*; quanto ao estudo químico, os 17 flavonóides são reportados pela primeira vez para o gênero *Tococa* Aublet e o padrão de glicosilação corresponde ao da família Melastomataceae; a baixa citotoxicidade deve-se à hidrância estérica; a atividade antimicrobiana está potencialmente relacionada aos compostos fenólicos e polifenólicos, em *T. guianensis* estão presentes substâncias com atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Palavras-chave: Melastomataceae, *Tococa guianensis*, flavonóides, técnica hifenada, citotoxicidade, antimicrobiano.

ABSTRACT

Tococa guianensis Aublet (Melastomataceae) is a mymercophytics species with anti-herbivore defense, whose occurrence is known for the State of Roraima. This study aimed at contributing to the pharmacobotanical, chemical and biological studies of *T. guianensis*. Leave fragments and hypanthium were dried and mounted in supports, being the latter subjected to metal plating with bath of gold and then examined in a scanning electronic microscopic to check the type of indumentum and stomata. The 95 % crude ethanol extract of the aerial parts of individuals belonging to the species was performed and then was partitioned in hexane, chloroform and ethyl acetate phases. The chromatography of the latter was carried out through the classic method and high performance liquid chromatography (HPLC), and submitted to the hyphenated technique HPLC-DAD, HPLC-DAD-MS and HPLC-DAD-MS/MS; cytotoxic (HEp-2 and KB cell lines) and antimicrobial biological tests were also developed for *T. guianensis*. Regarding the results, this species showed three types of leaf trichomes: the first was single, the second of the multiseriate secretor-type and the third one gland-secretor. The stoma is of the anisocytic-type. 17 flavonoids were identified, all reported for the first time for the genus *Tococa* Aublet, of which 15 are flavonols distributed in 3 kaempferols, 5 myricetins and 7 quercetins, being 13 glycosylated on 3-O-glycosylation, 2 glycosylated flavones on 6 and 8-C-glycosylation; 1 substance with 2 isomers of position, with fragmentation of mass corresponding to polyphenolic compounds, another substance with 2 isomers of position and are probably flavonoids, and 2 more secondary metabolites that seem to be flavonoids according to the UV indication, but it was not possible to record the range of fragmentation. Concerning the biological activities, the flavonols hyperine and isoquercetin showed low cytotoxicity, with IC₅₀ less than 10 µ/mL, the marked fact for this result was due to the presence of a basic nucleus of quercetins 3-O-glycosides which promotes steric hydrance, compatible to recent studies; at the antimicrobial level, the crude extract was active against *Micrococcus luteus* (Schoeter) Cohn and *Staphylococcus aureus* Rosembach, the chloroform phase was active against *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn and *M. luteus*, the ethyl acetate phase was active against *M. luteus* and partially active against *S. aureus* Rosembach; the results of activity are associated with the polar substances, since it was negative for the hexane phase. The analysis of trichomes revealed the presence of mutiseriate and secretory long trichome not yet reported for *T. guianensis*. Regarding the chemical study, all flavonoids are reported for the first time in the genus *Tococa* Aublet, and the pattern of glycosylation corresponds to the family Melastomataceae. The low cytotoxicity is due to steric hydrance; the antimicrobial activity is potentially related to phenolic and polyphenolic compounds, substances with antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative are present in *T. guianensis*.

Keywords: Melastomataceae, *Tococa guianensis*, flavonoids, hyphenated technique, cytotoxicity, antimicrobial.

LISTA DE ABREVIATURAS, NOMENCLATURAS E SIGLAS

AAR: Álcool-Ácido-Resistente

AN: Ágar Nutritivo

Ar: Argônio

Arab: Arabinosídeo

Arabi: Arabinose

ATP: Trifosfato de Adenosina

CCDC: Cromatografia em Camada Delgada Comparativa

CG: Cromatografia Gasosa

CG-EM: Cromatografia Gasosa com Detectores de Espectrometria de Massa

CHCl₃: Clorofórmio

CI₅₀: Concentração de uma substância ou droga, que inibe 50% da proliferação celular

CID: Dissociação Induzida por Colisão

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CLAE-DAD-EM: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada com Detectores com Arranjo de Diodo e Espectrometria de Massa

CLAE-EM: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massa

CLAE-EM-RMN: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Espectrometria de Massa e Ressonância Magnética Nuclear

CL: Cromatografia Líquida

CL-EM: Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massa

CL-RMN: Cromatografia Líquida Acoplada à Ressonância Magnética Nuclear

CMI: Concentração Mínima Inibitória

CoA: Coenzima-A

DAD: Detectores com Arranjo de Diodos

DAH_P: Ácido 3-desoxi-D-arabino-Heptolosônico-7-fosfato

EMⁿ: Múltiplos Estágios de Isolamento do Íon Precursor e Fragmentação por CID

EM ou MS: Espectrometria de Massa

EPSF: Ácido 5-enolpiruvil-chiquímico-3-fosfato

eV: Eletrovolts

Gala: Galactosídeo
Galac: Galactose
GL: Glicose levedura
Gli: Glicosídeo
Glic: Glicose
Glip: Glicopiranosídeo
HAc: Ácido acético
HEp-2: Derivados de Carcinoma Epidermóide de Laringe
H₂O: Água
IES: Ionização por Eletrospray
KB: Carcinoma Epidermóide de Boca
md: Desvio médio
Me: Metila
MeO: Metoxila
CH₃OH: Metanol
MTT: Brometo 3-[4,5-dimetil(tiazolil)-3,5-difenil]tetrazólico
[M+H]⁺: Molécula protonada
[M-H]⁻: Molécula desprotonada
m/z: Massa/Carga
NAD⁺: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NADH: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (reduzida)
NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato (reduzida)
NaOH: Hidróxido de sódio
nm: Nanômetro
PAL: Fenilalanina Amônia liase
pb: Pico base
PDA: Arranjo Foto-Diodo
PEP: Fosfoenolpiruvato
ppm: Partes por milhão
QqTOF: Analisadores Tipo Quadrupolo e Tempo de Vôo em Seqüência
Ram: Raminosídeo
Ramn: Ramnose
RDA: Retro-Diels-Alder
RMN: Ressonância Magnética Nuclear

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

SAB: Saboraud

sh:Shoreder

TSG: Tricoma Secretor Glandular

UV: Ultra Violeta

UVmax: Absorção máxima em Ultra Violeta

Xil: Xilosídeo

Xilo: Xilose

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Distribuição das espécies neotropicais e paleotropicais da família Melastomataceae.....46
- Figura 2 – Distribuição das plantas frente aos estudos etnobotânicos de Melastomataceae, segundo sistemas corporais ou propriedades farmacológicas atribuídas pelo uso.....51
- Figura 3 – O índice de espécies da família Melastomataceae com estudos etnobotânicos segundo a literatura (Série 1: refere-se ao número de espécies ocorrentes; Série 2 espécies referidas na literatura com estudos etnobotânicos).....52
- Figura 4 – Distribuição mundial de representantes da família Melastomataceae com perfil farmacológico.....54
- Figura 5 – Níveis de mecanismo da ação dos princípios ativos de Melastomataceae com base nos registros bibliográficos.....57
- Figura 6 – Caracteres morfológicos de *Tococa guianensis* Aublet: (A) detalhe da filotaxia oposta cruzada e inflorescência terminal, (B) disposição dos tricomas simples na lâmina foliar da abaial, (C) aspecto da pétala da corola, (D) estame falciforme e poricida.....61
- Figura 7 – Detalhes da lâmina foliar de *Tococa guianensis* Aublet em microscopia eletrônica de varredura: (A) Tricoma fibroso do vaso principal na face abaxial; (B) Filete envolvendo tricoma fibroso.....66
- Figura 8 – Detalhes da lâmina foliar de *Tococa guianensis* Aublet em microscopia eletrônica de varredura: (A) Papilas nos ductos do tricoma fibroso; (B) Secção transversal da base do tricoma fibroso; (C) Secção longitudinal do tricoma fibroso.....67

Figura 9 – Detalhes da superfície foliar <i>Tococa guianensis</i> Aublet em microscopia eletrônica de varredura: (A) Tricoma glandular sobre o vaso principal da área foliar da face abaxial; (B) Tricoma glandular distribuído em toda superfície abaxial.....	68
Figura 10 – Detalhes do estômato da lâmina foliar de <i>Tococa guianensis</i> Aublet em microscopia eletrônica de varredura: (A) Distribuição dos estômatos na face abaxial; (B) Aspecto do estômato hipoestomático; (C) Tricoma eglandular (simples), do hipânquio.....	69
Figura 11 – Núcleo fundamental dos flavonóides.....	72
Figura 12 – Esqueleto básico das principais estruturas dos flavonóides.....	73
Figura 13 – Esquema da primeira etapa da rota biossintética dos flavonóides (DEWICK, 2002).....	75
Figura 14 – Esquema da segunda etapa da rota biossintética dos flavonóides (DEWICK, 2002).....	76
Figura 15 – Relação das tribos frente ao número de gêneros e espécies, com a presença de flavonóides. 1: Tribo Miconieae, 2: Tribo Dissochaeteae, 3: Tribo Meranieae, 4: Tribo Microlicieae, 5: Tribo Melastomeae.....	78
Figura 16 – Particionamento do extrato da parte aérea de <i>Tococa guianensis</i> Aublet.....	134
Figura 17 – Tipo de fragmentação ocorrente em flavonóides por Retro Diels-Alder.....	140
Figura 18 – Cromatografia por CLAE-DAD e UV da fase acetato de <i>Tococa guianensis</i> Aublet , registrada a 270nm. (Lê-se: A = Pico 1; B = Pico 2; C = Pico 3; D = Pico 4; E = Pico 5; F = Pico 6; G = Pico 7; H = Pico 8; I = Pico 9; J = Pico 10; K =	

11; L = Pico 12; M = Pico 13; N = Pico 14; O = Pico 15; P = Pico 16; Q = Pico 17; R = Pico 18; S = Pico 19; T = Pico 20; U = Pico 21; V = Pico 22; W = Pico 23; X = Pico 24; Y = Pico 25; Z = Pico 26; Ω = pico 27.....141

Figura 19 – Dados do íon molecular de Miricetina e Quercetina com seus radicais (A); Processo de fragmentação do flavonol aglicona por retrociclização da clivagem do anel-C (B).....142

Figura 20 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para o pico 19 por CLAE-DAD-EM/EM.....143

Figura 21 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para o pico 20 por CLAE-DAD-EM/EM.....144

Figura 22 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para o pico 8 por CLAE-DAD-EM/EM.....150

Figura 23 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para o pico 9 por CLAE-DAD-EM/EM.....151

Figura 24 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para os picos 10 e 11 por CLAE-DAD-EM/EM.....152

Figura 25 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para o pico 12 por CLAE-DAD-EM/EM.....153

Figura 26 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para o pico 13 por CLAE-DAD-EM/EM.....	154
Figura 27 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para o pico 14 por CLAE-DAD-EM/EM.....	155
Figura 28 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para o pico 15 por CLAE-DAD-EM/EM.....	156
Figura 29 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para o pico 16 por CLAE-DAD-EM/EM.....	157
Figura 30 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidos para o pico 17 por CLAE-DAD-EM/EM.....	158
Figura 31 – Identificação, substância, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para o pico 18 por CLAE-DAD-EM/EM.....	159
Figura 32 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo), obtidas para o pico 21 por CLAE-DAD-EM/EM.....	162
Figura 33 – Fórmulas moleculares, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização positiva, obtidas para o pico 24 por CLAE-DAD-EM/EM.....	169

Figura 34 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa, obtidas para o pico 5 por CLAE-DAD-EM/EM.....	167
Figura 35 – Fórmulas moleculares, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa, obtidas para o pico 4 por CLAE-DAD-EM/EM.....	168
Figura 36 – Espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa (acima), epositiva (abaixo) obtidas para o pico 23 por CLAE-DAD-EM/EM.....	169
Figura 37 – Fórmula molecular, espectros de UV e massas de íons produtos nos modos de ionização negativa, obtidos para o pico 25 por CLAE-DAD-EM/EM.....	170
Figura 38 – Faixa da atividade antimicrobiana de espécies de Melastomataceae frente a <i>Staphylococcus aureus</i> Rosembach e <i>Micrococcus luteus</i> (Schoeter) Cohn, relacionada aos dados de <i>Tococa guianensis</i> Aublet segundo o método de difusão registrado na literatura.....	187
Figura 39 – Posição taxonômica dos gêneros de Melastomataceae (<i>strictu sensu</i>), com base nos dados de <i>rpII6</i> (CLAUSSING & RENNER, 2001, adaptado).....	190
Figura 40 – Relações filogenéticas de <i>Tococa stricto sensu</i> com as espécies do mesmo gênero e do gênero <i>Miconia</i> (MICHELANGELI, 2000, adaptado).....	191

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Relação das espécies e do tipo de flavonóide isolado da família Melastomataceae, com base na literatura.....80
- Tabela 2** – Estruturas das chalconas isoladas de extratos de alta polaridade das folhas de representante de Melastomataceae.....102
- Tabela 3** – Estruturas de isoflavonas isoladas em extratos de média polaridade da parte aérea de representantes de Melastomataceae.....102
- Tabela 4** – Estrutura de flavano isolada de extrato alta polaridade de flores de representante de Melastomataceae.....102
- Tabela 5** – Estruturas de flavonas isoladas em extratos de média a alta polaridade das partes aéreas de espécies de Melastomataceae.....103
- Tabela 6** – Estruturas de flavonóis isoladas em extratos de alta polaridade das partes aéreas de espécies de Melastomataceae.....114
- Tabela 7** – Identificação dos picos cromatográficos obtidos da fase acetato da parte aérea de *Tococa guianensis* Aublet e Dados de UV e Espectrometria de massas obtidas por CLAE-DAD-EM e CLAE-DAD-EM/EM, em alta resolução.....171
- Tabela 8** – Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico e das fases clorofômica e acetato de etila das partes aéreas de *Tococa guianensis* Aublet.....187

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 – Representantes de Melastomataceae, com perfil quimiotaxonômico em nível de flavonóides segundo a literatura.....	78
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Evidências do Uso Medicinal das Plantas.....	28
1.1.1 O Uso das Plantas Medicinais na Antiguidade.....	28
1.1.2 Uso das Plantas Medicinais em Nível Contemporâneo.....	30
1.1.3 Utilização das Plantas Medicinais no Brasil.....	33
1.2 Problema e objeto da Pesquisa.....	35

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral.....	39
2.2 Objetivos Específicos.....	39

3 ESTUDO FARMACOBTÂNICO DE *Tococa guianensis* AUBLET

3.1 Material e Métodos.....	42
3.1.1 Levantamento Bibliográfico sobre os Recursos Medicinais e Farmacológicos de Melastomataceae.....	42
3.1.2 Análise do Levantamento Bibliográfico sobre os Recursos Medicinais e Farmacológicos de Melastomataceae.....	42
3.1.3 Material Estudado.....	42
3.1.4 Micromorfologia de Tricomas e Estômato de <i>Tococa guianensis</i> Aublet.....	43
3.2 Resultados e Discussão.....	44
3.2.1 Abordagem dos Estudos Bibliográficos Referentes aos Recursos Medicinais de Melastomataceae.....	44
3.2.2 Informações dos Estudos Bibliográficos sobre Ensaios Farmacológicos de Melastomataceae.....	52
3.2.3 Visão Global da Taxonomia de Melastomataceae.....	57
3.2.4 Micromorfologia dos Tricomas e Estômato de <i>Tococa guianensis</i> Aublet.....	62

4 ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Tococa guianensis* AUBLET

4.1 Revisão de Flavonóides em Melastomataceae.....	71
4.1.1 Abordagem Geral dos Flavonóides.....	71
4.1.2 Biossíntese dos Flavonóides.....	73
4.1.3 Flavonóides Ocorrentes em Melastomataceae.....	77
4.2. O Emprego da Técnica Hifenada na Identificação de Flavonóides da Fase Acetato das Partes Aéreas de <i>Tococa guianensis</i>	129
4.3 Material e Métodos.....	133
4.3.1 Extração e Partição dos Constituintes Químicos de <i>Tococa guianensis</i> Aublet.....	133
4.3.2 Cromatografia.....	133
4.3.3 Solventes Empregados.....	135
4.3.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	135
4.3.5 Análise por CLAE – DAD.....	136
4.3.6 Análise por CLAE–DAD–EM e CALE–DAD–EM/EM.....	136

4.3.7 Identificação dos Picos Cromatográficos.....	137
4.4 Resultados e Discussão.....	138
4.4.1 Flavonóides Agliconas de <i>Tococa guianensis</i> Aublet.....	141
4.4.2 Flavonóides Glicosilados de <i>Tococa guianensis</i> Aublet.....	145
4.4.3 Flavonóides do Tipo Cumaroilglicosil-Flavonóis de <i>Tococa guianensis</i> Aublet	160
4.4.4 Picos não Identificados de <i>Tococa guianensis</i> Aublet.....	164

5 ESTUDO BIOLÓGICO DE *Tococa guianensis* AUBLET

5.1 Atividade Antimicrobiana e Citotóxica de <i>Tococa guianensis</i> Aublet.....	179
5.2 Material e Métodos.....	180
5.2.1 Atividade Antimicrobiana de <i>Tococa guianensis</i> Aublet.....	180
5.2.2 Atividade Citotóxica de <i>Tococa guianensis</i> Aublet.....	183
5.3 Resultados e Discussão.....	185
5.3.1 Ação do Extrato Etanólico e das Fases Hexânica, Clorofórmica e Acetato de Etila frente aos Micorganismos Testes.....	185
5.3.2 Verificação da Efetividade da Citotoxicidade em <i>Tococa guianensis</i> Aublet.....	188

6 CONCLUSÕES

REFERÊNCIAS

1 Introdução

1.1 Evidências do Uso Medicinal das Plantas

Desde a antigüidade, os homens iniciaram o uso de plantas sob a forma de alimentos pelo instinto da sobrevivência e, empiricamente, passaram a observar que determinadas plantas apresentavam efeitos que minimizavam suas enfermidades. Com base nesses conhecimentos, o ser humano acumulou essas informações, as quais basearam na experimentação empírica desses produtos (SCHENKEL; GOSMANN; PETROVICK, 1999).

Até hoje essas plantas e seus constituintes químicos vêm sendo utilizados para o tratamento de doenças. O emprego médico relacionado às plantas e suas propriedades medicinais está aumentando cada vez mais (SCHENKEL; GOSMANN; PETROVICK, 1999).

1.1.1 Uso das plantas medicinais na antigüidade

Desde o quarto século a.C. há registros na literatura sobre as normas de coletas de plantas medicinais. Os carrascos gregos, por exemplo, coletavam amostras pela manhã do veneno cicuta da espécie *Conium maculatum* L (Umbeliferae) (ROBSON, 1974; FAIRBAIRN; SUWAL, 1991).

Os sumérios, por volta de 4000 a.C., usavam como remédios: tomilho, ópio, alcaçu, mostarda, e o elemento químico enxofre (LOW et al., 1999).

Os babilônicos, que vieram a seguir, ampliaram o estoque de substâncias medicinais dos sumérios, acrescentando a sua lista açafraão, coentro, canela, alho,

folha de sena, dentre outras. Dessas ervas e de resinas vegetais como gálbano e benjoim, faziam várias decoctos (extratos), vinhos, salvas, emplastos e linimentos (LOW et al., 1999).

Na medicina do antigo Egito, surgiu um dos primeiros textos médicos: o Papiro de Erbes (1550 a.C.), que tem o nome de seu descobridor o alemão Georg Erbers. Acredita-se que o papiro fora escrito no século XVI a.C. Este possui uma lista de 700 remédios, incluindo babosa, hortelã, meimendo, mirra, cânhamo, óleo de rícino e mandrágora. Utilizando estes ingredientes, os egípcios preparavam vários decoctos, vinhos, infusos, além de pílulas, unguento e emplastos (PAGE et al., 1999).

Hipócrates (460-377 a.C.), conhecido como o “pai da medicina”, incluiu em sua obra “Corpus Hipócrates” um resumo dos conhecimentos médicos de sua época, indicando para cada enfermidade o remédio vegetal e o tratamento adequado (MARTINS, 2000).

Galeno (130-201 d.C.), o mais famoso médico do seu tempo, embora ensinasse que a medicina consistia em equilibrar os humores do corpo, teoria hoje considerada antiquada, também acreditava no método empírico de testar remédios, utilizando diversas plantas. Dele nasceram os termos produtos galênicos e galênos. Hoje, algumas substâncias medicinais extraídas de plantas estão associadas aos métodos de Galeno (PAGE et al., 1999).

Avicena (980-1037), em sua importante obra, o volumoso Cãnone da Medicina, baseou-se nos textos de Hipócrates, Aristóteles, Dioscorides, Galeno e outros; acrescentando a ela suas observações teóricas e empíricas. O livro II do Cãnone contém farmacologia de ervas de Avicena. Pietro Mattioli (1501-1577) escreveu várias obras nas áreas de botânica e farmacologia. Durante vários anos

estudou sobre plantas e sua “matéria médica” ou substâncias medicinais. A publicação que o tornou famoso foi sua edição italiana intitulada “De Matéria Medica”, onde fornecia aos médicos e farmacêuticos italianos informações sistemáticas organizadas que lhes auxiliassem a identificar todas as plantas medicinais da época (LOW et al., 1999).

Paracelso (1493-1541), médico suíço, que também era químico, entendia que as virtudes das plantas vinham de suas propriedades químicas. Foi o primeiro a realizar extração de essências vegetais e a usar tinturas, um avanço revolucionário na farmacologia. Em sua publicação “Das Virtudes das Plantas, Raízes e Sementes”, ele revela um extenso trabalho com fitoterapia em laboratório e na prática (PAGE et al., 1999).

Samuel Hahnemann (1755-1843) químico e médico alemão, após seis anos de pesquisa, ele descobriu que na casca peruana (cinchona) uma fonte de quinino, composto eficiente no tratamento da malária. Dessa descoberta deduziu o princípio básico da homeopatia, ou seja, a “cura pelo similar”. Em seu livro “Matéria Médica Pura”, descreveu provas detalhadas da eficiência de muitas substâncias, sobretudo de origem vegetal (LOW et al., 1999).

1.1.2 **Uso das plantas medicinais em nível contemporâneo**

Nos dias atuais, vários medicamentos industrializados são desenvolvidos a partir de plantas medicinais, baseadas nas indicações populares. O ácido acetil-salicílico (AAS), digitálicos, morfina, quinina, atropina e a mais recente artimisina (um antimalárico isolado de *Artemisina annula*), vincristina e vimblastina (alcalóides

isolados de *Catranthus roseus*) são utilizados contra determinadas neoplasias (LOW, 1999).

Losoya (1997) relata que aproximadamente 25 % dos fármacos empregados atualmente nos países industrializados advêm, direta ou indiretamente, de produtos naturais, especialmente de plantas superiores.

Nos últimos 20 anos, os fármacos de origem natural foram obtidos de estudos científicos desenvolvidos na China, Coréia e Japão, porém as contribuições dos países ocidentais para este período foram bem menores (YUNES; CENCHINEL FILHO, 2001).

Yunes e Cenchinel Filho (2001) relataram sobre o histórico do desenvolvimento dos fármacos a partir de plantas em três períodos, que são:

Primeiro Período (1800 até 1900) - iniciado por trabalhos de Lavoisier (fundador da química moderna); também esse é o período de Berzelius (um dos pioneiros em química orgânica, denominada posteriormente de bioquímica), Lieb e outros colaboradores (fundaram a química orgânica moderna);

Segundo Período (1901 a 1970/80) - direcionado à produção de fármacos para o tratamento de diferentes patologias, tais como o barbitol, agente hipnótico (1903); síntese da epinefrina, um broncodilatador (1904); fenobarbitol, anticonvulsivante (1910); prontosil, antiinfecioso (1932); antergan, anti-histamínicos (1942); iproniacida, antidepressivos (1951); indometacina, antipirético e antiinflamatório (1963), e desenvolvimento do paradigma ocidental (1970/80);

Terceiro Período (1970/80 até os dias atuais) - foi direcionado ao desenvolvimento de novas metodologias para a obtenção de fármacos, como por exemplo: biologia molecular e as técnicas genéticas; química combinatória e química computacional; e o desenvolvimento do paradigma oriental.

Schenkel; Gosmann; Petrovick (1999) comentaram que a transformação de uma planta medicinal em um medicamento é uma etapa bastante temática, e com grau de dificuldades diferentes em relação à busca de protótipos para novos fármacos; mas que a investigação e desenvolvimento de fitoterápicos pode vir a promover o reconhecimento de novas substâncias ativas. Os mesmos relataram que as potencialidades do uso das plantas medicinais encontram-se longe de esgotarem, pois os novos paradigmas de desenvolvimento sócio-econômico, baseados nos recursos vegetais, podem permitir a descoberta e desenvolvimento de novas moléculas com atividade terapêutica.

Segundo informações da Organização Mundial de Saúde (OMS), 60 % da população mundial utilizam medicamentos tradicionais, segundo um histórico de utilização prolongada, com frequência milenar sobre o uso de produtos à base de plantas medicinais (OMS, 2002).

Toda planta medicinal é medicamento somente quando usada corretamente. Portanto, a recomendação do uso como verdadeiramente medicinal ou, em outras palavras, como planta medicinal validada e incluída na farmacopéia, requer identificação do seu princípio ativo ou evidências farmacológicas (LORENZI et al., 2002).

A fitoterapia pode ser definida como estudo e aplicação dos efeitos terapêuticos de drogas vegetais e seus derivados, denominados de fitoterápicos (DUNFORD,

2000), que são todos os medicamentos obtidos empregando-se matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade (ANVISA, 2004).

1.1.3 Utilização das plantas medicinais no Brasil

A maioria dos estudos sobre plantas medicinais relaciona o papel dessas plantas com uma determinada cultura, por exemplo, um tipo de grupo étnico (HEINRICH et al., 1998).

O sistema etnofarmacológico europeu foi trazido com a colonização portuguesa e com outros povos europeus. Este sistema é mais forte no sul do país, com a influência das plantas de uso mundial e plantas européias, fato este que se deve ao tipo de clima, por ser mais semelhante ao europeu. Pode-se observar, por exemplo, cidreira (*Melissa officinalis*), erva doce (*Pimpinella anisum*), entre outras (MARTINS et al., 2000).

O sistema etnofarmacológico africano, que foi com o tráfico de escravos para o Brasil nos séculos XVI e XVII, associa rituais religiosos ao uso de plantas medicinais, como é reconhecido em diversas culturas primitivas; mais freqüente na Bahia. Por intermédio dos negros africanos incorporou-se plantas como arruda (*Ruta graveolens* L.) e o jambolão (*Syzigium jambolanum* L.) (MARTINS et al., 2000).

O sistema etnofarmacológico oriental foi trazido pelos imigrantes chineses e japoneses no final do século passado e início deste, estando presente principalmente no estado de São Paulo. Eles trouxeram consigo espécies como

gengibre [*Zingiber officinale* (Willd.) Roscoe.], lichia (*Litchia chinensis* Sonn.) e a raiz forte [*Wassabia japonica*(Miq.) Matsum] (MARTINS et al., 2000).

O sistema etnofarmacológico nordestino tem influências da cultura indígena e africana, ainda às condições socioeconômicas da região. Como contribuições desse sistema, temos: aroeira (*Schinus molle*), caatinga de mulata (*Tanacetum vulgare* L.) e o bamburral [*Hyptis suaveolens* (L.) Poit.] (MARTINS et al., 2000).

O sistema etnofarmacológico indígena corresponde à herança do conhecimento de plantas medicinais dos indígenas brasileiros. Esse sistema pode ser encontrado em praticamente todo o território nacional, e como exemplos têm-se: caapeba (*Piper umbelatum* L.), o abajerú (*Chrisobalanus icaco* L.) e o urucum (*Bixa orellana* L.) (MARTINS et al., 2000).

O sistema etnofarmacológico amazônico deriva-se das características peculiares da flora da região, associada à absorção de conhecimentos dos próprios indígenas, pelos caboclos e os primeiros colonos portugueses e, mais tarde, com os nordestinos de descendência africana (PARKER, 1985).

Este sistema também decorre do isolamento cultural da Amazônia, o qual se caracteriza pelo uso de ervas específicas da região e possui uma linguagem própria. É o caso de plantas como o guaraná (*Paulinia cupana* Kunth.), a copaíba (*Copaifera officinalis* L.) e a fava de tonca [*Dipteryx odorata* (Aublet) Willd.]. A importância da Amazônia não se restringe apenas às espécies animais e vegetais, mas também à riqueza do conhecimento popular acerca do uso terapêutico de plantas, que se origina tanto pela necessidade de um tratamento alternativo devido ao baixo poder aquisitivo e ao difícil acesso à assistência médica, bem como a influência cultural (DI STASI et al., 1989).

1.2 Problema e objeto da pesquisa

As angiospermas são plantas mais representativas no Reino Plantae, apresentando grande diversidade morfológica e de habitat, que predominam sobre a maioria das comunidades vegetais presentes na Terra, ocorrendo em praticamente todos os biótopos do Brasil (BARROSO et al., 2002).

Esse grupo é reconhecido como traqueófito (planta vascular) e angiospermas, do grego “angeion” (urna), que se refere ao carpelo, pois apresentam sementes envolvidas por carpelos fusionados, constituindo-se em fruto (JUDD et al., 1999).

Os caracteres bioquímicos são um dos mais importantes e têm sido aplicados desde os últimos cem anos à taxonomia. A química de compostos é empregada extensivamente na sistemática de plantas, desde as análises de raças químicas, ou taxa infra-específica, ou quimiotipos relacionada à variação de compostos secundários (MABRY, 1973; ADAMS, 1977; HARBORNE e TURNER, 1984; EVANS, 1996; STEFANELLO et al., 2005).

Estes compostos secundários têm função na defesa contra agentes predadores e patógenos, como por exemplo: taxiphyllin (glicosídeo cianogênico) de *Liriodendron* L. (Magnoliaceae) e gynocardin de *Gynocardia* R. Br. (Flacourtiaceae), como agentes alelopáticos (terpenóides), como atraentes na polinização ou na dispersão dos frutos (betalaínas e antocianinas), alcalóides do tipo morfina, cocaína, atropina, quinina e outros, usados para o tratamento em medicina. São vários registros do tipo de alcalóides indólicos em Apocynaceae, Loganiaceae e Rubiaceae de Gentianales; alcalóides tropanos característicos de Solanaceae e

Convolvulaceae da ordem Solanales; alcalóides benzilisoquinolínicos registrados em Magnoliales, Laurales e Ranunculales (JUDD et al., 1999).

Os flavonóides podem apresentar importância farmacológica, como é o caso de quercetina que tem ação antitumoral (FORMICA; REGELSON, 1995), luteolina-3'-O- β -D-glicoronídeo efeito antioxidante (OKAMURA et al., 1994), amentoflavona com ação antiviral (MA et al., 2001), buteína que atua como antiinflamatório (CHAN et al., 1998).

Com base na relevância, ora apontada, sobre as plantas medicinais, e, principalmente, fazendo referência a grupos de plantas menos estudados, como é o caso da família Melastomataceae, que pertence à ordem Myrtales Rchb. (sendo essa bem representada no Brasil), das treze famílias que são consideradas para esta taxa, apenas seis ocorrem no país (APG II, 2003; SOUZA; LORENZI, 2005), onde uma delas é a Melastomataceae, que possui cerca de 4470 espécies distribuídas, principalmente, em áreas pantropicais (APG, 2003). No Brasil ocorrem mais ou menos 70 gêneros e 1000 espécies, tendo *Miconia* Ruiz e Pav., como maior gênero para o país (SOUZA; LORENZI, 2005).

A literatura aponta a ênfase do uso econômico para essa família o ornamental (JUDD et al., 1999; RIBEIRO et al., 1999), como por exemplo, *Medinilla magnifica*, *Schizocentron elegans* e espécies de *Tibouchina* Aublet. Os representantes dessa taxa ocorrem em campos rupestres (*Microlicia* D. Don, *Lavoisiera* DC., *Marcetia* DC., *Cambessedesia* Dc. e *Trembleya* DC.). Na Amazônia Legal Brasileira, são representativos os gêneros *Tococa* Aublet e *Maieta* Aublet, com domácias vesiculosas (associadas às formigas) (SOUZA; LORENZI, 2005).

Essa família é pouco estudada, em nível fitoquímico/ensaios biológicos. Assim, passou a ser objeto da presente pesquisa, tendo o seguinte escopo:

Contribuição farmacobotânica de *Tococa guianensis* Aublet;

Estudo químico *Tococa guianensis* Aublet com ênfase ao emprego da técnica hifenada para a identificação de flavonóides;

Atividade biológica de extratos de *Tococa guianensis* Aublet.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Contribuir para o estudo em produtos naturais partindo do enfoque farmacobotânico, químico e biológico de *Tococa guianensis* Aublet da família Melastomataceae.

2.1 Objetivos Específicos

- Descrever o perfil medicinal e farmacológico de Melastomataceae, com base na literatura face à incipiência de revisões nesta área;
- Relacionar a micromorfologia dos tricomas das folhas e cálice, frente ao papel taxonômico de *T. guianensis*, utilizando a microscopia de varredura;
- Realizar a identificação das substâncias bastante polares, empregando-se o método CLAE-DAD-EM e CLAE-DAD-EM/EM de compostos secundários da fase acetato de etila da parte aérea de *T. guianensis*;
- Efetuar testes de atividade antimicrobiana, com o fim de analisar o potencial medicinal desta espécie da referida família, ocorrente no estado de Roraima;
- Analisar a citotoxicidade das frações da fase acetato de etila da parte aérea da referida espécie.

3 Estudo Farmacobotânico

A utilização de plantas medicinais pelos seres humanos é registrada, desde o início da civilização, quando eram identificadas pelas suas atividades terapêuticas, descobertas empiricamente. Partindo desse conhecimento etnobotânico, foram desenvolvidos estudos científicos, sendo descobertos vários medicamentos, que foram empregados pela medicina oficial, como, por exemplo, a morfina e a hioscina (MONTANARI e BOLZANI, 2001; PAGE et al., 2004).

A Organização Mundial de Saúde, no início do novo milênio, previu que cerca de 80 % dos habitantes do mundo depende da medicina tradicional para o tratamento de certas doenças e esta medicina tradicional baseia-se primariamente em plantas (BERG, 2001). Para tal fato, é importante preservar e conservar as espécies nativas, bem como resgatar o saber popular que, muitas vezes, fora suprimido (MATOS, 1997; STEENBOCK, 2000). As pesquisas correntes em produtos naturais indicam que, no futuro, suportarão grandes recompensas, principalmente com relação ao desenvolvimento tecnológico, quer seja em evidências de fitoterápicos, quer no avanço de novos compostos sintéticos.

O processo da descoberta de uma droga é fundamental para o conhecimento dos princípios ativos, como, por exemplo, compostos agonistas ou antagonistas. O estudo destes é alvo dos químicos de produtos naturais, biólogos, médicos e pesquisadores de áreas afins, que envolve, inicialmente, o “screening” do potencial da planta em ensaios biológicos, utilizando células ou organismos, e que, muitas vezes, a aplicação desses, quando enfocada em nível sistêmico, deve promover a descoberta da eficiência ou do conhecimento da falsa-positividade e também do falso-negativo (PAGE et al., 2004).

3.1 Material e Métodos

3.1.1 Levantamento bibliográfico sobre os recursos medicinais e farmacológicos de Melastomataceae

O presente trabalho foi realizado a partir de uma revisão bibliográfica referente a trabalhos que indicassem o papel etnobotânico e a potencialidade farmacológica de espécies da família Melastomataceae. Foram compiladas informações que citassem a potencialidade dessa família na área etnobotânica com base na categoria de uso medicinal e informações sobre os ensaios farmacológicos, contidas em periódicos científicos, livros, teses e dissertações e banco de dados (SCINFINDER SCHOLER) desde 1897 até 2008.

3.1.2 Análise do levantamento bibliográfico dos recursos medicinais e farmacológicos de Melastomataceae

As informações obtidas foram organizadas sob a forma de gráficos, bem como foram confeccionados mapas que apresentam a distribuição dos recursos medicinais e dos dados referentes às pesquisas farmacológicas de representantes da família Melastomataceae, em nível mundial.

3.1.3 Material estudado

Amostras da parte aérea de *T. guianensis* foram coletadas, em setembro de

2003, em área de savana no município do Cantá-RR (3° 22' 30,14"N e 60° 35' 43,94"W, 94 m de altitude). Exsicatas representativas do material estudado foram depositadas no Herbário UFP da Universidade Federal de Pernambuco. A espécie foi identificada em confronto com o material depositado no Herbário INPA (Instituto de Pesquisa da Amazônia) e com base na literatura especializada.

3.1.4 Micromorfologia de tricoma e estômato de *T. guianensis*

Fragmentos de folhas e hipânquio desidratados foram montados em suportes de alumínio, com fita de carbono dupla face. Em seguida, o material foi metalizado com banho de ouro, no "fine coat" 1100 JEOL, para análise do indumento foliar e do hipânquio.

O material foi analisado em Microscópio Eletrônico 5600 LV JEOL (varredura a baixo vácuo). As partes seccionadas cuidadosamente foram posicionadas no microscópio, realizando a análise das estruturas no monitor e posterior seleção das estruturas, que efetivou os registros fotográficos dos elementos característicos da espécie *T. guianensis*, em uma magnificação de 500 a 750 vezes da superfície micromorfológica e em cerca de 2500 vezes dos detalhes.

3.2 Resultados e Discussão

3.2.1 Abordagem dos estudos bibliográficos referentes aos recursos medicinais de Melastomataceae

Estudos sobre o uso das Melastomataceae, como recursos vegetais, por diferentes comunidades humanas, são apresentados na literatura, com ênfase ao conhecimento empírico nelas existentes. Outras investigações sobre essas mesmas plantas estão direcionadas à farmacologia, com o fim de elucidar os mecanismos de ação responsáveis pelas suas propriedades curativas.

Os resultados de tais estudos evidenciam que muitos representantes, dessa categoria taxonômica, podem ser considerados como medicinais, em potencial, uma vez que extratos de partes ou de toda a planta são utilizados para fins curativos por diferentes grupos humanos. Essas espécies são fontes de agentes químicos, com atividade farmacológica, e podem ser biologicamente ativos, quando isolados.

Dentre os estudos que apontam a utilização de espécies de Melastomataceae, 39 % foram direcionados ao uso de plantas com cunho etnobotânico e “nutracêutico” (DEFELICE, 1992), no que se refere aos representantes desta categoria taxonômica. O gênero *Aciotis* D. Don tem, aproximadamente, 60 espécies, distribuídas nos neotrópicos, ocorrendo em ambientes de mata, com clareiras, ou beira de mata. Na literatura, são relatados estudos etnobotânicos, direcionados a quatro espécies desse gênero, que explicitam *A. annua* Triana, e *A. purpurascens* (Aublet) Triana utilizadas para o tratamento de tosse e calafrios, sob a forma de chás, de todas as partes da planta (PLOTIKIN, 1986). No caso de *A. fragilis* (DC) Cogn., é empregada para o tratamento do sistema urinário (MENNEGA; TAMMENS-

ROOJ; JANSEN-JACOBS, 1988); *A. longifolia* Triana, empregada para o tratamento de erisipela (AMOROZO, 1997) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 6,7 % (Figura 3).

O gênero *Antherotoma* (Naudin) Hook. f. possui em torno de 20 espécies, existentes em regiões paleotropicals e em áreas de mata. Na literatura, foi encontrado estudo etnobotânico para uma espécie, *A. naudinii* Hook f., que é utilizada como antimalárica, diurética, abortiva e antiinflamatória sob a forma de chá, da parte aérea (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 5 % (Figura 3).

Com relação ao gênero *Bellucia* Neck. Ex Raf., tendo o número aproximado de 30 espécies, ocorrentes nos neotrópicos, em ambientes de mata ou à margem de mata. E, neste caso, a literatura aponta estudos etnobotânicos para duas espécies: *B. grossulrioides* (L.) Triana, que é referido o uso como calmante, preventivo do retorno do furúnculo, leucorréia e contra vermes intestinais; com referência a *B. pentamera* Naud., é empregada para o tratamento do cordão umbilical (TIWARI, 1999; MORS et al., 2000) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 6,7 % (Figura 3).

O gênero *Clidemia* D. Don atinge cerca de 280 espécies, distribuídas nos neotrópicos, ocorrendo em vegetações de áreas abertas e semi-abertas. Os registros bibliográficos apresentam estudos etnobotânicos para três espécies desse gênero, pois *C. blepharoides* DC. é citada para o tratamento de ulcerações (MORS et al., 2000); *C. dentata* D. Don, com efeito cicatrizante, para o tratamento estomacal, antiespasmódico, antidesintérico e anti-séptico genital (HECKEL, 1897; GRENAND; MORETTI; JACQUEMIN, 1987); *C. hirta* (L.) D. Don é utilizada como cicatrizante, antidesintérico, antiespasmódico, no tratamento estomacal, palpitações,

males dos rins, bexiga, leucorréia (sob a forma de decocto e infuso das folhas), e como alimento (HECKEL, 1897; GLEASON, 1935; LUU, 1975; GRENAND; MORETTI; JACQUEMIN, 1987; PIVA, 2002; DeFILPPS; MAIANA; CREPIN, 2004). Para *C. rubra* (Aublet) Mart., apontada como efeito nutracêutico, utilizando o fruto como alimento (DeFILPPS, MAIANA e CREPIN, 2004) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 1,1 % (Figura 3).

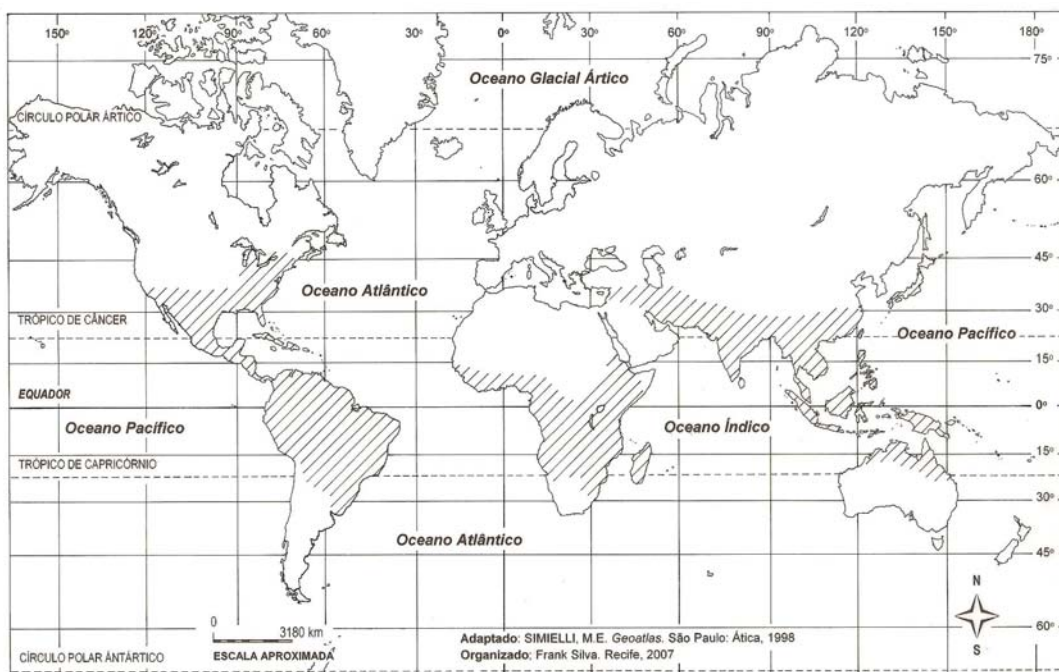


Figura 1 – Distribuição das espécies neotropicais e paleotrópicas da família Melastomataceae.

Em se tratando do gênero *Dissotis* Benth., este apresenta em torno de 110 espécies, presentes nos paleotrópicos (África), em localidades de mata. Os registros da literatura indicam estudos etnobotânicos para uma espécie, pois *D. debilis* (Sound.) Triana var. *debilis* é utilizada para ação antimalárica, antiinflamatória, diurética, anestésica e induz o sono (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 0,9 % (Figura 3). Outra contribuição em nível

bibliográfico é o estudo direcionado a determinação de ácido ascórbico em relação às plantas da Nigéria, onde Okeri; Alonge (2006), fazem menção da presença significativa deste ácido em *D. rotundifolia* (SM) Triana.

Com relação ao gênero *Henriettella* Naud., este possui em torno de 60 espécies, existentes nos neotrópicos, em ambientes de matas. Há registro, na literatura, com informação nutracêutica para *H. flavens* (Aublet), pois os seus frutos são utilizados como alimento (TIWARI, 1999) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 1,7 % (Figura 3).

Com referência ao gênero *Henriettea* DC., com cerca de 40 espécies, ocorrentes nos neotrópicos, em áreas de matas abertas, a literatura apresenta informações bibliográficas sobre estudos etnobotânicos, que se referem a uma espécie, *H. succosa* (Aublet) Dc., empregada como adstringente e cicatrizante de úlceras (HECKEL, 1897; KLEINHOONTE, 1940; MENNEGA; TAMMENS-ROOJ; JANSEN-JACOBS, 1988; PLOTKIN; BOOM; ALLISON, 1991; DeFILIPPS; MAIANA; CREPIN, 2004) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 2,5 % (Figura 3).

O gênero *Leandra* Raddi tem em torno de 270 espécies, presentes nos neotrópicos, em localidades de mata, abertas ou semi-abertas. Os registros bibliográficos apontam informações etnobotânicas para três espécies desse gênero: *L. agrestis* (Aublet) Raddi, empregada como alimento (DeFILIPPS, 2004); *L. lacunosa* Cogn., como adstringente (MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000); *Leandra* sp para o tratamento de suor, insônia, calafrios e sensibilidade da pele (PLOTKIN, 1986) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 1,1 %, (Figura 3).

Com referência ao gênero *Loreya* DC., este possui aproximadamente 20 espécies, distribuídas nos neotrópicos, em vegetações de mata ou ao longo de igarapés. Há registros, na literatura de estudos etnobotânicos, para duas espécies: *L. arborescens* (Aublet) DC., que se refere à limpeza de úlceras, sob a forma de infuso das folhas (PLOTIKIN; BOOM; ALLISON, 1991), e consumo dos frutos (DeFILIPPS; MAIANA; CREPIN, 2004). No caso de *L. mespiloides* Miq., o suco da casca do caule desta, é empregada como antiinfetante do cordão umbilical. Também é utilizado o sumo da parte aérea como antibacteriano; o sumo das folhas é empregado para limpeza da roupa de cama (TIWARI, 1999) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 10 %, (Figura 3).

No caso do gênero *Macaieria* DC., com aproximadamente 40 espécies, distribuídas nos neotrópicos, em áreas de ambientes de mata, a literatura apresenta estudo etnobotânico para uma espécie: *M. radula* (Bonpl.) DC. é indicado para o tratamento de escabiose e dermatose (MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 2,5 % (Figura 3).

O gênero *Melastoma* L. tem cerca de 100 espécies, existentes nos paleotrópicos (Ásia), em ambientes de mata. A literatura apresenta informações etnobotânicas referentes a uma espécie, *M. polyanthum* Bl., que é utilizada para o tratamento de cólera, febre e leucorréia (DINDA; SAHA, 1986) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 1 % (Figura 3).

O gênero *Miconia* Ruiz & Pav., possui, aproximadamente, 1220 espécies, ocorrentes nos neotrópicos, em áreas de mata. Há citações bibliográficas referentes sobre estudos etnobotânicos para oito espécies. *M. alata* (Aublet) DC. é indicada para o tratamento de úlceras e erupções da pele (decocto da casca do caule), limpeza de úlceras malignas (decocto das folhas), e tosse, consumindo-se a goma

do fruto (HECKEL, 1987; MENNEGA; TAMMENS-ROOJ; JANSEN-JACOBS, 1988; PLOTIKIN; BOOM; ALLISON, 1991; TIWARI, 1999; DeFILIPPS; MAIANA; CREPIN, 2004). Para *M. albicans* (SW.) Triana, o uso está relacionado à ação digestiva, vitiligo e reumatismo (ALBUQUERQUE MELLO; COSTA; BARBOSA, 1971; MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000; STALCUP, 2000; VIEIRA; MARTINS, 2000; ALBUQUERQUE et al., 2007). No caso de *M. cinnmonifolia* (DC.), Naudin, usa-se para combater o resfriado e a febre (BOSCOLO, 2003); *M. longifolia* (Aublet) DC., utilizada como corante preto (DeFILIPPS; MAIANA; CREPIN, 2004); *M. logispicata* Triana, para febre e dor de cabeça (infuso ou decocto das folhas). Segundo Plotikin (1986), a literatura relata que o suco das folhas *M. mirabilis* (Aublet) L. O. Williams, emprega-se no tratamento de mordida de peixe. Esta espécie é ainda usada como adstringente (HECKEL, 1897; PLOTIKIN; BOOM; ALLISON, 1991; DeFILIPPS; MAIANA; CREPIN, 2004); *M. prasina* (SW.) DC. é empregada como cicatrizante (HECKEL, 1897; PLOTIKIN; 1986; MENNEGA; TAMMENS-ROOJ; JANSEN-JACOBS, 1988; PLOTIKIN, BOOM e ALLISON, 1991); *M. racemosa* (Aublet) DC., segundo a literatura, tem efeitos cicatrizantes, sob a forma de decocto das folhas, antidesintérico e antiespasmódico, utilizada como infuso das folhas, e anti-séptico genital, como macerado das folhas em água (DEVEZ, 1932; LUU, 1975; GRENAND; MORETTI; JACQUEMIN, 1987; MENNEGA; TAMMENS-ROOJ; JANSEN-JACOBS, 1988); *M. tomentosa* (L. C. Rich) D. Don ex DC., sendo citada para o tratamento da caspa e de febre na forma de decocto da parte aérea (Von REIS e LIPP, 1982; PLOTIKIN, 1986; MENNEGA; TAMMENS-ROOJ; JANSEN-JACOBS, 1988) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 0,7 % (Figura 3).

O gênero *Nepsera* Naud. tem em torno de 20 espécies, que estão distribuídas nos neotrópicos, em baixios próximos aos igarapés. Há referência de estudos

etnobotânicos para uma espécie, *Nepsera aquatica* Naudn, com a finalidade de hematúria (MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 5 % (Figura 3).

O gênero *Rhynchanthera* DC. possui, aproximadamente, 35 espécies, que ocorrem nos neotrópicos, em ambientes de mata. As referências bibliográficas estão direcionadas aos estudos etnobotânicos para uma espécie, *R. grandiflora* (Aublet) DC. que é empregada sob a forma de infuso de flores, para o tratamento da tosse e como expectorante, (DeFILIPPS; MAIANA; CREPIN, 2004). Minimiza a inflamação bronquial, com a utilização do infuso das folhas, para bronquite e pneumonia, sob a forma de xarope de folhas e flores ou só de flores, que pode ser aplicada para adultos ou crianças (HECKEL, 1897; GRENAND-MORETTI; JACQUEMIN, 1987; TAMMENS-ROOJ; JANSEN-JACOBS, 1988; PLOTKIN; BOOM; ALLISON, 1991), (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 2,9 % (Figura 3).

O gênero *Tibouchina* Aubl. possui, aproximadamente, 240 espécies, que estão distribuídas nos neotrópicos, em localidades de matas e savanas. Há registros, na literatura, de estudos etnobotânicos para quatro espécies: *T. aspera* Aublet tem efeito sedativo e béquico (MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000) e serve para o tratamento de dores no peito e tosse seca (HECKEL, 1897; PLOTKIN; BOOM; ALLISON, 1991; DeFILIPPS; MAIANA; CREPIN, 2004); *T. clavata* (Pers.) Wurdack, para o tratamento de dores de garganta (MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000; AMOROZO, 2002); *T. semidecandra* F. é aplicada para o tratamento de dores de cabeça e como cicatrizante (PIVA, 2002). Quanto à *T. urvilleana* (DC.) Cogn., emprega-se para dores, em geral (MARODIN; BAPTISTA, 2001) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 1,7 % (Figura 3).

O gênero *Topobea* Aublet, com cerca de 90 espécies, ocorrentes nos neotrópicos, em áreas de mata, tem o estudo etnobotânico relacionado a uma espécie, pois os frutos de *T. parasítica* Aublet são empregados como alimento (DeFILIPPS; MAIANA; CREPIN, 2004) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 1,1 % (Figura 3).

Com referência ao gênero *Tococa* Aublet, há 50 espécies, distribuídas em regiões neotropicais, que ocorrem em ambientes de mata e savanas. Os registros de estudos etnobotânicos apontaram para uma espécie, no caso, *T. guianensis* é utilizado o fruto como alimento, pelas comunidades ribeirinhas da Guiana Francesa (DeFILIPPS, MAIANA e CREPIN, 2004) (Figuras 1 e 2). O índice de estudos etnobotânicos para este gênero é de 2,0 % (Figura 3).

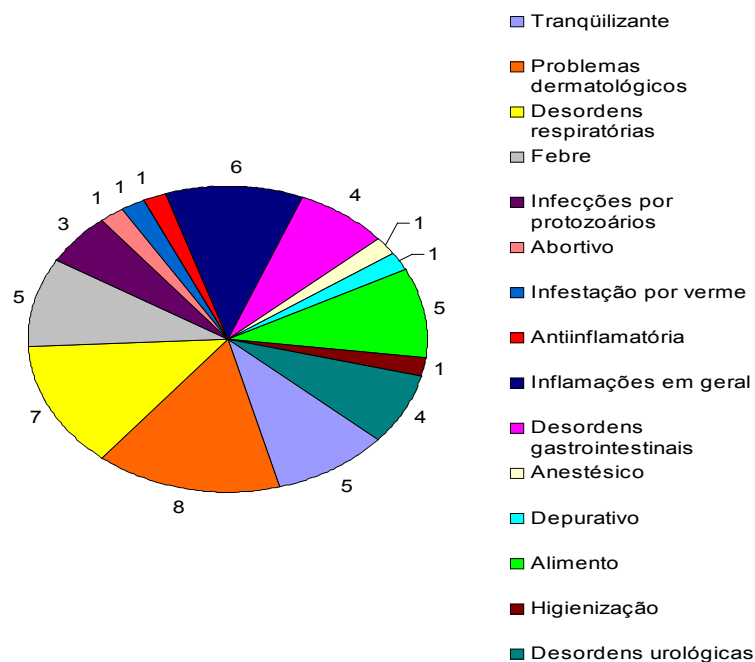


Figura 2 – Distribuição das plantas, frente aos estudos etnobotânicos de Melastomataceae, segundo indicação terapêutica e alimentação atribuídos pelos usos referidos na literatura.

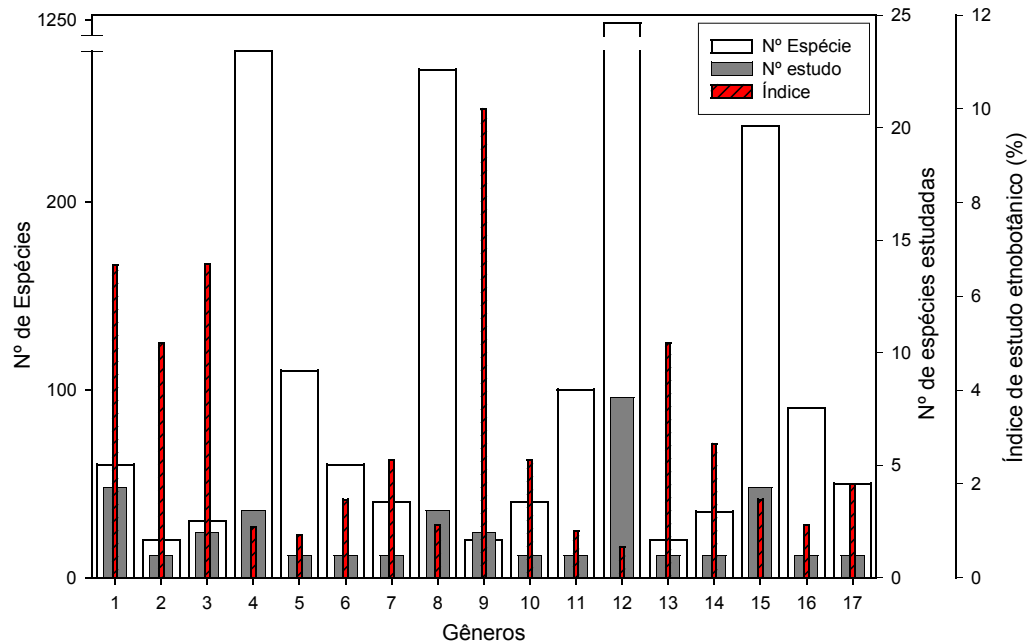


Figura 3 – O índice de espécies da família Melastomataceae, com estudos etnobotânicos, segundo a literatura. [Espécies dos gêneros: *Aciotis* (1), *Antherotoma* (2), *Bellucia* (3), *Clidemia* (4), *Dissotis* (5), *Henriettella* (6), *Henriettea* (7), *Leandra* (8), *Loreya* (9), *Melastoma* (10), *Macaiera* (11), *Miconia* (12), *Nepsera* (13), *Rhynchanthera* (14), *Tibouchina* (15), *Tococa* (16), *Topobea* (17)].

3.2.2 Informações dos estudos bibliográficos sobre ensaios farmacológicos de Melastomataceae

A área de farmacologia é representada em 61 % dos registros bibliográficos para a família Melastomataceae, tendo 16,39 % para citotoxicidade, nos gêneros: *Axinaea* Ruiz e Pav. (1 citação), *Henriettella* (1 citação), *Melastoma* (1 citação), *Miconia* (4 citações), *Osbeckia* L. (1 citação), *Topobea* (1 citação) e *Tetrazigia* (1 citação) (THABREW; HUGHES; McFARLANE, 1998; CALDERÓN, 2000; GUNATILAKA et al., 2001; DÉVÉHAT et al., 2002; CALDERÓN, 2003; MONTENEGRO et al., 2007) (Figura 4).

As citações bibliográficas referentes à atividade antimicrobiana são de 21,31 %, sendo evidenciada em *Clidemia* (1 citação), *Lavoisiera* (2 citações), *Melastoma* (2 citações), *Miconia* (6 citações), *Tetrazigia* (1 citação) e *Trembleya* (1 citação) (LIMA et al., 1977a e b; MENNEGA, TAMMENS-ROOIJ; JANSEN-JACOBS, 1988; ALVES et al., 2000; GUNATILAKA et al., 2001; LI et al., 2001; COTA et al., 2002; ZHANG et al., 2003; FUNATOGAWA et al., 2004; SU; ZHO; LIU, 2005; ADONIZIO et al., 2006; CALDERÓN et al., 2006; VENTURA; OLIVEIRA; BRAGA, 2007) (Figura 4).

No caso da atividade antioxidante, é de 8,20 % abordados para *Henriettella* (1 citação), *Miconia* (1 citação), *Osbeckia* (2 citações) e *Topobea* (1 citação). Também para atividade analgésica, têm-se 8,20 % relatados para os gêneros *Lavoisiera* DC. (1 citação), *Miconia* (4 citações); 8,20 % estão relacionados aos estudos em atividade antineoplásica, referidos para *Calycogonium* DC. (2 citação) e *Miconia* (3 citações); e 8,20 % estão descritos sobre a atividade hepatoprotetora referentes aos gêneros *Clidemia* (2 citação) e *Osbeckia* (3 citações) (LOUB et al., 1973; LIMA et al., 1977a e b; JAYATILAKA et al., 1989; MURDIATI et al., 1990; McSWEENEY; LOWRY, 1991; THABREW et al., 1995; THABREW; HUGHES; McFARLANE, 1997; THABREW; HUGHES; McFARLANE, 1998; SU et al., 1998; ISHII et al., 1999; JAMAL et al., 1999; JAYATILAKA; THABREW, 2000; ANDRADE; SLIVA, 2002; SPESSOTO et al., 2003; VASCONCELOS et al., 2003; DeFILIPPS; MAIANA; CREPIN, 2004; OKERI; ALONGE, 2006) (Figura 4).

Ainda, 4,92 % para ensaios antileishmaniose, evidenciados em *Clidemia* (1 citação) e *Melastoma* (1 citação) (SINGHA et al., 1992; CALDERÓN et al., 2006), (Figura 4).

São também assinalados 3,28 % para atividade de inibição da aldose redutase, referidos à *Calycogonium* (1 citação) e à *Clidemia* (1 citação). São ainda, apontados

3,28 % de estudos sobre a avaliação da ação dos receptores de ligação para *Bellucia* (1 citação) e *Miconia* (1 citação). Também é direcionado antioceceptivo 3,28 % frente aos gêneros *Lavoisiera* e *Melastoma* (LOUB et al., 1973; HASRAT et al., 1997; JAMAL et al., 1999; CALDERÓN et al., 2002; GUZMÁN; GUERRERO, 2005; ZAKARIA et al., 2006) (Figura 4).

1,64 % estão relacionados a 1 (uma) citação para estudos sobre ensaios biológicos tais como: antimalárico para *Clidemia*; atividade antiplasmodial para *Dissotis*; medicamento bilioso para *Leandra*, síntese do ácido graxo e IC₅₀ para *Miconia*; ensaios do tipo antiviral, anti-hipertensivo e bloqueador da proliferação celular referidos para o gênero *Melastoma*, (CHENG; HSU; CHEN, 1993; OMOLOKOLI; KHAN; CHHABRA, 1997; KUU et al., 1999; DÉVÉHAT et al., 2002; LI et al., 2002; DeFILIPPS; MAIANA; CREPIN, 2004; SULAIMAN, 2004; MONTENEGRO et al., 2007) (Figura 4).



Figura 4 - Distribuição mundial dos gêneros da família Melastomataceae, que apresentaram na literatura informações sobre ensaios farmacológicos.

Um conjunto de técnicas pode dar a dimensão da efetividade de uma determinada droga. Por esse motivo, é relevante a descoberta/redescoberta do uso dos representantes dessa categoria taxonômica pela comunidade, bem como desenvolver experimentos que venham confirmar ou não a potencialidade medicinal da família Melastomataceae e garantir o uso medicinal dessas substâncias pela comunidade. Assim, é importante se conhecer os níveis de mecanismos da ação dos princípios ativos dos representantes da família Melastomataceae conforme mostra a figura 5.

Com relação aos estudos farmacológicos analisados sobre essa família, alguns (5,88 %), referem-se aos mecanismos, em nível molecular, para espécies de *Bellucia*, *Clidemia*, *Calycogonium*, e *Henriettella*, *Melastoma*, *Miconia* (LOUB et al., 1973; HASRAT et al., 1997; KUU et al., 1999; CALDERON et al., 2002; LI et al., 2002; GUZMÁN; GUERRERO, 2005) (Figura 5).

Outros (9,42 %) estão relacionados ao mecanismo de ação, em nível celular, por substâncias extraídas de espécies de *Axinea*, *Clidemia*, *Henriettella*, *Melastoma*, *Miconia*, *Osbeckia* e *Trembleya* (SU et al., 1988; THABREW; HUGHES; McFARLANE, 1998; KUU et al., 1999; GUNATILAKA et al., 2001; NICHOLL et al., 2001; DÉVÉHAT et al., 2002; CALDERON et al., 2003; MONTENEGRO et al., 2007) (Figura 5).

Em se tratando do mecanismo em nível tecidual, 12,95 % dos estudos foram realizados com representantes dos gêneros *Calycogonium*, *Clidemia*, *Dissotis* e *Osbeckia* (LOUB et al., 1973; MURDIATI et al., 1990; MURDIATI McSWEENEY; LOWRY, 1991; JAYATILAKA; THABREW, 2000; CALDERON et al., 2006; CUNHA et al., 2006; JANG et al., 2006) (Figura 5).

Um maior percentual dos estudos (14,13 %) está relacionado com mecanismos sistêmicos, observados em *Lavoisiera*, *Melastoma*, *Miconia*, *Osbeckia*, *Tetrazigia* e *Topobea* (SU et al., 1988; CHENG; HSU; CHEN, 1993; JAMAL et al., 1999; ALVES et al., 2000; CALDERON et al., 2000; GUNATILAKA et al., 2001; LI et al., 2001; ANDRADE; SILVA, 2002; COTA et al., 2002; SPESSOTO et al., 2003; VASCONCELOS et al., 2003; FUNATOGAWA et al., 2004; SU; ZHO; LIU, 2005; ADONIZIO et al., 2006; CALDERON et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2006; VENTURA; OLIVEIRA; BRAGA, 2007) (Figura 5).

Ainda, na figura 5, apontam-se algumas atividades farmacológicas, frente aos níveis de mecanismos de ação. Na verdade, o impacto dessas informações, muitas vezes garante o desencadear de novas pesquisas, que venham, por sua vez, contribuir com o nível de qualidade de vida das pessoas, permitindo o uso e a comercialização de produtos.

As espécies de Melastomataceae mais conhecidas são representantes do gênero *Tibouchina*, de grande importância ornamental e madeireira. As espécies de *Bellucia*, como madeiras e seus frutos, são consumidos por animais silvestres (LORENZI, 1998; RIBEIRO et al., 1999; LORENZI, 2000). Os representantes de *Miconia* (1970 a, b; HASRAT et al., 1997; ALVES et al., 2000; CALDERON et al., 2000; GUNATILAKA et al., 2001; LI et al., 2001; ANDRADE; SILVA, 2002; LI et al., 2003; CUNHA, 2006; NIÑO et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2007), são mais diversificados, frente aos efeitos farmacológicos, assim como espécies de *Melastoma* (CHENG; HSU; CHEN, 1993; ISHII et al., 1999; KUU et al., 1999; LEE et al., 2001; DÉVÉHAT et al., 2002; FUNATOGAWA et al., 2004; SULAIMAN et al., 2004; SU; ZHO; LIU, 2005) e, *Clidemia* (MURDIATI et al. 1990; MURDIATI McSWEENEY; LOWRY, 1991;

GUZMÁN e GUERRERO, 2005; CALDERON et al., 2006; MONTENEGRO et al., 2007).

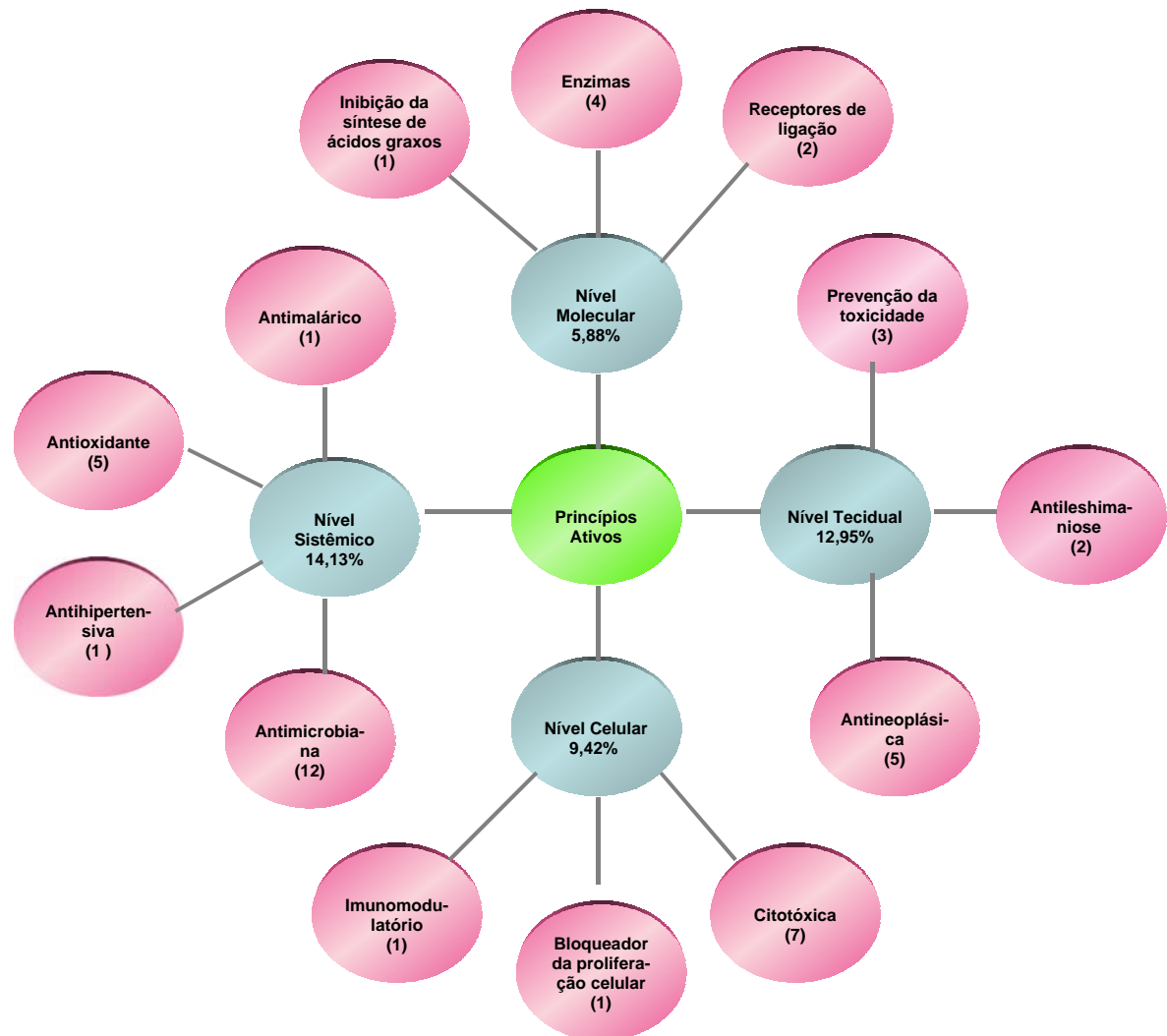


Figura 5 – Porcentagem dos níveis de mecanismo da ação dos princípios ativos de espécies da família Melastomataceae e a quantificação de alguns ensaios farmacológicos evidenciados nos registros bibliográficos destes representantes.

3.2.3 Visão global da taxonomia de Melastomataceae

A família Melastomataceae *stricto sensu* pertence à ordem Myrtales e possui cerca de 4470 espécies (A. P. G. II, 2003), pantropicais, em florestas tropicais e savanas. Segundo Renner (2006), 3000 espécies ocorrem nos neotrópicos, 240 na

África, 230 em Madagascar e 1000 na Ásia. Essa família tem, aproximadamente, 160 gêneros, distribuídos em 11 tribos (CLAUSING; RENNER 2001). No Brasil, esta taxa é considerada a sexta maior família de angiosperma, que ocorre no Brasil do Amazonas ao Rio Grande do Sul, presente em quase todas as formações vegetais (ROMERO; MARTINS, 2002), apresentando cerca de 70 gêneros e 1000 espécies (SOUZA; LORENZI, 2005), sendo as tribos mais representativas nele: Melastomeae, Miconieae e Microliceae (ROMERO, 2003).

São plantas de hábito arbóreo, arbustivo, herbáceo ou lianas. As características morfológicas da família, mais evidentes do ponto de vista vegetativo, são: folhas opostas, simples, geralmente sem estípulas e com vascularização curvinérvia, com margem inteira ou serrada, às vezes com base vesiculosa. Quanto ao aspecto reprodutivo, apresentam inflorescências do tipo terminal ou axilar, cimosas, ou paniculada, ou umbelata, geralmente com flores purpúreas e bissexuadas, actinomorfas, diclamídeas. O cálice apresenta-se truncado, com lobos denticulados, flores usualmente tetrâmeras ou pentâmeras, na maioria dos casos, diplostêmone. Os estames se abrem por dois poros, mas também por deiscência longitudinal (RENNER, 2006).

3.2.3.1 Panorama da sistemática e distribuição do gênero *Tococa* Aublet

O gênero *Tococa* Aublet é restrito aos Neotrópicos e suas espécies encontram-se distribuídas ao sul e sudeste do México até a Bolívia e leste do Brasil, Antilhas, em Trinidad e Tobago. Pertence à tribo Miconieae, com aproximadamente 50 espécies de hábito arbustivo a pequenas árvores. Cerca de 30 espécies têm domácias, e é nelas que se observa o mirmecofitismo, pois as domácias facilitam o

estabelecimento das formigas, que vivem em colônia sobre a planta, e estas têm o papel de defesa anti-herbivoria (MICHELANGELI, 2003).

No gênero, além desse tipo de defesa, ocorre também a produção de glicosídeos cianogênicos, que podem ser definidos quimicamente como glicosídeos de α -hidroxitrinitrilas. Estes fazem parte do metabolismo secundário de plantas, porém não são produtos naturais e sim ácidos-amínicos dos constituintes de plantas, que funcionam como uma defesa química contra a herbivoria. Cerca de 2500 espécies de angiospermas apresentam glicosídeos cianogênicos (VETTER, 2000). No entanto, na família Melastomataceae, é bastante escassa a presença dessa substância, sendo representativa, em *Tococa*, nas seguintes espécies: *T. aristata* Bentham, *T. capitata* Trail ex Cogn., *T. caudata* Markgr., *T. coronata* Bentham, *T. gonoptera* Gleason, *T. macrophysca* Spruce ex Triana, *T. macrosperma* Martins, *T. rotundifolia* (Triana) Wurdack, incluindo *T. guianensis* Aublet (MICHELANGELI; RODRIGUEZ, 2005).

3.2.3.2 Relatos da literatura sobre a taxonomia de *T. guianensis* Aublet

Tococa guianensis ocorre no sudeste do México, oeste das Antilhas de Tobago e nordeste da América do Sul até a Bolívia (RENNER; RICKLEFS, 1998; MICHELANGELI, 2000). São plantas de hábito arbustivo, entre 1,5 à 3,0 m de altura; com domácias mirmecofíticas, localizadas na porção superior adaxial do pecíolo, cada um com uma abertura, entre as veias principais da lâmina. As folhas primordiais não apresentam domácias, no entanto, nas demais, já são evidenciadas (RENNER, 1993; MICHELANGELI, 2000; ALVAREZ et al., 2001; MICHELANGELI, 2003). Segundo Jolivet (1996), nos tricomas presentes no interior das domácias, as larvas das formigas ficam suspensas.

3.2.3.3 Aspectos do estudo de campo de *Tococa guianensis* Aublet

O gênero *Tococa* faz parte dos 30 (trinta) gêneros de Melastomataceae das Américas tropicais com características mirmecofíticas. A interação planta-formiga, nas espécies deste gênero, é discutida, pois se acredita que há o benefício para os dois organismos (ALVAREZ et al., 2001).

No campo, foi detectada essa interação em *T. guianensis*, sendo evidenciada, na base laminar, em estruturas designadas domácias vesiculosas. Estas, têm a forma de bolsas, isto sob o ponto de vista morfológico, formada entre os vasos principais, na região basal da lâmina. A terminologia domácia foi introduzida por Lundstroem (1887) referido por Dottori (1976), *domatium*, significando, em latim, casa pequena e, que abriga formigas (mirmecodomácia) (RIETZ, 1930; SCHWABE, 1946; DOTTORI, 1976; GUARANI NETO; ASAKAWA, 1978). Segundo estes autores, as plantas são menos atacadas por herbívoros.

Portanto, Cabrera; Jaffe (1994) observaram que os indivíduos dessa espécie interagem com as formigas, por intermédio dos tricomas glandulares, que contêm açúcares e lipídios. Isto tem como base as análises das formigas coletadas pelos mesmos. Deste modo, nessa associação, a planta fornece abrigo e alimento através de suas secreções nutritivas, e as formigas proteção contra herbívoros (SOUZA; MARQUETE, 2000).

3.2.3.4 Descrição sobre *T. guianensis* Aublet

As folhas elíptico-oblongas apresentam filotaxia oposta decussada, aproximadamente 10 à 30 cm de comprimento e 12 à 15 cm de largura,

apresentando tricomas longos, espaçados na superfície da lâmina. Inflorescência com flores pentâmeras de coloração lilás, dispostas em panícula com 9-16 cm; hipânquio, com cerca de 1 cm e coberto por tricomas, em torno de 2-3 mm; botão floral obtuso. Ovário pluriocular, de placentação axial e fruto do tipo baga suculento (ver figura 6), segundo Renner (1993), Michelangeli (2000), Alvarez et al. (2001) e, Clausing; Meyer; Renner (2000)

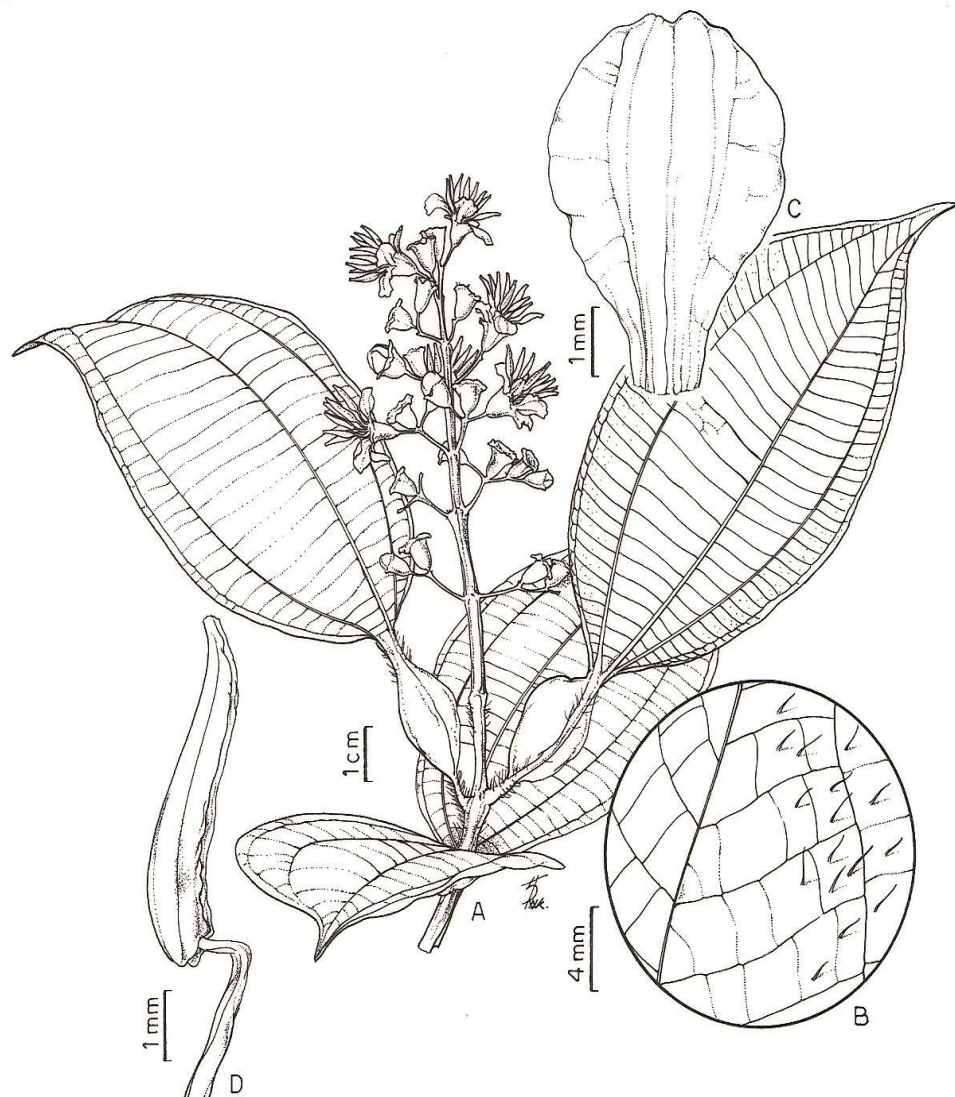


Figura 6 – Caracteres morfológicos *Tococa guianensis* Aublet: (A) detalhe da filotaxia oposta cruzada e inflorescência terminal, (B) disposição dos tricomas simples na lâmina foliar da face, (C) aspecto da pétala da corola, (D) estame falciforme e poricida.

3.2.3.5 Posição taxonômica de *T. guianensis* (MICHELANGELI, 2000; APG, 2003, RENNER, 2006)

Neste trabalho, as categorias taxonômicas são atribuídas para Ordem, Família, Tribo, Secção e Espécie, sendo empregadas no sentido mais tradicional, uma vez que as regras de nomenclatura não seguem uma hierarquia dos grupos taxonômicos, em nível de Divisão, Classe e Subclasse e sim clados (grupos), os quais permitem visualizar as interações da biologia molecular, conforme A.P.G. II (2003).

Desta forma, segue abaixo a posição taxonômica da *Tococa guianensis*:

Angiospermas

Eudicotiledôneas Core

Rosídeas

Ordem: Myrtales Rchb. (1828)

Família: Melastomataceae Juss. (1827)

Tribo: Miconieae

Secção: Hypophysca

Gênero: *Tococa* Aublet

Espécie: *Tococa guianensis* Aublet

Em estudos recentes, pode-se verificar que a taxonomia recorre a análises cladísticas e filogenéticas para dar um melhor esclarecimento sobre determinado taxa, direcionando relações entre as ordens e algumas famílias, bem como o direcionamento das tribos dessas, como descritas em A.P.G. II (2003).

3.2.4 Micromorfologia dos tricomas e Estômato de *T. guianensis*

Os tricomas, durante o curso de estudos em morfologia, têm sido considerados como relevantes ferramentas na investigação taxonômica para as

angiospermas (THEOBALD; KRAHULIK; ROLLINS, 1979). Pois, Metcalfe; Chalk (1979) abordaram que as Melastomataceae apresentam diversos tipos de tricomas, glandulares ou não, dos quais a forma simples é a mais comum. Guimarães; Martins (1997) e Guimarães; Ranga; Martins (1999) relatam que a diversidade de formas e especificidade destes tricomas são caracteres importantes para a identificação de espécies e gêneros, sendo possível até para amostras em estado vegetativo, tornando-se caracteres importantes na classificação das Melastomataceae.

O ponto de partida para o estudo da análise do indumento teve como princípio a investigação sistemática, sabendo-se que o tricoma, apêndice epidérmico (LEVIN, 1973), foi o primeiro fator da anatomia de plantas reconhecido por microscopistas (BEHNKE, 1984).

As análises dos tricomas foram confrontadas com os estudos de Wurdack (1986). Nesse estudo, o pesquisador comentou sobre a diversidade de tipos de indumentos para espécies neotropicais da família Melastomataceae, como característica taxonômica em nível de tribo e gênero, ele trabalhou com 109 espécies, chegando a identificar 46 tipos diferentes de tricomas, sendo então considerada a sétima maior família das angiospermas, que apresenta a mais alta diversidade morfológica de tricomas, a qual Wurdadack (1986) atribuiu sete tipos para o gênero *Tococa*. A literatura relata que os tricomas são freqüentes nessa família, tendo a predominância da ocorrência no vaso principal da lâmina foliar (SOUZA; MARQUETE, 2000). O estudo de microscopia eletrônica de varredura revelou a identificação de três tipos de tricomas da folha de *T. guianensis*.

O primeiro tipo de tricoma, localizado na superfície abaxial e adaxial de *T. guianensis*, apresentou um formato bastante longo, não-glandular/liso, sendo considerado do tipo simples, que tem o papel morfológico e mecânico que, por sua

vez, influencia na fisiologia e relação ecológica da planta (WAGNER; WANG; SHEPHERD, 2004; REIS; BIERAS; SAJO, 2005). Este tipo de tricoma encontra-se distribuído espaçadamente na lâmina foliar, tendo uma organização de uma cobertura rarefeita, com característica de indumento protetor.

O segundo e terceiro tipo de tricomas apresentavam-se inseridos no sistema de vascularização da folha. Com relação ao segundo tipo, que ocorre no vaso principal da lâmina, é bastante longo de forma multicelular e multisseriado, dispostos em feixes; sendo presos por filetes, que os envolvem. A parte do tricoma, seccionada longitudinal e transversalmente, mostra uma organização de vários ductos, sob a forma de canais (Figuras 7 e 8), que pode ser um indicativo de pêlo secretor. Segundo Barroso (1991), as emergências laminares semelhantes a essas são, geralmente, vascularizadas, o que confirma as observações realizadas. Este constitui um importante caráter taxonômico e que não fora referido por Wurdack (1986).

O terceiro tipo de tricoma, também inserido no vaso principal e nas vênulas da folha, é tipicamente glandular, apresenta-se constituído por células, com paredes finas e um curto pedúnculo (Figura 9). Este também foi identificado por Wurdack (1986), geralmente presente nas tribos Blakeeae e Miconieae (MENTINK; BASS, 1992). Segundo a literatura os tricomas glandulares, também denominados tricomas secretor-glandulares (TSG), têm grande importância, pois são especializados em glândulas laticíferas, nectárias, ducto de resina e glândulas digestivas. Os tricomas glandulares ocorrem em cerca de 30 % nas plantas vasculares (DELL; McCOMB, 1978; FAHN, 2000). Os pêlos simples e TSG podem influenciar na função da planta e nas propriedades físicas da planta.

Com referência à literatura sobre os exudatos, em nível químico, é freqüente a presença de terpenos e fenilpropanóides. Porém, os alcalóides não são comuns nos exudatos de TSG, mas, os flavonóides, quando presentes nessas estruturas são do tipo aglicona, fato que se deve ao papel lipofílico. Quanto aos terpenóides, estão presentes na mistura com os flavonóides. Em relação aos flavonóides glicosilados, geralmente são acumulados em muitas plantas, nos vacúolos e cromoplastos. No entanto, tem-se registro bibliográfico para compostos fenólicos secretados por tricomas, a exemplo de: primina (*Primula* sp), ácido clorogênico e rutina (*Solanum* sp). Outra rica informação é que essas secreções acumuladas podem ser tóxicas e têm papel contra a ação dos insetos, patógenos e herbívoros (WAGNER; WANG; SHEPHERD, 2004).

Vale ressaltar que, em estudos recentes com TSG de *Chromolaena squalia* (DC.) R. M. King e H. Robinson e *C. hirsuta* (Hook. e Arn.) R. M. King e H. Robinson (Asteraceae), foram detectados 15 tipos de flavonóides, dentre eles, duas quercetina 3-O-glicosídeo, como: quercetina 3-O- α -L-ramnosil-(1-6)- β -D-galactosídeo, quercetina 3-O- α -Lramnosídeo (TALEB-CONTINI et al., 2007). Os mesmos autores comentam sobre o trabalho de Wollenwebleen; Roitman (1996), onde estes descreveram o termo “exudato foliar” para o emprego do extrato bruto de *C. cordata*, preparado com solvente orgânico. No entanto, nas pesquisas de Taleb-Contini (2007), não utilizaram extrato bruto da lâmina e sim a realização de uma análise direta de extrato de tricomas em CLAE.

Posteriormente realizará cromatografia em CLAE para evidenciar a presença ou não de quercetinas e/ou outros flavonóides ocorrentes em TSG de *T. guianensis*. O estudo histoquímico para o indumento é uma técnica que envolve o uso de padrões e eles são bastante onerosos.

Os estômatos de *T. guianensis* estão levemente projetados em relação às demais células epidérmicas, e com estômato do tipo anisocítico presente na face abaxial (Figura 10). Este tipo é também evidenciado em espécies de *Miconia* e *Microlicia* (COSTA, 1977; BAUMGRATZ; FERREIRA, 1980 e 1984; SOUZA; MARQUETE, 2000; REIS, BIERAS; SAJO, 2005). Na literatura, há registro para *Palicourea longependunculata* Gardiner, representante da família Rubiaceae (PEREIRA; MEIRA; AZEVEDO, 2003).

A grande maioria das espécies de Melastomataceae possui estômatos levemente projetados em relação às células epidérmicas, fato que está relacionado ao ambiente mais árido. Nesse caso, ao de savana.

O hipânquio das flores de *T. guianensis* apresentou tricoma eglandular (simples), ver figura 10, que, segundo a literatura, tem um importante papel mecânico, como, por exemplo, na fisiologia e nas interações ecológicas (WAGNER, WANG; SHEPHERD, 2004; REIS; BIERAS; SAJO, 2005).

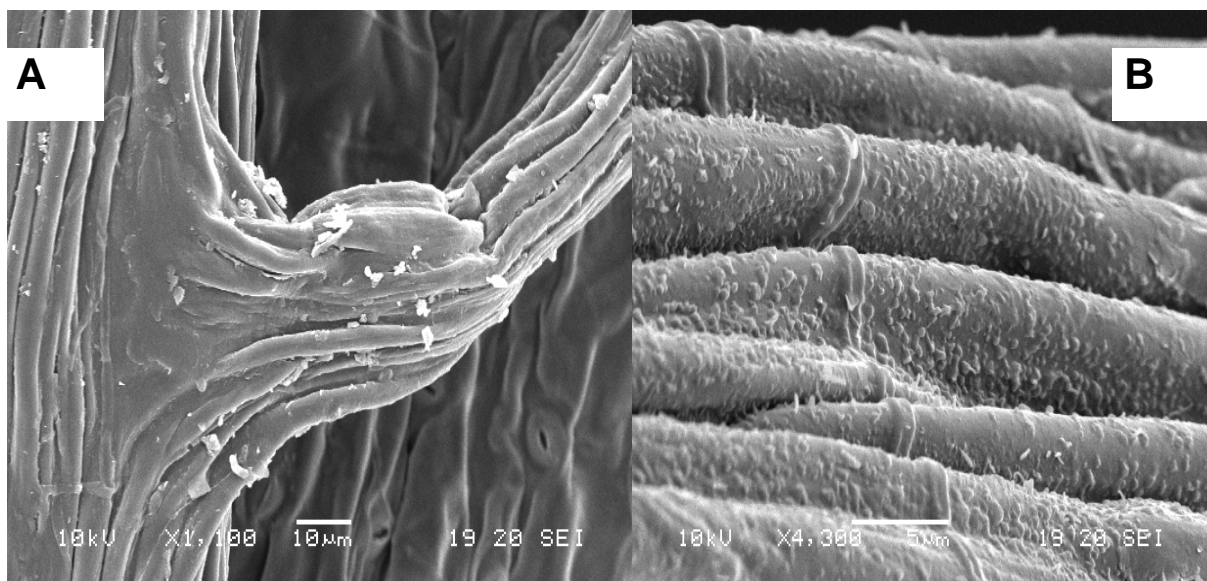


Figura 7 – Detalhes do tricoma da lâmina foliar de *Tococa guianensis* em microscopia eletrônica de varredura: (A) Tricoma fibroso do vaso principal na face abaxial da folha; (B) Filete envolvendo tricoma fibroso.

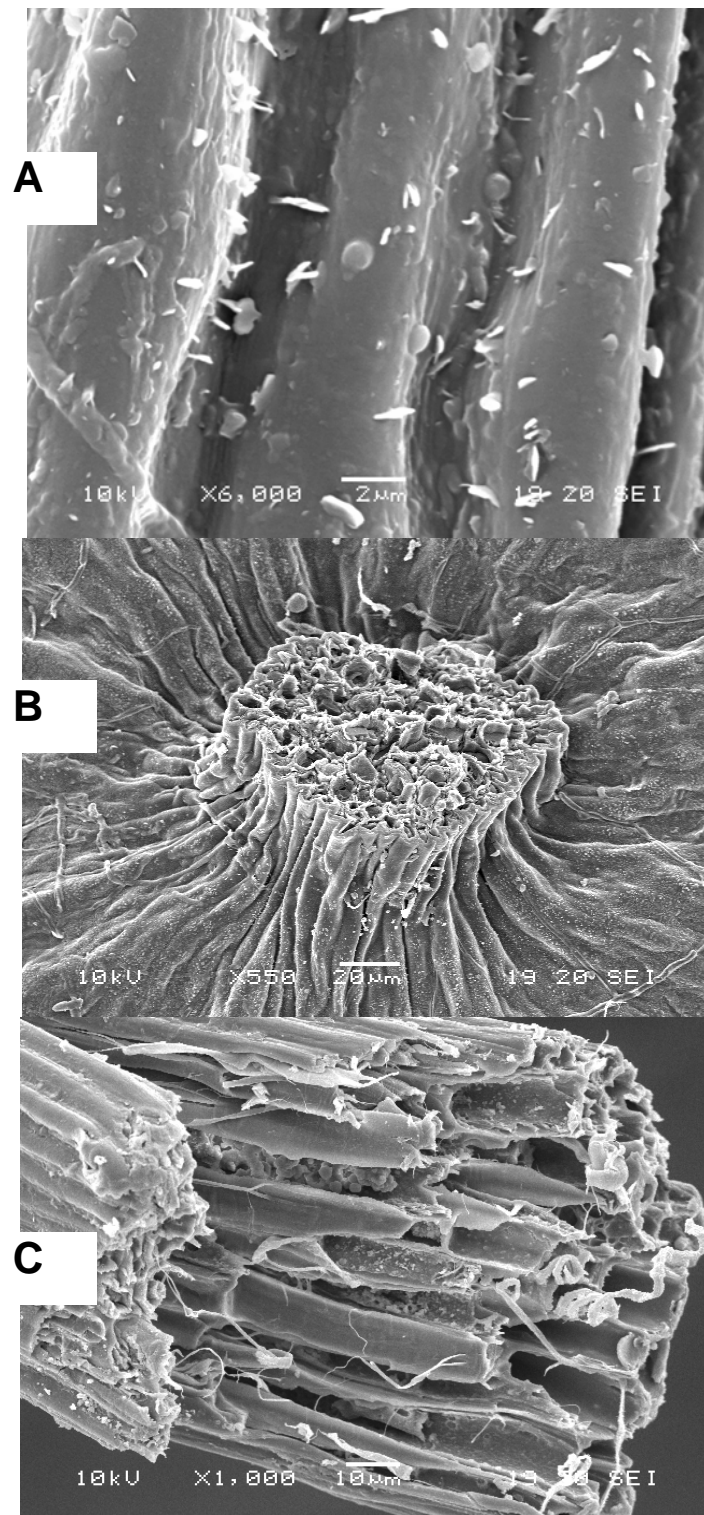


Figura 8 – Detalhes do tricoma da lâmina foliar de *Tococa guianensis* Aublet em microscopia eletrônica de varredura: (A) Papilas nos ductos do tricoma fibroso; (B) Secção transversal da base do tricoma fibroso. (C) Secção longitudinal do tricoma fibroso.

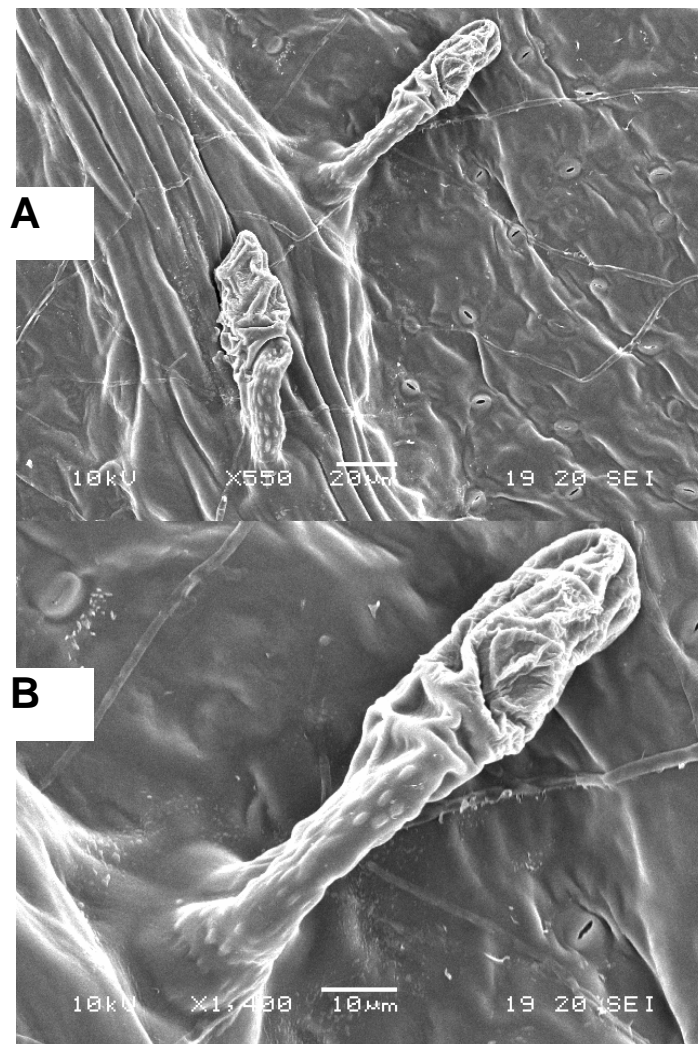


Figura 9 – Detalhes do tricoma da lâmina foliar de *Tococa guianensis* Aublt em microscopia eletrônica de varredura: (A) Tricoma glandular sobre o vaso principal da lâmina foliar da face abaxial; (B) Tricoma glandular distribuídos na superfície abaxial da folha.

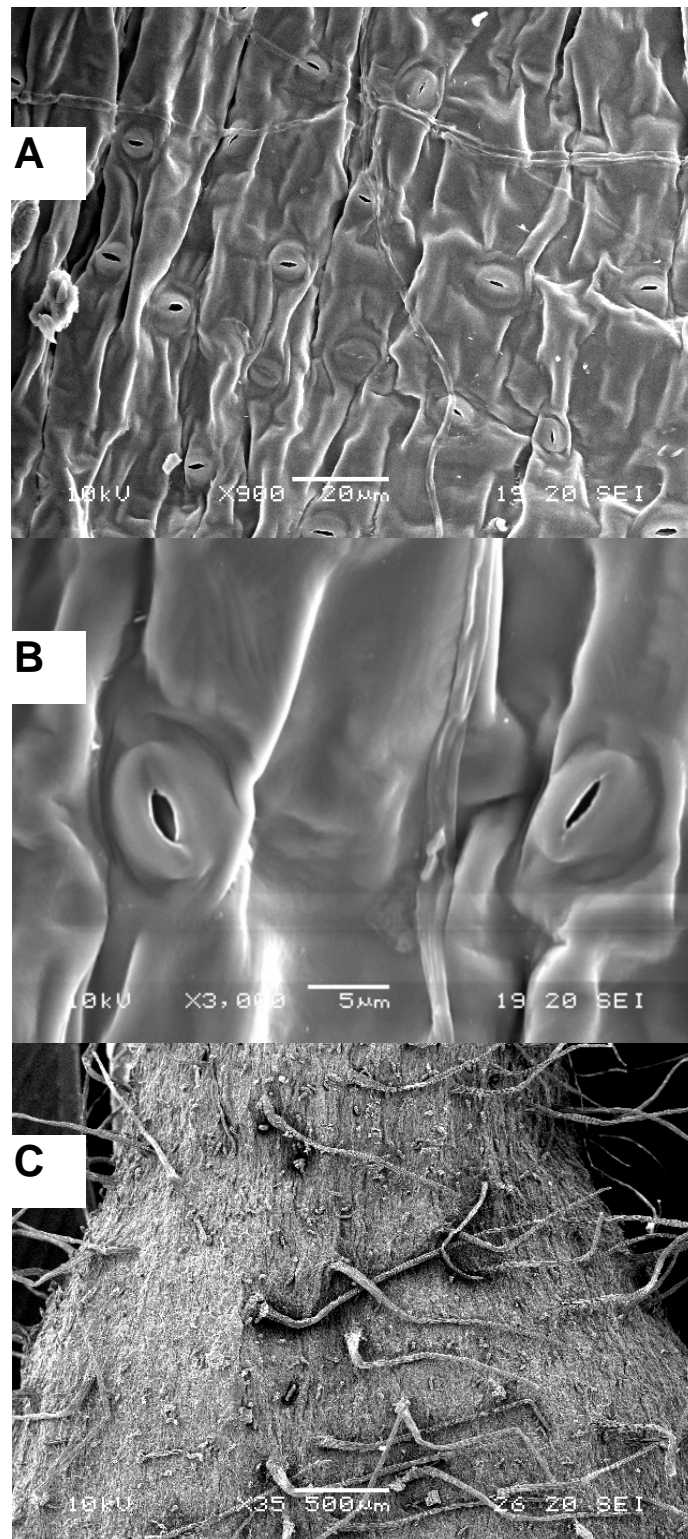


Figura 10 – Detalhes do estômato da lâmina foliar e, do tricoma do hipânquio de *Tococa guianensis* Aublet em microscopia eletrônica de varredura: (A) Distribuição dos estômatos na superfície abaxial da folha; (B) Aspecto do estômato anisocítico; (C) Tricoma eglandular (simples), do hipânquio.

4 Estudo Fitoquímico de *Tococa guianensis* Aublet

4.1 Revisão de Flavonóides em Melastomataceae

4.1.1 Abordagem geral dos flavonóides

Os flavonóides são considerados como um dos grandes grupos de compostos polifenólicos que apresentam, em comum, uma porção fenilbenzo- γ -pirona (fenilcromona), ocorrentes em: vegetais, no caule, flores, frutos, noz, sementes, bem como em vinhos. Têm ampla distribuição no Reino Plantae, em sua maioria nas angiospermas, menos presentes em briófitas e pteridófitas, e praticamente ausentes em algas (LOPES et al., 2000; SIMÕES et al., 2001; YUNES; CALIXTO, 2001), podendo ser identificados sob a forma livre (aglicona), e glicosilados. Têm o registro de, aproximadamente, 9000 estruturas conhecidas (MARTENS; MITHÖFER, 2005). Devido a sua ocorrência nas plantas, podem ser avaliados como marcadores taxonômicos em determinados taxa (AGRAWAL, 1989).

Exercem um importante papel na pigmentação, no caso, contra a ação de substância tóxica, bem como na fotossíntese, que age na transferência de energia; na morfogênese, como inibidores de enzimas, nos níveis de respiração, nutrição e controle da ação de hormônios vegetais (SMITH; BANK, 1986). Os flavonóis são uma classe de composto secundário de grande relevância para a dieta dos seres humanos. Tais compostos possuem um amplo arranjo de propriedades biológicas, tais como: diurética, antioxidante, hepatoprotetora, antiviral, antimicrobiana, antiespasmódica, antiosteoporótica, antialérgica, antiinflamatória, atividade imunomodulatória, antimutagênica e anticancerígena (DI CARLO et al., 1999; BRUNETON, 2001).

Apresenta estrutura química sob a forma de um esqueleto, constituído de 15 átomos de carbono C₆-C₃-C₆, com um anel cromano (anel A e C), que exibe um segundo anel aromático (anel B), na posição 2,3 ou 4 (figura 11), podendo ser caracterizados estruturalmente em flavonas, flavononas, flavonóis, antocianidinas, isoflavonas, catequinas e leucoantocianidinas. Em certos casos, o anel heterocíclo de seis membros é substituído por um anel de cinco membros (auronas), ou aparece em uma forma simétrica de cadeia aberta, como chalconas (AGRAWAL, 1989; SIMÕES et al., 2001; DEWICK, 2002); bem como, derivados metilados, acilados, prenilados ou sulfatados (KOES et al., 1994; ROBBERS, SPEEDIE e YLER, 1997).

Dos flavonóides mais representativos têm-se as flavonas e flavonóis com hidroxilas, nas posições C-5 e C-7, no anel A, e com único substituinte em C-4' do anel B, seguidos dos 3',4'-dissubstituídos, porém, com menor representatividade, os 3',4',5'-trissubstituídos. Geralmente, ocorre glicosilação nas hidroxilas fenólicas C-7 em flavonas e C-3 em flavonóis (BRUNETON, 2001), ver figura 12.

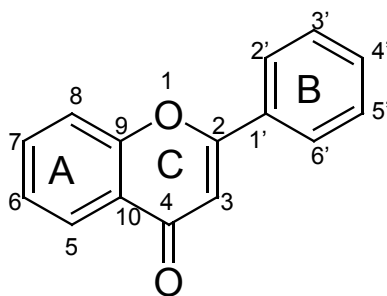


Figura 11 – Núcleo fundamental dos flavonóides

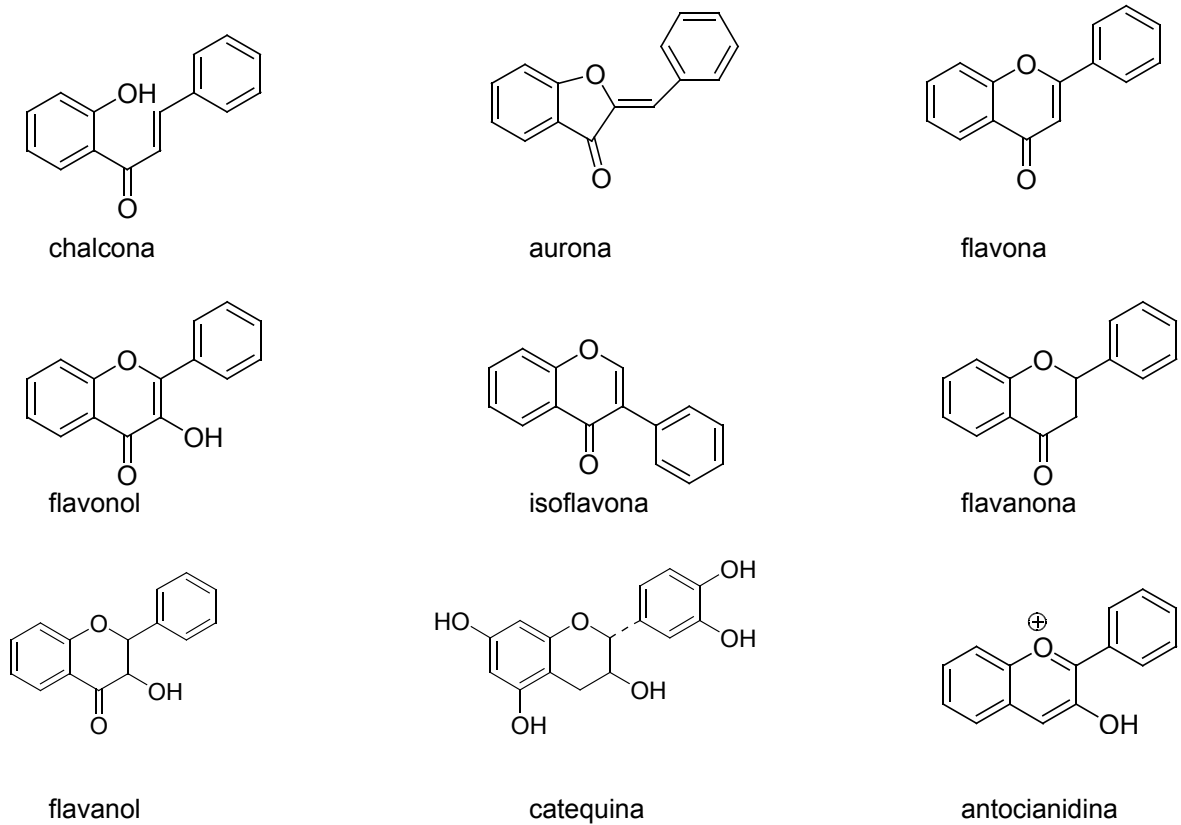


Figura 12 – Esqueleto básico das principais estruturas dos flavonóides.

4.1.2 Biossíntese dos flavonóides

O esqueleto básico dos flavonóides origina-se por intermédio da combinação de rotas biossintéticas separadas (DI CARLO et al.,1999). As vias são do ácido chiquímico e a do acetato-mevalonato.

Na primeira etapa da biossíntese, rota do ácido chiquímico (Figura 13), o fosfoenolpiruvato (PEP), reage com a D-eritrose-4-fosfato e produz um açúcar ceto fosforilado, constituído por sete carbonos, ácido 3-desoxi-D-arabino-heptolosônico-7-fosfato (DAHP). Ocorre, nesse composto a perda do grupo fosfato, que sofre ciclização e se converte em ácido 3-desidroquínico. E com a perda de uma molécula de água, são convertidos aos seus derivados, por exemplo, o ácido chiquímico.

Após o processo de fosforilação, na posição 3 do ácido chiquímico, forma-se o ácido chiquímico-3-fosfato, que reage com o fosfoenolpiruvato (PEP), formando o ácido 5-enolpiruvil-chiquímico-3-fosfato (EPSF). Este origina o ácido corísmico, por meio da eliminação de um grupo fosfato e um hidrogênio. O ácido corísmico passa uma reordenação pericíclica ao Claisen, conduzindo ao ácido prefênico, que sofre descarboxilação, dando o ácido fenilpirúvico. Este é precursor da fenilalanina e tirosina. A fenilalanina, pela ação da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), perde uma molécula de amônia, dando origem ao ácido cinâmico, que é o precursor da maioria dos compostos classificados como fenilpropanóides (DEWICK, 2002). Por meio da enzima oxigenase, o ácido cinâmico é hidroxilado, constituindo o ácido *p*-cumárico (BRUNETON, 2001).

A segunda etapa da biossíntese dos flavonóides se dá pela rota do acetato polimalonato (Figura 14). Nesta ocorre uma condensação de três moléculas de acetato com um derivado do ácido cinâmico (*p*-cumaroil CoA). Possivelmente, cada molécula de acetil-CoA é inicialmente convertida em malonil-CoA, enquanto o ácido cinâmico é convertido em *p*-cumaroil-CoA, que são intermediárias ativas, transformadas pela coenzima-A. Após condensação, forma-se um intermediário de quinze átomos de carbono, sendo catalizado pela enzima chalcona sintase, passa por ciclização, dando origem à chalcona, que é o intermediário comum de todos os flavonóides, também a primeira classe biossintética de flavonóides passível de isolamento (HARBONE, 1994; DEVICK, 2002). A adição de substituinte ocorre posteriormente ao processo da ciclização da chalcona (BRUNETON, 2001).

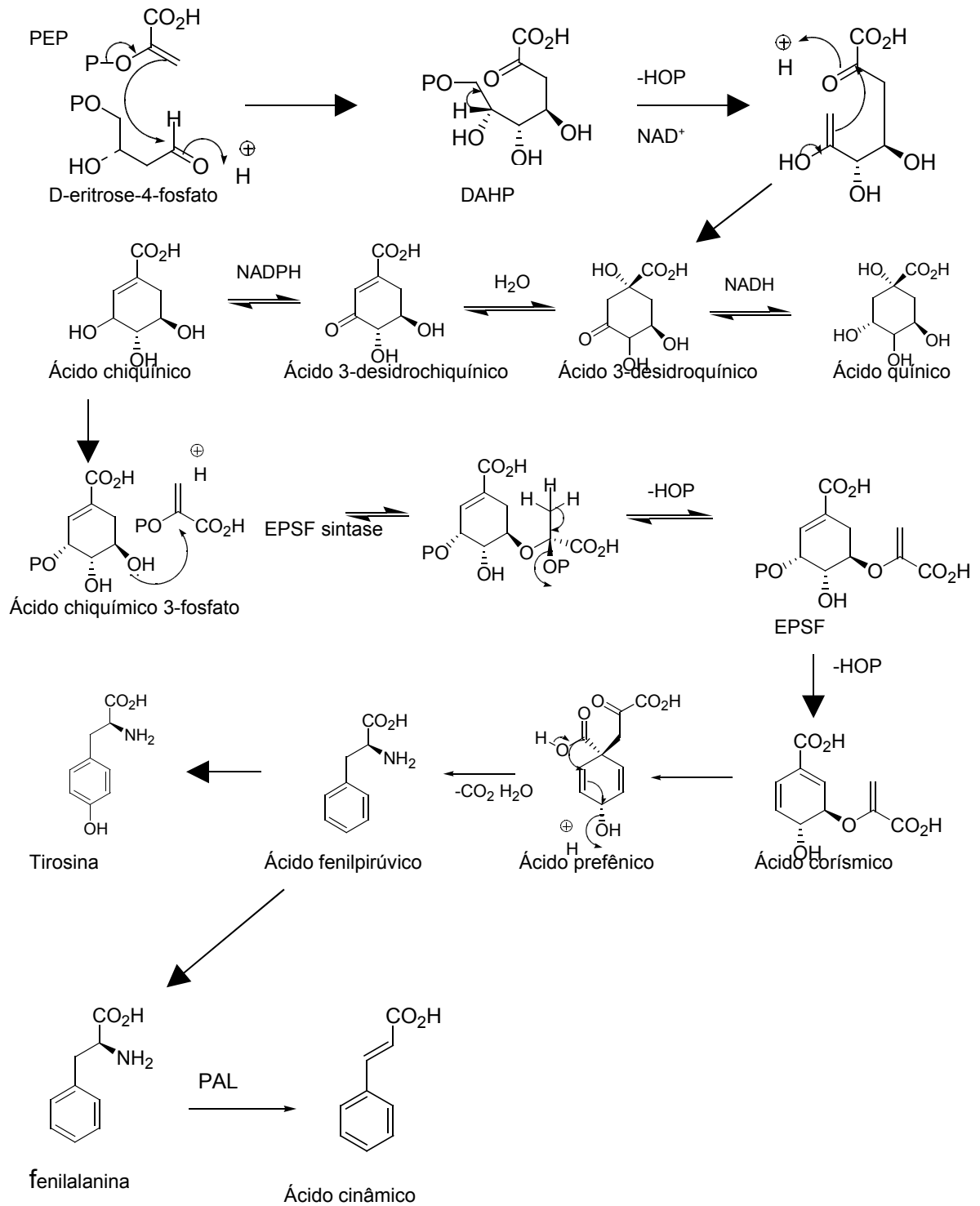


Figura 13 – Esquema da primeira etapa da rota biossintética dos flavonóides (DEWICK, (2002).

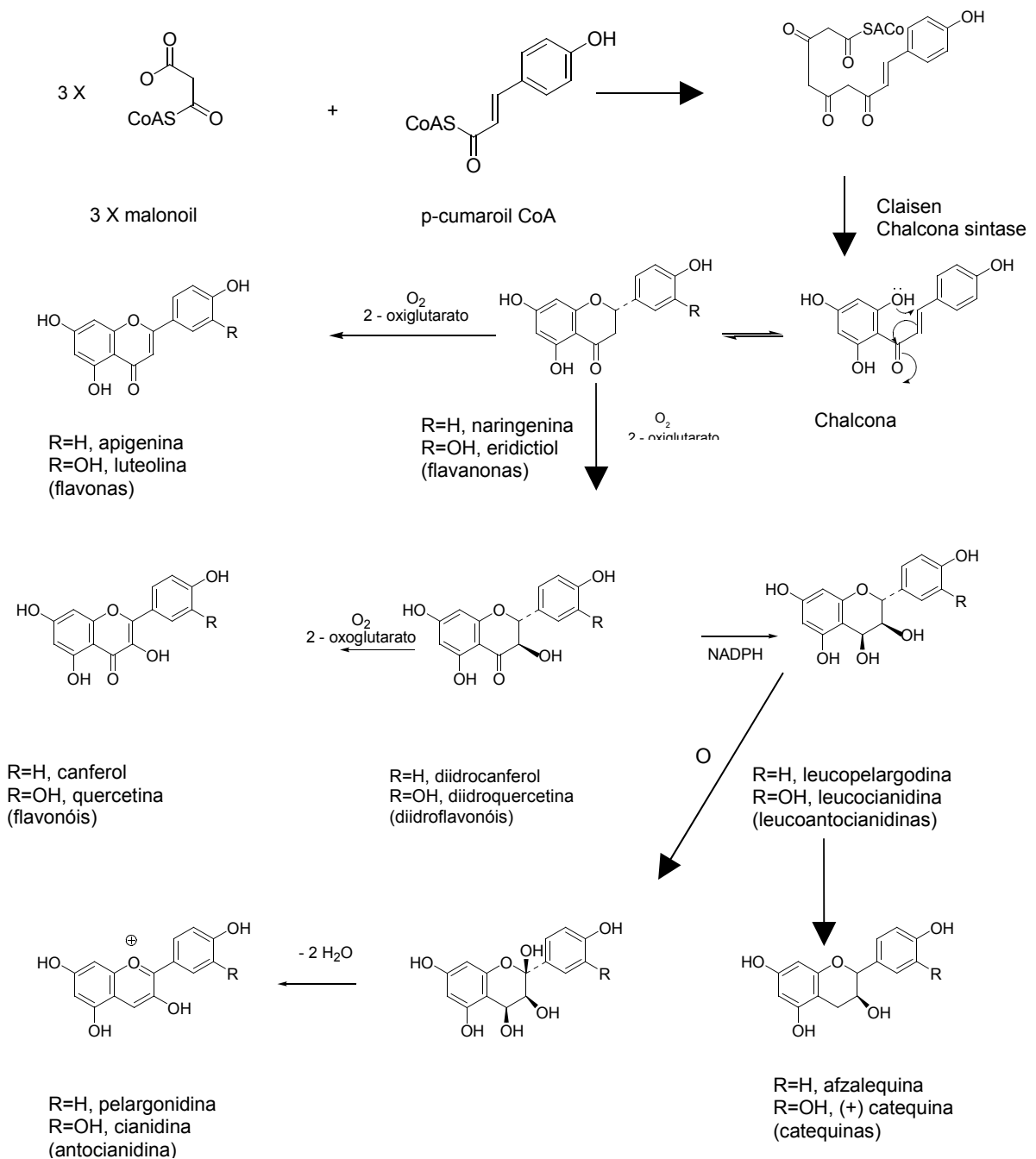


Figura 14 – Esquema da segunda etapa da rota biossintética dos flavonóides (DEWICK, 2002).

4.1.3 Flavonóides ocorrentes em Melastomataceae

São poucos os registros bibliográficos que discorrem sobre flavonóides de Melastomataceae. Harborne (1964) comenta sobre a presença de antocianina acilada para *Tibouchina* do tipo malvidina, presente no pigmento tibouchinina. Ainda, Harborne (1977), refere que o índice de avanço de derivação dessa família, frente a antocianinas aciladas é de 45%. As antocianinas são encontradas em flores e frutos (HARBORNE, 1964; LOWRY, 1976; CRONQUIST, 1981; BOBBIO; BOBBIOI, 1986; HASS; POSER, 1990).

Investigações fitoquímicas da parte aérea de representantes de Melastomataceae foram direcionadas para constituintes de alta polaridade, que levaram ao isolamento de 402 flavonóides sendo: 2 (duas) chalconas, 2 (duas) isoflavonas, 144 (cento e quarenta e quatro) flavonas e 254 (duzentos e cinquenta e quatro) flavonóis ocorrentes em espécies dos gêneros *Diplectria* da Tribo Dissochaeteae (JANG et al., 2006); *Clidemia*, *Henriettella* e *Miconia* da Tribo Miconieae (LI et al., 2001; ZHANG et al. (2003) MACKOVA; KOBLOVSKA; LAPCIK, 2006; MONTENEGRO et al., 2007; RODRIGUES et al., 2007); *Huberia* da Tribo Meranieae (MINURA; SALATINI; SALATINO, 2004); *Lavoisiera*, *Microlicia* e *Trembleya* da Tribo Microlicieae (BOMFIM-PATRÍCIO et al., 2001); *Melastoma*, *Monochaetum* e *Tibouchina* da Tribo Melastomeae (CHENG; HSU e CHEN, 1993; ISAZA, ITO, YOSHIDA (1999); ISAZA, ITO, YOSHIDA, 2001; LEE et al., 2001; MOTTA et al., 2005; SUSANTI et al., 2007) (Tabelas 1, 2, 3, 4, 5 e 6 e Figura 15).

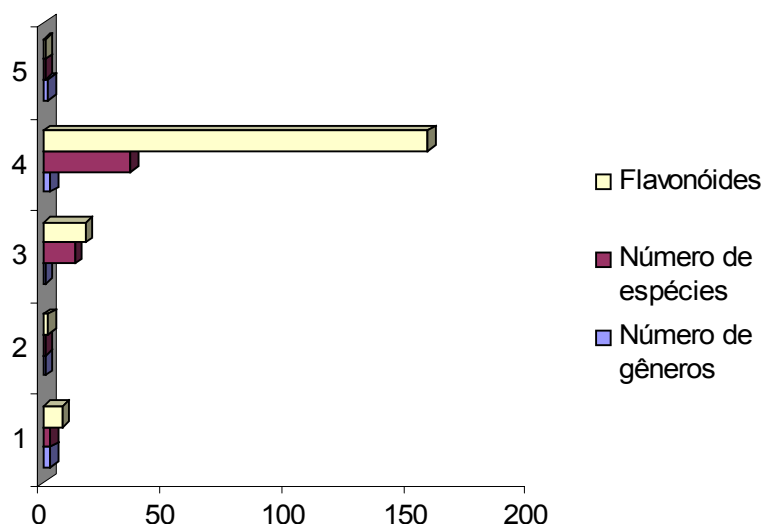


Figura 15 – Relação das tribos frente ao número de gêneros e espécies, com a presença de flavonóides. 1: Tribo Miconieae, 2: Tribo Dissochaeteae, 3: Tribo Meranieae, 4: Tribo Microlicieae, 5: Tribo Melastomeae.

Segundo a literatura, os estudos que apontam os flavonóides com perfil quimiotaxonômico estão direcionados para alguns gêneros da família Melastomataceae como se segue no Quadro 1 abaixo.

Quadro 1 – Representantes de Melastomataceae com perfil quimiotaxonômico em nível de flavonóides segundo a literatura.

BIBLOGRAFIA	GÊNERO	Nº DE ESPÉCIES	PARTE DA PLANTA	Nº DE FLAVONÓIDES
BOMFIM-PATRCÍO et al.(2001)	<i>Microlicia</i> D. Don.	16	Folhas	49
	<i>Lavoisiera</i> DC.	13	Folhas	71
	<i>Trembleya</i> DC.	7	Folhas	38
MINURA, SALATINO e SALATINO (2004)	<i>Huberia</i> DC.	8	Folhas	17

É importante relatar que no trabalho de Bomfim-Patrcício et al. (2001) há menção sobre a predominância da glicosilação nas posições 3-O-glicose e 7-O-glicose do esqueleto flavonol de quercetina e canferol para os gêneros: *Microlicia*,

Lavoisiera e *Trembleya*. Porém, no gênero *Huberia* (MINURA; SALATINI; SALATINO, 2004), predominam apenas derivados de flavonol com a glicosilação na posição 3-O. Todos os gêneros apresentaram poucas formas agliconas (Tabela 1).

Vários tipos de flavonóides 3-oxiflavonas glicosilados, designados para esta família, são derivados de Canferol (3,5,7,4'-tetraidroxiflavona), e quercetina (3,5,7,3',4'-pentaidroxiflavona). No entanto, menos representados por miricetina (3,5,7,3',4',5'-hexahidroxiflavona). A ocorrência de um padrão particular de substituição é freqüentemente usada como indicativo de avanço filogenético (HARBORNE, 1977; SWAIN, 1980).

Com relação aos flavonóides relatados pela literatura, com ênfase aos estudos farmacológicos, destacam-se: 2"-O-galoilvitexina, Isovitexina, O-galoil-C-glicosilflavona, 2",6"-O-digaloilvitexina, Vitexina e Rutina, isolados do extrato metanólico das folhas, e de *Clidemia sericea* D. Don, que apresentaram atividade citotóxica e antimalárica (MONTENEGRO et al., 2007). Já do extrato dicloromatano de *Henriettella fascicularis* (Sw.) C. Wright, foi possível isolar 4',5,7-trihidroxí-6,8-dimetilisoflavona, sendo abordada pela ação frente aos receptores de ligação, e atividade estrogênica (CALDERÓN et al., 2002). Enquanto que, do extrato MeCO aquoso à 80%, isolaram Procianidina B-2, Helichrisosídeo, e estes pomoveram ação antihipertensiva. Mas do extrato acetônico das folhas dessa espécie conseguiram isolar Quercetina, Quercetrina, Isoquercetrina e Rutina, que tiveram efeito inibidor sobre a monoamina oxidase-B, e para os radicais livres (CHENG; HSU; CHEN, 1993; LEE et al., 2001) (Tabelas 1, 2, 3, 4, 5 e 6).

Tabela 1 – Relação das espécies e o tipo de flavonóide isolado da família Melastomataceae com base na literatura

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>Clidemia sericea</i> D. Don	Flavona	2",6"-O-digaloilvitexina;	Folhas; Cromatografia em Coluna com Sephadex LH-20	65	MONTENEGRO et al. (2007)
	Flavona	Isovitexina;		66	
	Flavona	2"-O-galoilvitexina;		67	
	Flavonol	Rutina;		159	
	Flavona	Vitexina.		68	
<i>Diplectria beccariana</i>	Chalcona	2',4'-dihidroxi-3-(4-metoxi fenil)-propiofenona;	Folhas; Cromatografado em Coluna com fase estacionária em sílica gel.	1	JANG et al. (2006)
	Chalcona	4-hidroxi-1',2'-dihidro- β -ionona, 4'-O-metildavidigenina.		2	
<i>Henriettella fascicularis</i> (SW.) C. Wright	Isoflavona	4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetil isoflavona.	Ramos; Cromatografado em Coluna com fase estacionária em sílica gel.	3	MACKOVA; KOBLOVSKA; LAPCIK (2006)
<i>Huberia carvalhoi</i> Baumgratz	Flavona	Apigenina (aglicona livre); Apigenina 7-O-glicosídeo. Quercetina 3-O-glicosídeo	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpirrolidina.	6	MINURA; SALATINI; SALATINO (2004)
	Flavona			7	
	Flavonol			114	
<i>H. consimilis</i> DC.	Flavona	Apigenina (aglicona livre); Apigenina 7-O-glicosídeo. Quercetina 3-O-glicosídeo	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpirrolidina.	6	MINURA; SALATINI; SALATINO (2004)
	Flavona			7	
	Flavonol			114	

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>H. espirito-santensis</i> Baumgratz	Flavona	Apigenina (aglicona livre).	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-pipirrolidina.	6	MINURA; SALATINI; SALATINO (2004)
	Flavonol	Canferol (aglicona livre);		75	
	Flavonol	Canferol 3-O-(glicose-ramnose);		76	
	Flavonol	Canferol 3-O-(galactose-xilose).		77	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosil-glicosídeo.		135	
<i>H. glazioviana</i> Cogn.	Flavona	Apigenina (aglicona livre);	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpoli_pirrolidina.	6	MINURA; SALATINI; SALATINO (2004)
	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo;		7	
	Flavona	Apigenina 7-O-(glicose-ramnose).		8	
	Flavona	Luteolina 7-O-glicosídeo.	47		
	Flavonol	Quercetina 3-O-galactosídeo;	Folhas;Cromatografadoem Coluna com polivinil polipirrolidina.	113	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosil-glicosídeo.		135	
<i>H. minor</i> Cogn.	Flavona	Apigenina (aglicona livre).	Folhas;Cromatografadoem Coluna com polivinil polipirrolidina.	6	MINURA; SALATINI; SALATINO (2004)
	Flavonol	Canferol 3-O-(glicose-ramnose).		76	
	Flavonol	Quercetina 3-O-galactosídeo;		113	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		1	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosil-glicosídeo.		14	
				135	

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>H. nettoana</i> Brade	Flavona	Apigenina (aglicona livre).	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil polipirrolidina.	6	MINURA; SALATINI; SALATINO (2004)
	Flavona	Luteolina (aglicona livre).		46	
	Flavonol	Quercetina (aglicona livre).		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo;		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosilglicosídeo.		135	
<i>H. ovalifolia</i> Baumgratz	Flavona	Apigenina (aglicona livre);	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil polipirrolidina.	6	MINURA; SALATINI; SALATINO (2004)
	Flavona	Apigenina 7-O- (glicose-ramnose)		8	
	Flavona	Luteolina (aglicona livre).		46	
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosídeo.		90	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo		132	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosilglicosídeo.		135	
<i>H. semiserrata</i> DC	Flavona	Apigenina (aglicona livre).	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil polipirrolidina.	6	MINURA; SALATINI; SALATINO (2004)
	Flavona	Luteolina (aglicona livre).		46	
	Flavonol	Canferol (aglicona livre)		75	
	Flavonol	Canferol 3-O-arabinosídeo;		69	
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosídeo.		90	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo;		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-galactosídeo;		113	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosilglicosídeo.		135	

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>Lavoisiera alba</i> DC	Flavona	Apigenina (aglicona livre);	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil polipirrolidina.	6	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Hispidulina (6-metoxiapigenina);		37	
	Flavona	Hispidulina 7-O-glicosídeo;		38	
	Flavona	Luteolina 7-O-glicosídeo.		47	
	Flavonol	Canferol 3-O-arabinosídeo;		69	
	Flavonol	Canferol 3-O-xilosídeo;		70	
	Flavonol	Quercetina;		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo;		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosídeo;		111	
	Flavonol	Quercetina 3-O-xilosídeo;		138	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diarabinosídeo;		124	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosilramnosídeo;		127	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosilramnosídeo;		133	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diramnosídeo;		136	
	Flavonol	Quercetina 3,7-di-O-diglicosídeo.		122	

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>L. confertiflora</i> Naud.	Flavona	Ramnetina 3-O-glicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	148	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Ramnetina 3-O-diglicosídeo.		149	
	Flavona	Apigenina (aglicona livre);		6	
	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo;		7	
	Flavona	Apigenina 7-O-diglicosídeo;		9	
	Flavona	Apigenina 7-O-ramnosilglicosídeo.		10	
	Flavona	Luteolina 7-O-glicosídeo;		47	
	Flavona	Crisoeriol 7-O-glicosídeo.		35	
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosídeo;		90	
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosilramnosídeo;		92	
	Flavonol	Canferol 3-O-ramnosilglicosídeo.		74	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo;		132	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosilramnosídeo;		133	
Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosilglicosídeo.	135			
<i>L. cordata</i> Cogn.	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	7	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Apigenina 7-O-diglicosídeo;		9	
	Flavona	Apigenina 6-O-glicosídeo.		11	
	Flavona	Luteolina 7-O-glicosídeo;		47	
	Flavona	Luteolina 6-O-glicosídeo;		57	
	Flavona	Luteolina 6-O-diglicosídeo;		61	
	Flavona	Luteolina 6-O-(arabinose-glicose).		45	

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>L. crassifolia</i> DC.	Flavona	Apigenina (aglicona livre);	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	6	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Apigenina 7-O-arabinosídeo;		12	
	Flavona	Apigenina 7-O-xilosídeo;		13	
	Flavona	Apigenina 7-O-diglicosídeo;		9	
	Flavona	Apigenina 6-O-glicosilxilosídeo;		17	
	Flavona	Apigenina 6-O-dixilosídeo.		20	
	Flavona	Luteolina 6-O-glicosídeo;		57	
	Flavona	Luteolina 7-O-glicosídeo;		47	
	Flavona	Luteolina 6-O-diglicosídeo;		61	
	Flavona	Luteolina 6-O-(arabinose-glicose).		45	
	Flavona	Hispidulina 7-O-glicosídeo;		38	
	Flavona	Hispidulina 7-O-xiloosídeo		39	
	Flavona	Hispidulina 7-O-glicosilxisídeo.		40	
<i>L. francavillana</i> Cogn var. <i>longiciliata</i> Mell. Barr.	Flavona	Jaceosidina (6-metoxicri-soeriol).	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	44	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Isocanferide (canferol 3-éter metil);		95	
	Flavonol	6-metoxiacanferol:		107	
	Flavonol	6- metoxiacanferol 3-O-galactosídeo;		99	
	Flavonol	6- metoxiacanferol 3-O-glicosídeo.		100	

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>L. glandulifera</i> Naud.	Flavona	Apigenina 7-O-diglicosídeo.	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	15	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Luteolina 7-O-glicosídeo;		38	
	Flavona	Luteolina 6-O-glicosídeo;		47	
	Flavona	Luteolina 6-O-diglicosídeo;		61	
	Flavona	Luteolina 6-O-(glicose-ramnose).		58	
	Flavonol	Canferol 3-O-galactosídeo.		78	
<i>L. imbricata</i> DC.	Flavona	Apigenina (aglicona livre);	Folhas; Cromatografada em Coluna com Polivinil-polipirrolidina	6	BOMFIM – PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo;		7	
	Flavona	Apigenina 7-O-diglicosídeo;		9	
	Flavona	6-Hidroxiapigenina 7-O-glicosídeo;		23	
	Flavona	Apigenina 6-O-glicosídeo;		11	
	Flavona	Apigenina 6-O-diglicosídeo;		15	
	Flavona	Hispidulina 7-O-glicosídeo.		38	
<i>L. macrocarpa</i> Naud.	Flavona	Hispidulina (6-metoxiapigenina);	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	37	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Hispidulina 7-O-glicosídeo.		38	
	Flavonol	Quercetina;		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-galactosídeo;		113	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo;		132	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosídeo;		111	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosilramnosídeo.		133	
	Flavonol	Ramnetina 3-O-glicosídeo;		148	
Flavonol	Ramnetina 3-O-diglicosídeo	149			

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>L. pulcherrima</i> DC. Forma <i>petalis albis</i>	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	7	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	6-Hidroxiapigenina 7-O-glicosídeo;		23	
	Flavona	Apigenina 6-O-glicosídeo;		11	
	Flavona	Hispidulina (6-metoxiapigenina);		37	
	Flavona	Hispidulina 7-O-glicosídeo.		38	
	Flavona	Luteolina 7-O-glicosídeo;		47	
	Flavona	Luteolina 6-O-glicosídeo;		57	
	Flavona	Luteolina 6-O-diglicosídeo;		61	
	Flavona	Luteolina 6-O-glicosídeo 7-étermetil.		49	
<i>L. pulcherima</i> DC.	Flavona	6-hidroxiapigenina;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpoli pirrolidina.	21	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	6-hidroxiapigenina 7-O-glicosídeo;		23	
	Flavona	Apigenina 6-O-galactosídeo;		16	
	Flavona	Hispidulina (6-metoxiapigenina).		37	
	Flavona	Nepetina (6 metoxiluteolina)		64	
	Flavonol	6-metoxicanferol.		107	
	Flavonol	Quercetina;		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosil-glicosídeo;		126	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
Flavonol	Quercetina 3-O-diramnosídeo	136			
Flavonol	Quercetina 3-O-(arabinose-galactose-ramnose)	139			

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRÁFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>L. subulata</i> Triana	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpolipirrolidina.	7	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	6-Hidroxiapigenina 7-O-glicosídeo;		23	
	Flavona	6-Hidroxiapigenina 4'-O-glicosídeo;		22	
	Flavona	Apigenina 6-O-glicosídeo;		11	
	Flavona	Hispidulina (6-metoxiapigenina);		37	
	Flavona	Hispidulina 7-O-glicosídeo;		38	
	Flavona	Hispidulina 7-O-galactosilglicosídeo;		41	
	Flavona	Hispidulina 7-O-diglicosídeo.		42	
	Flavona	6-Hidroxiluteolina 7-O-arabinosídeo.		55	
	Flavonol	Canferol 3,7, éter dimetil.		88	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo;		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-galactosídeo;		113	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-xilosídeo;		123	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diarabinosídeo		124	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosilgalactosídeo;		125	
Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosilglicosídeo;	126			
Flavonol	Quercetina 3-O-digalactosídeo;	129			

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRÁFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>L. subulata</i> Triana	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosilgalactosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil- polipirrolidina.	131	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo		132	
	Flavonol	Quercetina 3-O-(arabino-ramnose)glicosídeo.		117	
<i>Lavoisiera</i> sp	Flavona	Jaceosidina (6-metoxicrisoeriol).	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-poli pirrolidina.	44	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Canferol 3-O-arabinosídeo;		69	
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosídeo;		95	
	Flavonol	Isocanferide (canferol 3-éter metil); 6-metoxicanferol;			
	Flavonol	Canferol 3-O-xilosídeo;		107	
	Flavonol	Canferol 3-O-arabinosilxilo sídeo;		70	
	Flavonol	Canferol 3-O-(glicose-xilose);		88	
	Flavonol	6-metoxicanferol 3-O-xilosídeo;		89	
	Flavonol	6-metoxicanferol 3-O-(arabi-nose-glicose);		101	
	Flavonol	6-metoxicanferol 3-O-(arabi-nose-xilose);		102	
	Flavonol	6-metoxicanferol 3-O-		97	
	Flavonol	(glicosilxilosídeo);			
	Flavonol	6-metoxicanferol 3-O-xilosilglicosídeo.		105	
Flavonol		106			

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>Lavoisiera</i> sp	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-poli pirrolidina.	7	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	6-hidroxiapigenina 7-O-arabinosídeo;			
	Flavona	6-hidroxiapigenina 7-O-glicosídeo;		22	
	Flavona	Hispidulina (6-metoxiapigenina);		37	
	Flavona	Hispidulina 7-O-glicosídeo;		38	
	Flavona	Hispidulina 7-O-arabinosilglicosídeo;		43	
	Flavona	Hispidulina 7-O-diglicosídeo.		42	
<i>Melastoma candidum</i> D. Don.	Flavonol	Quercetrina 3-O-ramnosídeo; Helichrisosídeo;	Folhas; Cromatografada em Sephadex LH-20.	111	CHENG; HSU; CHEN (1993); LEE <i>et al.</i> (2001)
	Flavonol	Isoquercetrina 3-O-glicosídeo		36	
	Flavonol	Procianidina B-2;			
	Flavonol	Rutina 3-O-(glicose-raminose)			
<i>M. malabatricum</i> L.	Antocianidina	Naringenina	Flores;	5	SUSANTI et al. (2007)
	Flavonol	Canferol 3-O-D-glicosídeo;		90	
	Flavonol	Canferol 3-O-(2",6"-di-O-p-trans-cumaroil)glicosídeo.		91	

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>Miconia cabu</i> Hoehne	Isoflavona (dímero)	5 hidróxi -4'-7, dimetoxiflavona (6-C-6")-5"-hidróxi-3", 4", 7"-trimetoxiflavona.	Folhas; Cromatografada em Sephadex LH-20	4	RODRIGUES et al. (2007)
	Flavonol	Canferol 3-O-β-D - (6"-cumaroil)glicopiranosídeo;		79	
	Flavonol	Quercetina 3-O-α-L-ramnopiranosil-(2→1)-O-β-D-xilopiranosídeo;		118	
	Flavonol	Quercetina 3-O-α-L-ramnosídeo;		119	
	Flavonol	Quercetina 3-O-β-D-glicopiranosídeo;		120	
	Flavonol	Miricetina 3-O-α-L-ramnopiranosídeo.		158	
<i>M. myriantha</i> Bentham	Flavona	5,4'-diidroxiflavona-7-O-glicose-4"-O-hexahidróxi- difenoil-6,8-dimetil;	Folhas e ramos; Cromatografado em Coluna com fase estacionária em sílica gel.	30	LI et al. (2001)
	Flavona	5,4'-diidroxiflavona-7-O-glicose,4"-O-galoil-6,8-dimetil;		29	
	Flavona	5,4'-diidroxiflavona-7-O-glicose-6,8-dimetil.		28	
<i>M. trailii</i> Cogn.	Flavona	5-hidroxiflavona-7-O-α-L-arab (1→6) - β - D - glicose, 6, 8-dimetil-4'meto- xiflavona;	Folhas e ramos;Cromatografado em Coluna com fase estacionária em sílica gel.	31	ZHANG et al. (2003)

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>Microlicia avicularis</i> Mart.	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo.	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpirrolidina.	7	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo;		132	
		Quercetina 3-O-ramnosilglicosídeo;		135	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosil ramnosídeo.		127	
<i>M. confertiflora</i> Naud. var. <i>confertiflora</i> Naud.	Flavonol	Canferol 3-O-glicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpirrolidina.	90	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Canferol 3, 7-di-O-diglicosídeo.		85	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo;		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3,7-di-O-diarabinosídeo.		145	
<i>M. confertiflora</i> var. <i>laxifolia</i>	Flavonol	Quercetina 3-O-galactosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpirrolidina.	113	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo		132	
<i>M. crenulata</i> Mart	Flavonol	Canferol 3-O-diglicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpirrolidina.	73	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Canferol 3-O-galactosil-ramnosídeo;		72	
	Flavonol	Quercetina;		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo;		112	

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>M. cuneata</i> Naud.	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpolipirrolidina.	114	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosídeo;		116	
	Flavonol	Quercetina 3-O-xilosídeo;		123	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosil-ramnosídeo;		133	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosil-glicosídeo.		135	
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosídeo;		90	
	Flavonol	Canferol 3-O-diglicosídeo.		73	
	Flavonol	Quercetina;		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo;		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo;	132			
<i>M. domazioi</i> Brade	Flavonol	Quercetina;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpolipirrolidina.	135	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosídeo.		114	
	Flavonol			111	

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>M. fulva</i> (Spreng.) Cham.	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo.	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpolipirrolidina.	7	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Canferol 3-O-arabinosídeo;		69	
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosídeo.		90	
	Flavonol	Quercetina;		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo;		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosídeo;		111	
	Flavonol	Quercetina 3-O-xilosídeo;		123	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosil-ramnosídeo;		133	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosil-glicosídeo.		135	
<i>M. glandulifera</i> Cogn.	Flavona	Luteolina 7-O-arabinosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpolipirrolidina.	50	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosídeo;		90	
	Flavonol	Canferol 3-O-xilosídeo;		70	
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosil-ramnosídeo;		92	
	Flavonol	Canferol 3-O-xilosilglicosídeo		81	
	Flavonol	Quercetina;		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosil-galactosídeo;	125			

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>M. isophylla</i> DC.	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosil-glicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpolipirrolidina.	126	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo		132	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosil-glicosídeo;		135	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diramnosídeo		133	
	Flavonol	Quercetina 3-O-xilosilglicosídeo;		136	
	Flavonol	Quercetina 3-O-dixilosídeo.		138	
	Flavonol	Quercetina 3-O-dixilosídeo.			
	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo.	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpolipirrolidina.	7	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Canferol 3-O-xilosídeo;		70	
	Flavonol	Canferol 3-O-dixilosídeo.		82	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-xilosídeo;			
Flavonol	Quercetina 3-O-digalactosídeo;	123			
Flavonol	Quercetina 3-O-glicosil-xilosídeo	135			
Flavonol	Quercetina 3-O-dixilosídeo.	134			
Flavonol	Luteolina 7-O-arabinosídeo.	138			
<i>M. junipera</i> St. Hil.	Flavona		Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpolipirrolidina.	33	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>M. macrophylla</i> Naud.	Flavona	Crisoeriol (luteolina 3'éter metil);	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	33	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Crisoeriol 7-O-arabinosídeo;		34	
	Flavona	Crisoeriol 7-O-glicosídeo.		35	
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosil -ramnosídeo.		92	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo;		132	
<i>M. martana</i> O. Berg. ex Triana	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosil-ramnosídeo.		133	
	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpolipirrolidina.	7	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Apigenina 7-O-xilosídeo.		13	
	Flavonol	Canferol 3-O-arabinosídeo;		69	
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosídeo;		90	
	Flavonol	Canferol 3-O-xilosídeo.		70	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo		112	
Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;	114			
<i>M. polystema</i> Naud.	Flavonol	Quercetina 3-O-xilosídeo.		123	
	Flavonol	Canferol 3-O-arabinosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	69	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Canferol 3-O-(glicosexilose)		76	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diramnosídeo.		136	
Flavonol					

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRÁFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>M. pulchella</i> Naud.	Flavonol	Quercetina;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	110	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosídeo		112	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-xilosídeo;		123	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo;		132	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosilxilosídeo;		134	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosil-xilosídeo		137	
	Flavonol	Quercetina 7-O-glicosídeo;		143	
	Flavonol	Quercetina 7-O-diglicosídeo.	121		
<i>Microlicia</i> sp	Flavona	Apigenina;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	6	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo;		7	
	Flavona	Apigenina 7-O-diglicosídeo.		9	
	Flavona	Canferol 3-O-glicosídeo.		90	
	Flavona	Quercetina 3-O-glicosídeo		114	
<i>Monochaetum multiflorum</i> (Bomple) Naudin	Flavonol	Hiperina;			ISAZA, ITO, YOSHIDA (1999) ISAZA, ITO, YOSHIDA (2001)
	Flavonol	Quercetina 3-(6'-O-cafeoil)- β -D-galactosídeo;			
	Flavonol	Isoquercetrina;		120	
	Flavonol	Monochaetina			
	Flavonol	Quercetina 3-(6'-O-cafeoil)- β -D-glicopiranosídeo;		115	
	Flavonol	Trifolina.			

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>Tibouchina pulchra</i> Cogn.	Flavona	Luteolina.	Folhas; Cromatografada em coluna de fase reversa ODS M-80 em CLAE-preparativa.	46	MOTTA et al. (2005)
	Flavonol	Canferol;		75	
	Flavonol	Canferol 3-O-galactosídeo;		78	
	Flavonol	Canferol 3-O-glicosídeo;		90	
	Flavonol	Miricetina;		154	
	Flavonol	Quercetina;		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosídeo.		111	
<i>Trembleya chamissoana</i> Naud.	Flavona	Apigenina;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polyvinil polipirrolidina	6	BOMFIM- PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo;		7	
	Flavona	Cirsimaritina (apigenina 6, 7-éter dimetil);		32	
	Flavona	Hispidulina (6-metoxiapigenina);		37	
	Flavona	Hispidulina 7-O-glicosídeo;		38	
	Flavona	Jaceosidina (6-metoxicri-soeriol).		44	
	Flavonol	Isocanferide (Canferol 3-éter metil);		95	
	Flavonol	Isorramnetina 3-O-arabinosídeo;		151	
	Flavonol	Isorramentina (Quercetina 3'éter metil);		150	
	Flavonol	6-metoxicanferol;		107	
Flavonol	Penduletina (6-metoxi canferol 3,7-éter dimetil).	108			

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>T. diffusa</i> E. Martins et A. B. Martins	Flavonol	Quercetina;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polyvinil polipirrolidina	110	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Quercetina 3-O-galactosídeo		113	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo;		132	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosil-ramnosídeo;		133	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosil-glicosídeo.	135		
	Flavonol	Apigenina 7-O-glicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polyvinil polipirrolidina	7	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Apigenina 7-O-diglicosídeo;		9	
	Flavona	Hispidulina (6-metoxiapigenina).		37	
	Flavona	Luteolina 7-O-ramnosilglicosídeo.		54	
	Flavona	Canferol 3-O-glicosídeo.		90	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosil-glicosídeo;		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diramnosídeo		135	
	Flavonol	Quercetina 3-O-(galactose-glicose-ramnose);		136	
	Flavonol	Quercetina 3,7-di-O-diglicosídeo.		142	
Flavonol		122			

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>T. laniflora</i> (Don) Cogn.	Flavona	5-hidroxi-7,4-dimetoxiflavona.	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpolipirrolidina.		BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavonol	Canferol 3-O-di ou tri glicosídeo de glicose e ramnose.		86	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-arabinosilgalactosídeo;		125	
	Flavonol	Quercetina 3-O-digalactosídeo;		129	
	Flavonol	Quercetina 3-O-galactosilglicosídeo;		130	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosilgalactosídeo;		131	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo		132	
	Flavonol	Quercetina 3-O-ramnosilglicosídeo;		135	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diramnosídeo		136	
	Flavonol	Quercetina 3-O-trigalactosídeo	141		
<i>T. parviflora</i> (Don) Cogn.	Flavona	Luteolina 7-O-glicosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinilpolipirrolidina.	47	
	Flavona	Luteolina 7-O-xilosídeo.		48	
	Flavonol	Quercetina;		110	
	Flavonol	Quercetina 3-O-glicosídeo;		114	
	Flavonol	Quercetina 3-O-xilosídeo;		123	
	Flavonol	Quercetina 3-O-diglicosídeo		132	

Continua

Continuação da Tabela 1

ESPÉCIE	ESQUELETO	SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA E CROMATOGRAFIA	CÓDIGO	REFERÊNCIA
<i>T. pentagona</i> Naud.	Flavonol	Apigenina;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina	6	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Apigenina 7-O-glicosídeo;		7	
	Flavona	Hispidulina (6-metoxiapigenina);		37	
	Flavona Flavonol	Hispidulina 7-O-glicosídeo. 6-metoxicanferol.		38	
<i>T. phlogiformis</i> Mart. & Schr. Ex DC.	Flavona	Apigenina 7-O-galactosídeo;	Folhas; Cromatografado em Coluna com polivinil-polipirrolidina.	18	BOMFIM-PATRÍCIO et al. (2001)
	Flavona	Apigenina 7-O-digalactosídeo; Luteolina 7-O-galactosídeo;		19	
	Flavona	Luteolina 7-O-glicosídeo;		51	
	Flavona	Luteolina 7-O-galactosil-galactosídeo;		47	
	Flavona	Luteolina 7-O-ramnosilglicosídeo.		53	
	Flavona	Canferol 3-O-glicosídeo;		54	
	Flavonol	Canferol 3-O-galactosil-galactosídeo.		90	
	Flavonol	Quercetina 3-O-galactosídeo; Quercetina 3-O-diramnosídeo		71	
Flavonol		113			
Flavonol		136			

Tabela 2 – Estruturas das chalconas, isoladas em extratos de média polaridade das folhas de espécies de Melastomataceae.

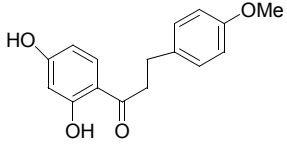
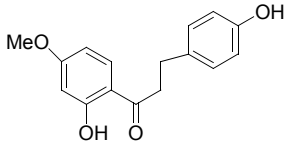
SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
2',4'-dihidroxi-3-(4-metoxifenil)-propiofenona.		1
4-hidro-1',2'-dihidro-β-ionona-4'-O-metildavidigenina		2

Tabela 3 – Estruturas das isoflavonas isoladas de extratos de média polaridade das partes aéreas de espécies de Melastomataceae.

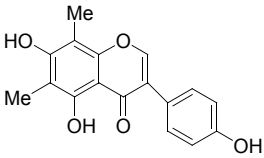
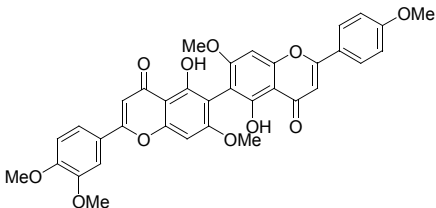
SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
4',5,7-trihidroxi-6,8-dimetilisoflavona		3
5-hidroxi-4'-7-dimetoxiflavona (6-C-6'')-5''-hidroxi-3''',4''',7''-trimetoxiflavona		4

Tabela 4 – Estrutura de flavanona, isolada de extrato de média polaridade das flores de *Miconia cabu* Hoehne.

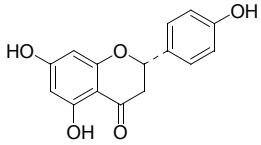
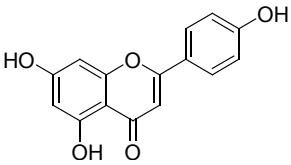
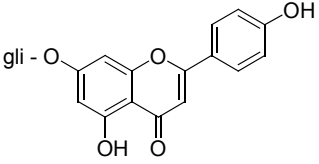
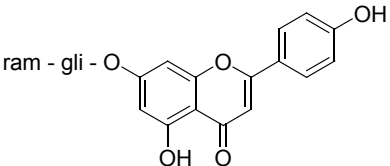
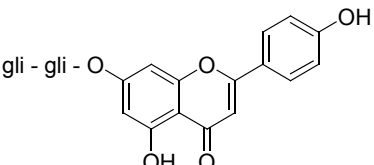
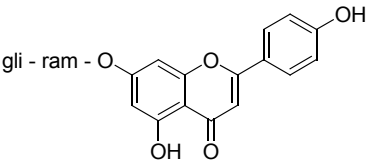
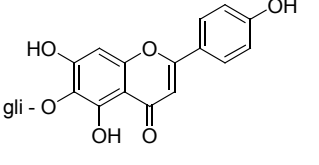
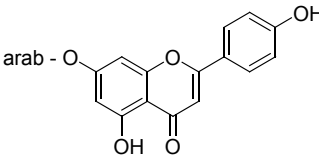
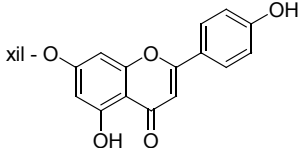
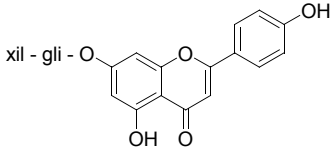
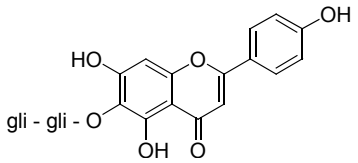
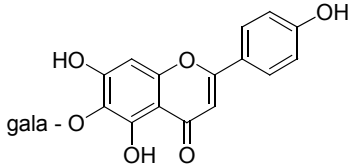
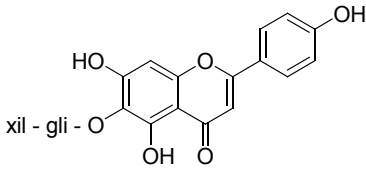
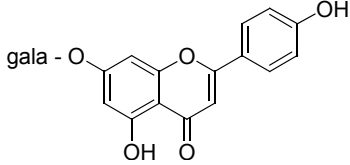
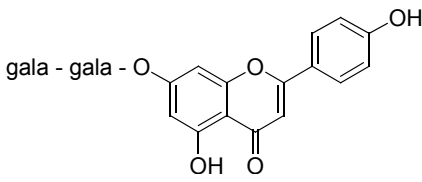
SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Nairingenina		5

Tabela 5 – Estruturas das flavonas, isoladas em extratos de média a alta polaridade das partes aéreas de espécies de Melastomataceae.

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Apigenina		6
Apigenina 7-O-glicosídeo		7
Apigenina 7- O-(glicose-ramnose)		8
Apigenina 7-O-diglicosídeo		9
Apigenina 7-O-ramnosilglicosídeo		10
Apigenina 6-O-glicosídeo		11
Apigenina 7-O-arabinosídeo		12

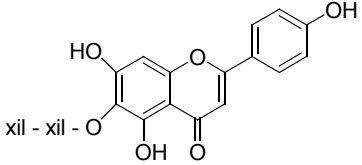
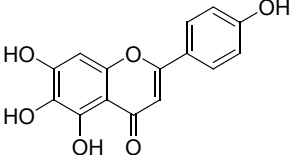
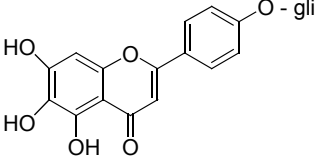
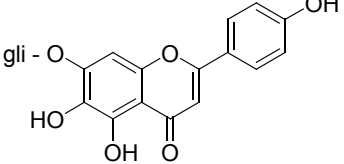
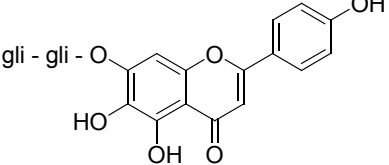
Continua

Continuação da Tabela – 5

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Apigenina 7-O-xilosídeo		13
Apigenina 7-O-glicosilxilosídeo		14
Apigenina 6-O-diglicosídeo		15
Apignina 6-O-galactosídeo		16
Apigenina 6-O-glicosilxilosídeo		17
Apignina 7-O-galactosídeo		18
Apignina 7-O-digalactosídeo		19

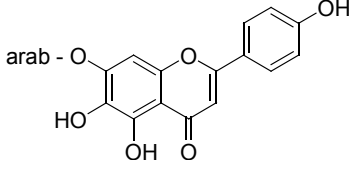
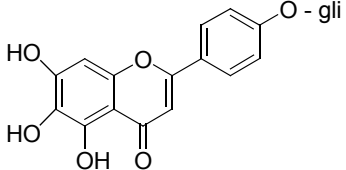
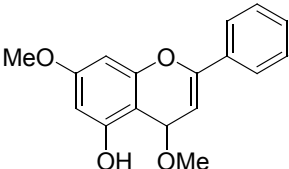
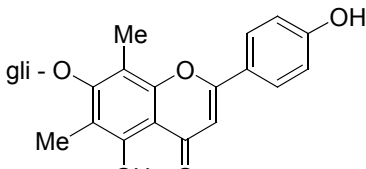
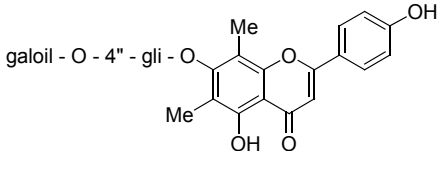
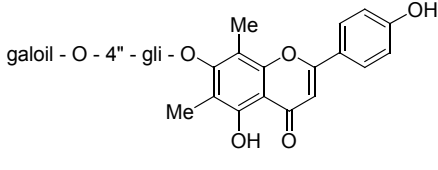
Continua

Continuação da Tabela – 5

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Apigenina 6-O-dixilosídeo		20
6 - hidroxiaapigenina		21
6 – hidroxiaapigenina 4'-O-glicosídeo		22
6 – hidroxiaapigenina 7-O-glicosídeo		23
6 – hidroxiaapigenina 7-O-diglicosídeo		24

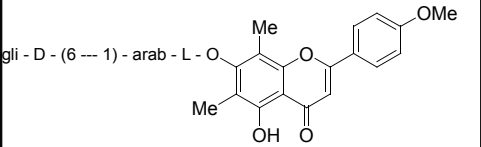
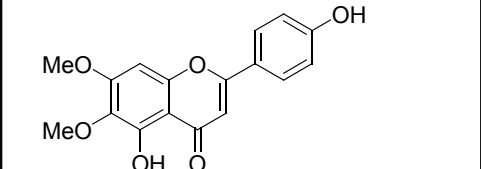
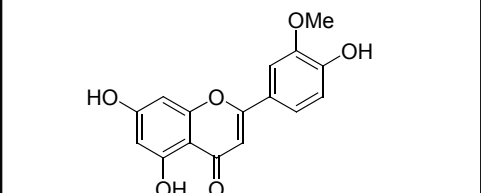
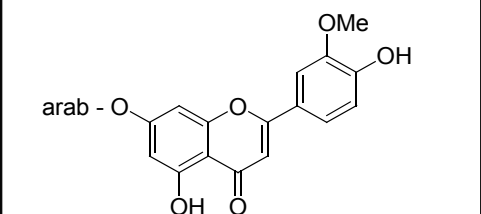
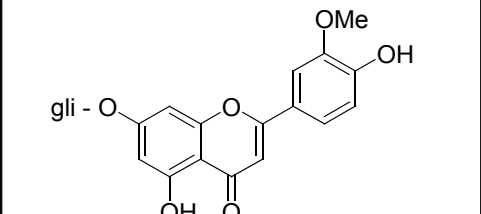
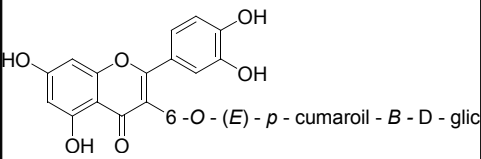
Continua

Continuação da Tabela – 5

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
6 – hidroxipigenina 7-O-arabino-sídeo		25
6 – hidroxipigenina 4'-O-glicosídeo		26
5 – hidroxi – 7,4 – dimetoxiflavona		27
5,4' diidroxiflavona – 7 – O – glicose – 6,8 – dimetil		28
5,4' diidroxiflavona – 7 – O – glicose – 4'' – O – galoil – 6,8 – dimetil		29
5,4' – diidroxiflavona – 7 – O – glicose – 4'' – O – hexahidroxidifenoil – 6,8 – dimetil		30

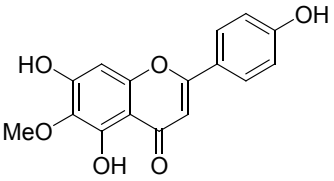
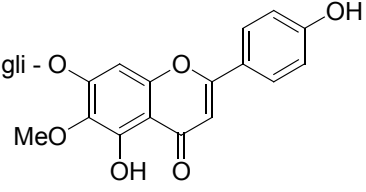
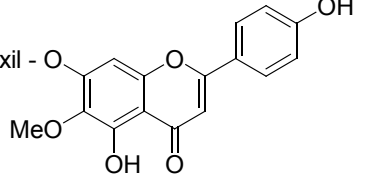
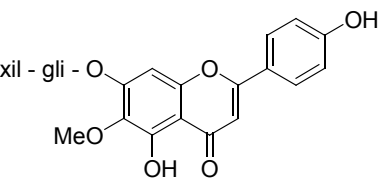
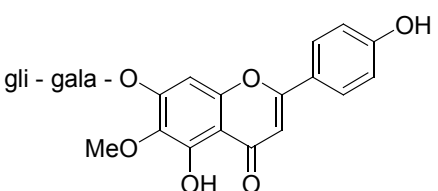
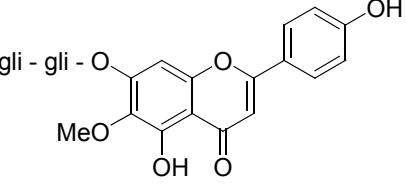
Continua

Continuação da Tabela – 5

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
5 – hidroxiflavona – 7 - O - α - L – arab (1→6) – β - D – glicose – 6,8 dimetil – 4' – metoxiflavona	 <p>gli - D - (6 → 1) - arab - L - O</p>	31
Cirsimaritina		32
Crisoeriol		33
Crisoeriol 7-O-arabinosídeo	 <p>arab - O</p>	34
Crisoeriol 7-O-glicosídeo	 <p>gli - O</p>	35
Helichrisosídeo	 <p>6 - O - (E) - p - cumaroil - B - D - glic</p>	36

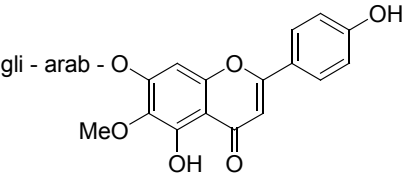
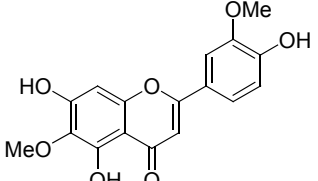
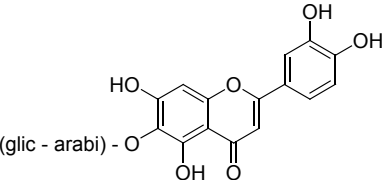
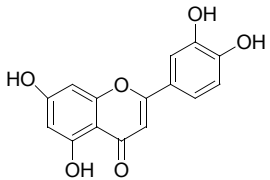
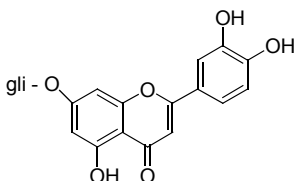
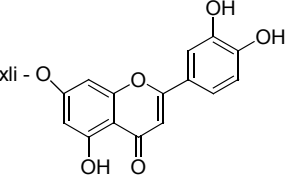
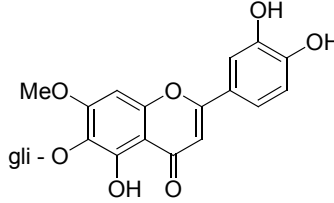
Continua

Continuação da Tabela – 5

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Hispidulina		37
Hispidulina 7-O-glicosídeo		38
Hispidulina 7-O-xilosídeo		39
Hispidulina 7-O-glicosilxilosídeo		40
Hispidulina 7-O-galactosilglicosídeo		41
Hispidulina 7-O-diglicosídeo		42

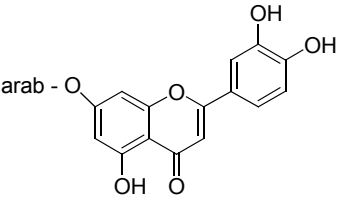
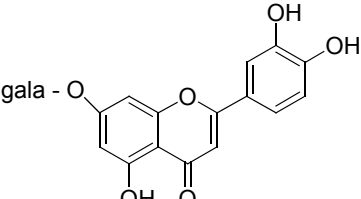
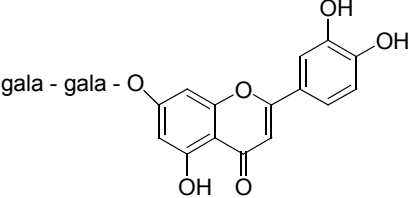
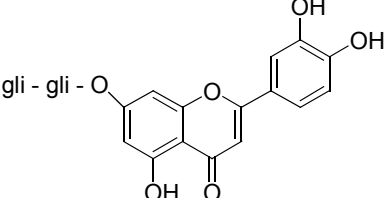
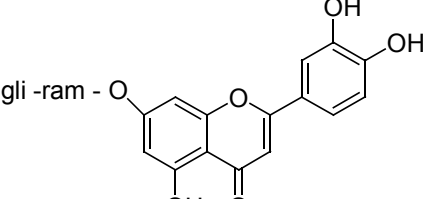
Continua

Continuação da Tabela – 5

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Hispidulina 7-O-arabinosilglicosídeo		43
Jaceosidina		44
Luteolina 6 – O – (arabinose-glicose)		45
Luteolina		46
Luteolina 7-O-glicosídeo		47
Luteolina 7-O-xilosídeo		48
Luteolina 6-O-glicosídeo-7-éterme til		49

Continua

Continuação da Tabela – 5

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Luteolina 7-O-arabinosídeo		50
Luteolina 7-O-galactosídeo		51
Luteolina 7- O-digalactosídeo		52
Luteolina 7- O-diglicosídeo		53
Luteolina 7-O-raminoglicosídeo		54

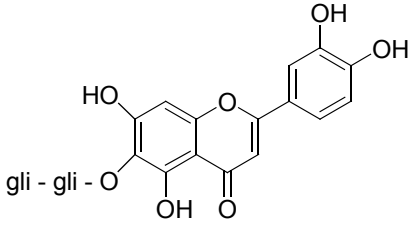
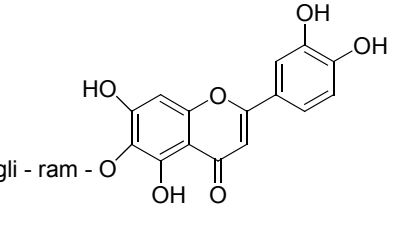
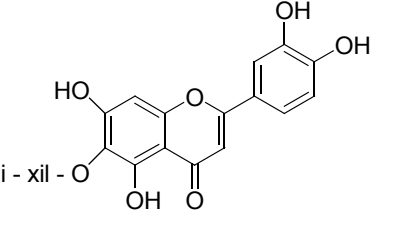
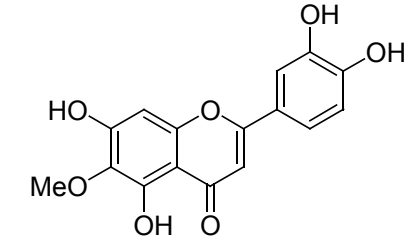
Continua

Continuação da Tabela – 5

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
6-hidroxiluteolina-7-O-arabinosídeo		55
6-hidroxiluteolina-7-O-glicosídeo		56
Luteolina 6-O-glicosídeo		57
Luteolina 6-O-(glucose-ramnose)		58
Luteolina 6-O-xilosídeo		59
Luteolina 6-O-arabinoglicosídeo		60

Continua

Continuação da Tabela 5

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Luteolina 6 -O-diglicosídeo		61
Luteolina 6 -O-raminoglicosídeo		62
Luteolina 6 -O-xiloglicosídeo		63
Nepetina		64

Continua

Continuação da Tabela 5

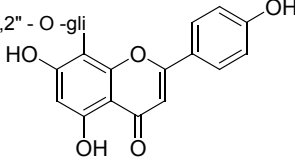
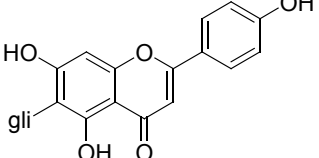
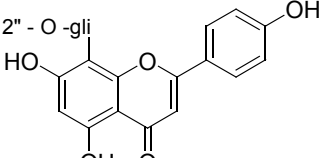
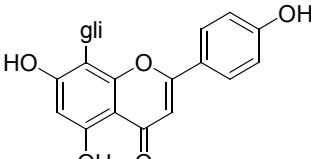
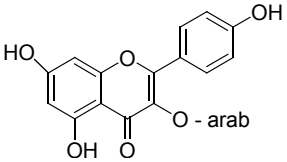
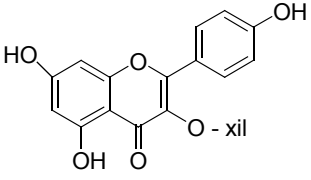
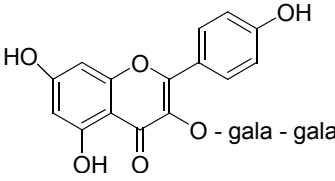
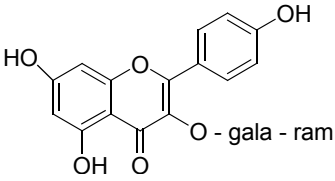
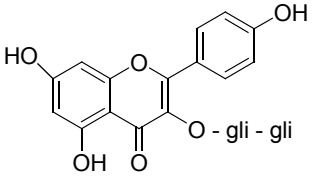
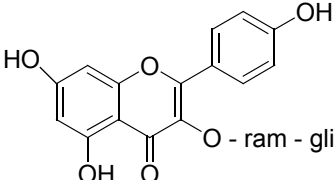
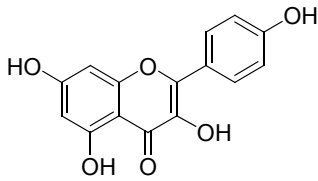
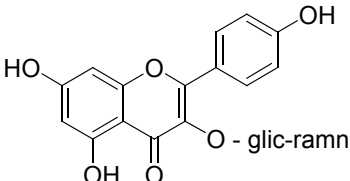
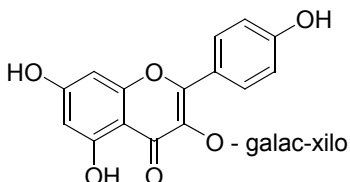
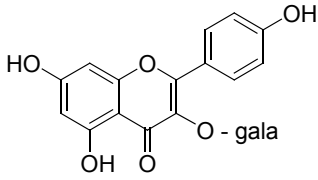
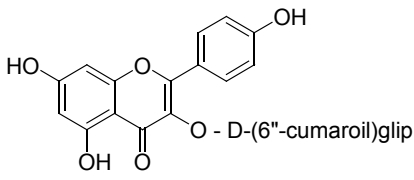
SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
2",6"-O-digaloilvitexina	<p data-bbox="742 392 821 425">digal - 6",2" - O -gli</p> 	65
Isovitexina		66
2"-O-galoilvitexina	<p data-bbox="758 963 901 996">gal - 2" - O -gli</p> 	67
Vitexina	<p data-bbox="901 1254 949 1288">gli</p> 	68

Tabela 6 – Estruturas de flavonóis, isoladas em extratos de média e alta polaridade das partes aéreas de espécies de Melastomaceae.

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Canferol 3-O-arabinosídeo		69
Canferol 3-O-xilosídeo		70
Canferol 3-O-galactosilgalactosídeo		71
Canferol 3-O-galactoraminosídeo		72
Canferol 3-O-diglicosídeo		73
Canferol 3-O-raminosilglicosídeo		74

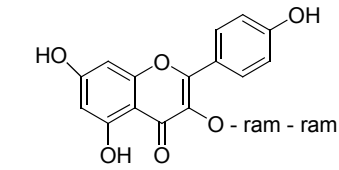
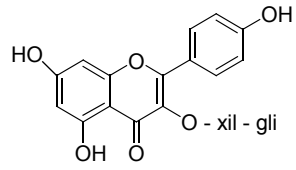
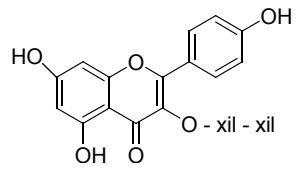
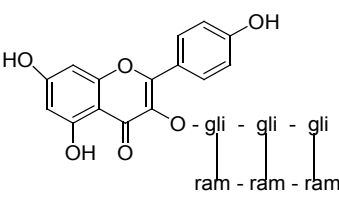
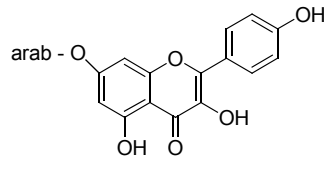
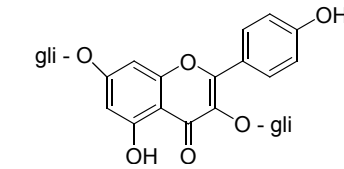
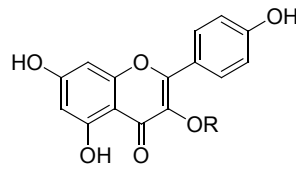
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Canferol		75
Canferol 3-O-glicose-ramnose		76
Canferol 3-O-galactose-xilose		77
Canferol 3-O-galactosídeo		78
Canferol 3-O-β-D-(6"-cumaroil)glicopiranosídeo		79

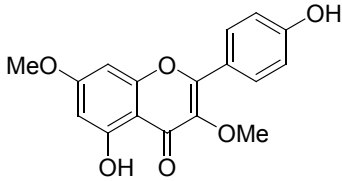
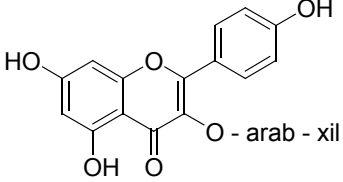
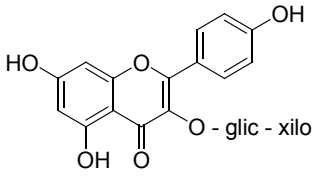
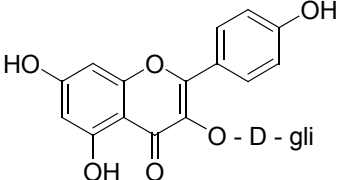
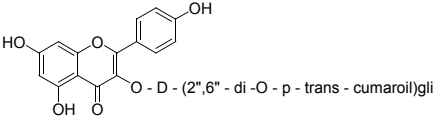
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Canferol 3 - O-dirraminosídeo		80
Canferol 3-O-xilosilglicosídeo		81
Canferol 3-O-dixilosídeo		82
Canferol 3-O-triglicosídeo de glicose e raminose		83
Canferol 7-O-arabinosídeo		84
Canferol 3, 7-O-diglicosídeo		85
Canferol 3-O-di ou triglicosídeo de glicose e ramnose (R)		86

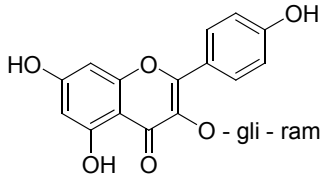
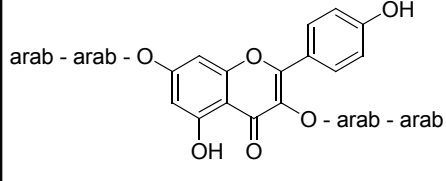
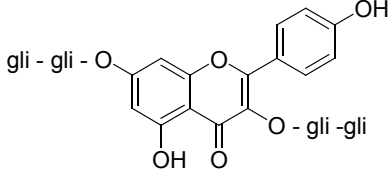
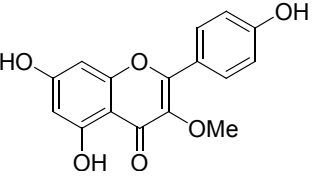
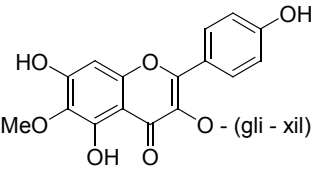
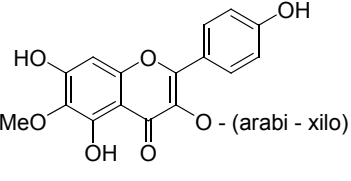
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Canferol 3,7 éterdimetil		87
Canferol 3-O-arabinosilxilosídeo		88
Canferol 3-O-(glicose-xilose)		89
Canferol 3-O-D-glicosídeo		90
Canferol 3-O-(2'',6''-di-O-p-trans-cumaroil)glicosídeo		91

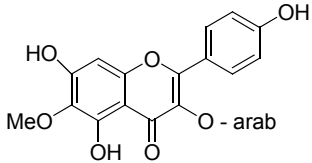
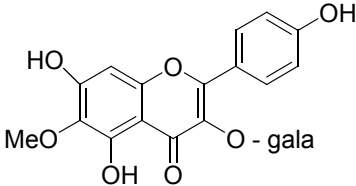
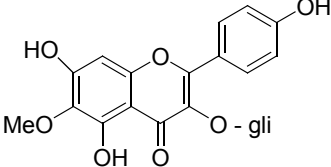
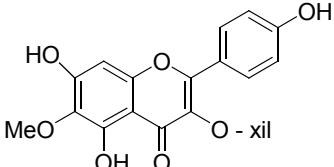
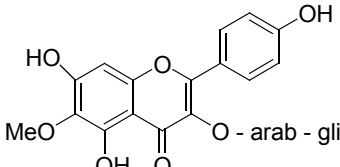
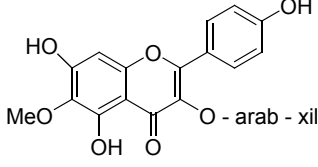
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Canferol 3-O-glicosilramnosídeo		92
Canferol 3,7-di-O-diarabnosídeo		93
Canferol 3,7-di-O-diglicosídeo		94
Isocanferide		95
6-metoxicanferol 3-O-(glicosilxilosi- deo)		96
6-metoxicanferol 3-O-(arabinose- xilose)		97

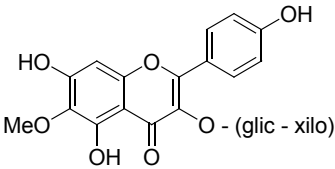
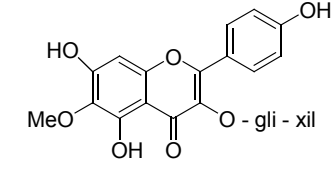
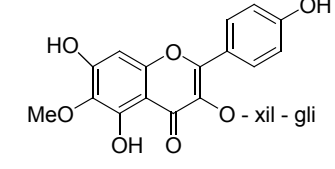
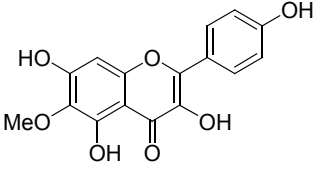
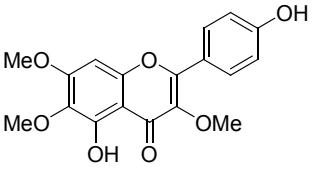
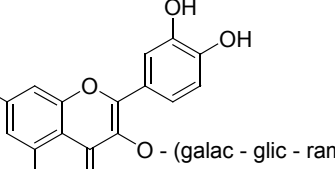
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
6-metoxicanferol 3-O-arabinosídeo		98
6-metoxicanferol 3-O-galactosídeo		99
6-metoxicanferol 3-O-glicosídeo		100
6-metoxicanferol 3-O-xilosídeo		101
6-metoxicanferol 3-O-arabinsilglicosídeo		102
6-metoxicanferol 3-O-arabinsilxilosídeo		103

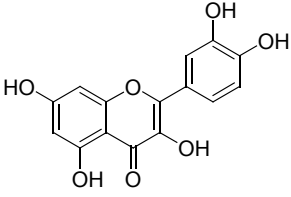
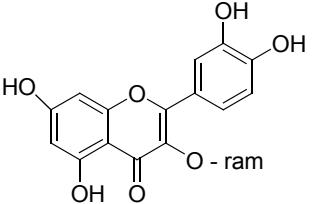
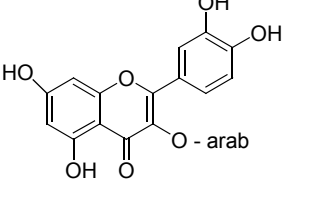
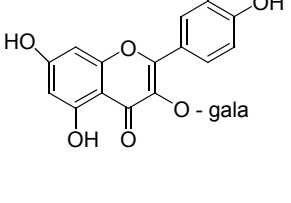
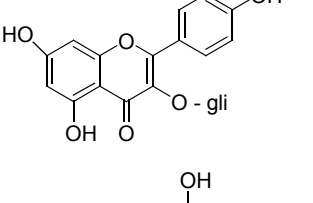
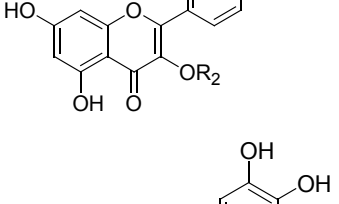
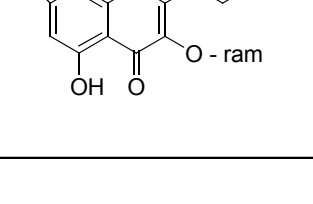
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
6-metoxicanferol 3-O-glicose-xilose	 <p>Chemical structure of 6-methoxyflavone-3-O-galactoxylan. The flavone core has a methoxy group at C6, a hydroxyl group at C7, and a galactoxylan chain at C3. The galactose is linked to the xilose.</p>	104
6-metoxicanferol 3-O-glicosilxilosideo	 <p>Chemical structure of 6-methoxyflavone-3-O-galactoxylid. The flavone core has a methoxy group at C6, a hydroxyl group at C7, and a galactoxylid chain at C3. The galactose is linked to the xilose.</p>	105
6-metoxicanferol 3-O-xilosilglicosideo	 <p>Chemical structure of 6-methoxyflavone-3-O-xylidgalact. The flavone core has a methoxy group at C6, a hydroxyl group at C7, and an xylidgalact chain at C3. The xilose is linked to the galactose.</p>	106
6-metoxicanferol	 <p>Chemical structure of 6-methoxyflavone. The flavone core has a methoxy group at C6, a hydroxyl group at C7, and a hydroxyl group at C3.</p>	107
Penduletina	 <p>Chemical structure of penduletin. The flavone core has methoxy groups at C6 and C7, a hydroxyl group at C3, and a methoxy group at C4.</p>	108
Quercetina 3-O-(galactose-glicose-ramnose)	 <p>Chemical structure of quercetin-3-O-galactoglucorhamnoside. The flavone core has hydroxyl groups at C6, C7, and C3, and a galactoglucorhamnoside chain at C3. The galactose is linked to the glucose, which is linked to the rhamnose.</p>	109

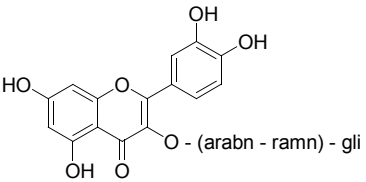
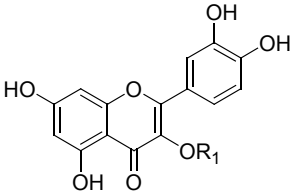
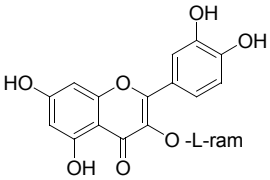
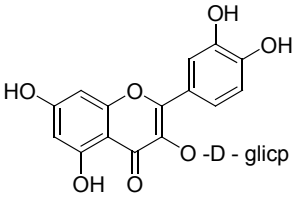
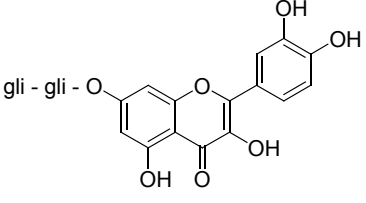
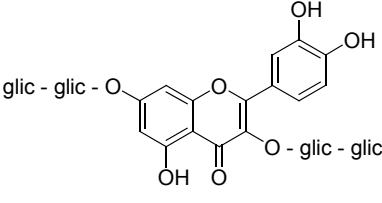
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Quercetina		110
Quercetina 3-O-raminosídeo		111
Quercetina 3-O-arabinosídeo		112
Quercetina 3-O-galactosídeo		113
Quercetina 3-O-glicosídeo		114
Quercetina 3-(6'-O-cafeoil)-β-D-glicopiranosídeo (R ₂)		115
Quercetina 3-O-raminosídeo		116

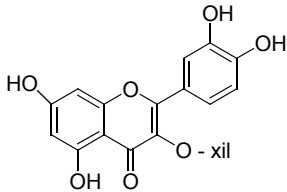
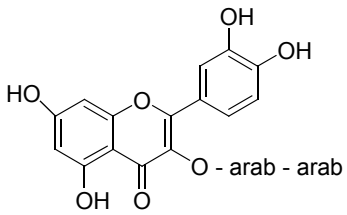
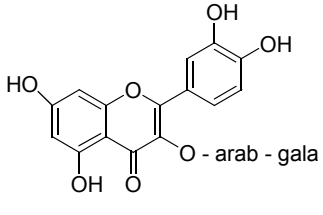
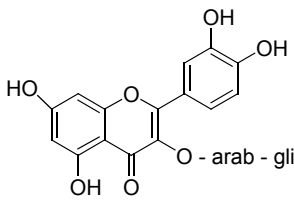
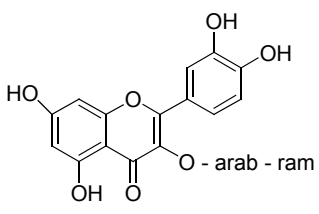
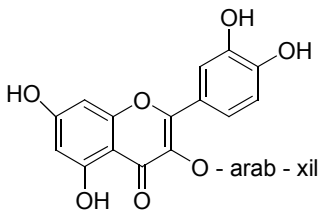
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Quercetina 3-O-(arabino-ramnose) glicosídeo		117
Quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosil-(2 \rightarrow 1)-O- β -D-xilopiranosídeo (R ₁)		118
Quercetina 3-O- α -L-ramnosídeo		119
Quercetina 3-O- β -D-glicopiranosídeo		120
Quercetina 7-O-diglicosídeo		121
Quercetina 3,7di-O-diglicosídeo		122

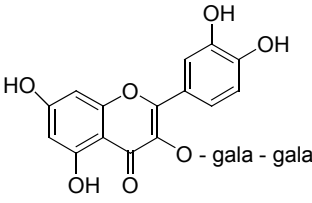
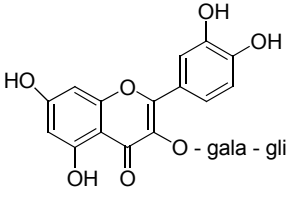
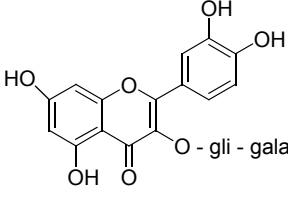
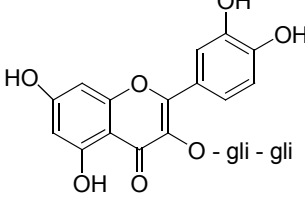
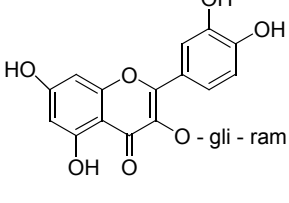
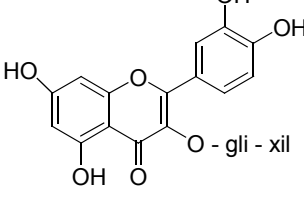
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Quercetina 3-O-xilosídeo		123
Quercetina 3-O-diarabinosídeo		124
Quercetina 3-O-arabinsilgalactosídeo		125
Quercetina 3-O-arabinsilglicosídeo		126
Quercetina 3-O-arabinsilraminosídeo		127
Quercetina 3-O-arabinsilxilosídeo		128

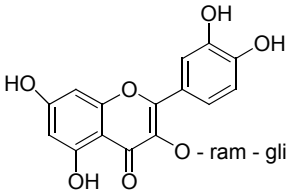
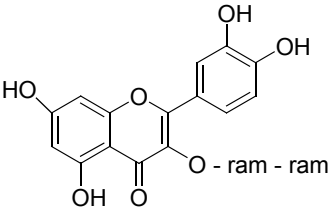
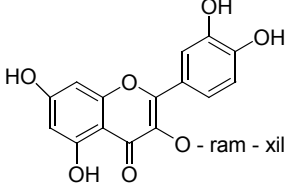
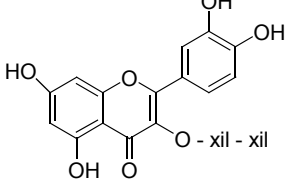
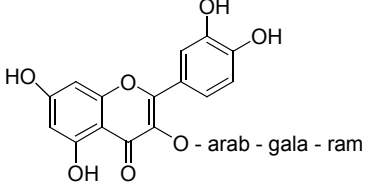
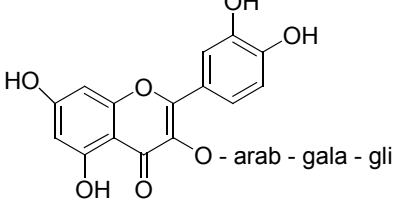
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Querceitna 3-O-digalactosídeo		129
Quercetina 3-O-galactosilglicosídeo		130
Quercetina 3-O-glicosilgalctosídeo		131
Quercetina 3-O-diglicosídeo		132
Quercetina 3-O-glicosilraminosídeo		133
Quercetina 3-O-glicosilxilosídeo		134

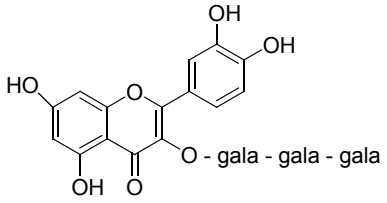
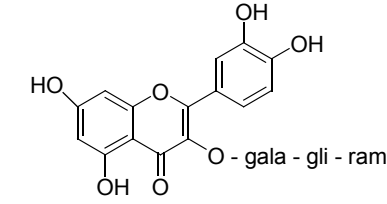
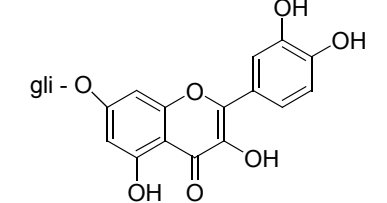
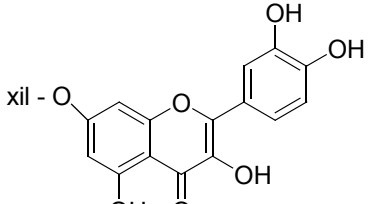
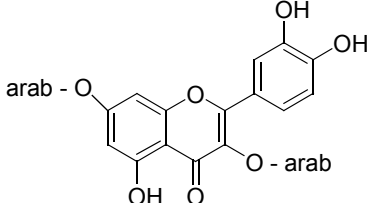
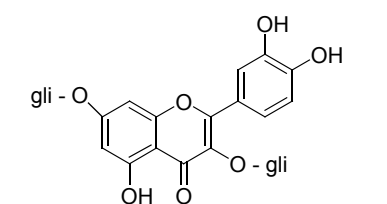
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Quercetina 3-O-raminosilglicosídeo		135
Quercetina 3-O-diraminosídeo		136
Quercetina 3-O-raminosilxilósídeo		137
Quercetina 3-O-xilosilxilósídeo		138
Quercetina 3-O-arabinosilgalactosilraminosídeo		139
Quercetina 3-O-arabinosilgactosilglicosídeo		140

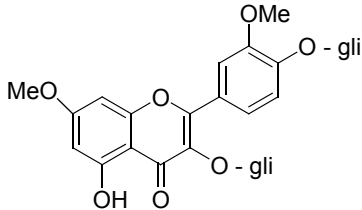
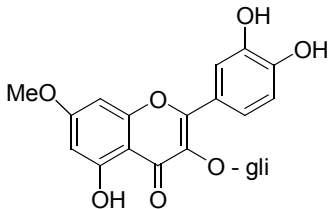
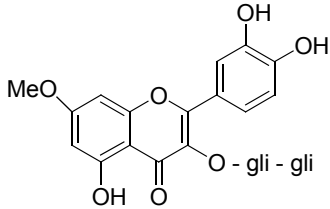
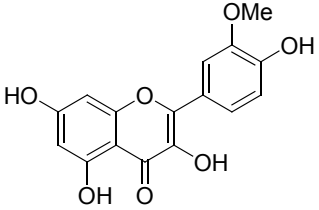
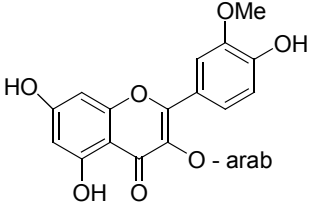
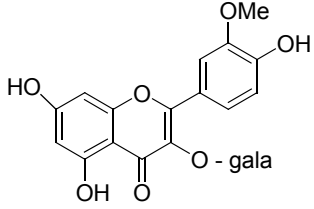
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Quercetina 3-O-trigalactosídeo	 <p>The structure shows a quercetin core with a galactose chain attached to the 3-position of the C-ring. The chain is labeled "O - gala - gala - gala".</p>	141
Quercetina 3-O-galactosilglicosilraminosídeo	 <p>The structure shows a quercetin core with a galactose chain attached to the 3-position of the C-ring. The chain is labeled "O - gala - gli - ram".</p>	142
Quercetina 7-O-glicosídeo	 <p>The structure shows a quercetin core with a glucose chain attached to the 7-position of the A-ring. The chain is labeled "gli - O".</p>	143
Quercetina 7-O-xilosídeo	 <p>The structure shows a quercetin core with a xylose chain attached to the 7-position of the A-ring. The chain is labeled "xil - O".</p>	144
Quercetina 3, 7di-O-arabinosídeo	 <p>The structure shows a quercetin core with arabinose chains attached to the 3-position of the C-ring and the 7-position of the A-ring. The chains are labeled "arab - O" and "O - arab".</p>	145
Quercetina 3,7di-O-glicosídeo	 <p>The structure shows a quercetin core with glucose chains attached to the 3-position of the C-ring and the 7-position of the A-ring. The chains are labeled "gli - O" and "O - gli".</p>	146

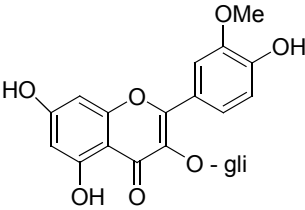
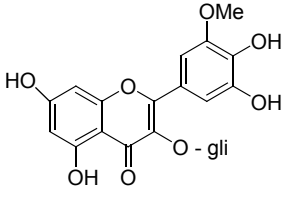
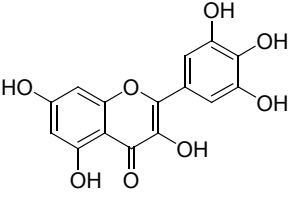
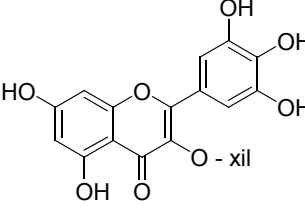
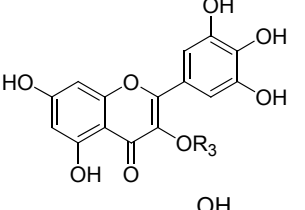
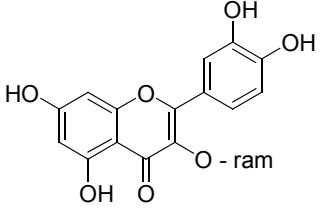
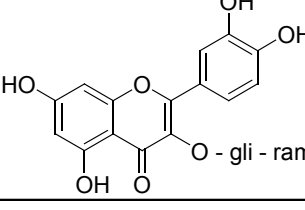
Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Quercetina 7, 3'-éter-dimetil 3, 4'-di-O-glicosídeo		147
Raminetina 3-O-glicosídeo		148
Raminetina 3-O-diglicosídeo		149
Isorramnetina		150
Isoramnetina 3-O-arabinosídeo		151
Isoramnetina 3-O-galactosídeo		152

Continua

Continuação da Tabela 6

SUBSTÂNCIA	ESTRUTURA	CÓDIGO
Isoraminetina 3-O-glicosídeo		153
Miricetina 3-O-glicosídeo		154
Miricetina		155
Miricetina 3-O-xilosídeo		156
Miricetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo (R ₃)		157
Quercetrina		158
Rutina		159

4.2 O Emprego da Técnica Hifenada na Identificação de Flavonóides da Fase Acetato das Partes Aéreas de *Tococa guianensis*

A utilização de acoplamento de um sistema para separação cromatográfica, em relação a detector espectroscópico ou espectrométrico, com o fim de obter informações estruturais de compostos secundários, que estejam em misturas, na verdade é uma técnica vantajosa em relação ao processo clássico de isolamento e posterior elucidação estrutural. O conceito de “técnicas hifenadas” está sendo utilizado para explicar técnicas acopladas (CROTTI et al., 2006a).

Os mais importantes avanços nas análises de misturas complexas, inicialmente foram desenvolvidas por acoplamento da cromatografia gasosa (CG), com detectores de espectrometria de massas (CG-EM), as quais atualmente são empregadas rotineiramente em diversas áreas de estudo, principalmente em análises de óleos essenciais para indústria cosmética. No entanto, esta técnica tem grande limitação, pois as substâncias devem ser termicamente estáveis, podendo ser volatilizadas de forma intacta (GOBBO-NETO, 2007).

Com relação à cromatografia líquida (CL), os iniciais sistemas hifenados ou de simples detecção foram o ultravioleta (UV), o infravermelho, o eletroquímico e a fluorescência. Mas estes não podem ser considerados como técnicas universais, embora facilitem as análises de sistemas complexos não-voláteis e com alto peso molecular. A presença do cromóforo é um fator limitante para evidenciar no UV, mas o desenvolvimento de detectores de arranjo de diodos (DAD – “diode array detector” ou PDA – “photo-diode array”) permitiu o avanço de estudos de misturas mais complexas por CL hifenada, isto com base: 1) vantagem da obtenção do espectro de

UV para cada composto separado pelo sistema CL e já fornece informação estrutural, porém limitada; 2) o relativo baixo custo frente a outras técnicas hífenadas. Todavia, é essencial a obtenção de mais informações, em nível estrutural, para cada constituinte da mistura, que pode ser bastante complexa. No momento, o desenvolvimento de técnicas hífenadas modernas, que estão disponíveis, por exemplo, acoplamento de CL com espectrometria de massa (CL-EM) e ressonância magnética nuclear (CL-RMN) (CROTTI et al., 2006a; GOBBO-NETO, 2007).

Atualmente, uma das áreas mais atuantes das técnicas hífenadas é de produtos naturais, conhecida como derreplicação de misturas complexas, ou seja, a caracterização rápida dos constituintes, frente a uma mistura de compostos (CORDELL; SHIN, 1999; HOSTTEMANN et al., 2001; GOBBO-NETO, 2007).

Nas últimas duas décadas, as técnicas hífenadas têm sido as mais relevantes estratégias para a identificação e/ou confirmação de uma substância química desconhecida. O “screening” químico sendo realizado por CLAE-EM, CLAE-DAD-EM e CLAE-EM-RMN, permite executar, de forma breve e consistente, a informação estrutural, racionalizando as etapas do estudo fitoquímico (WILSON; BRINKMAN, 2003). Desta forma, pode-se compreender as possibilidades criadas para se determinar o perfil metabólico dos componentes de extratos de produtos naturais, que prevê um método rápido e confiável para a distinção de compostos, ora já identificados, e de novas moléculas, diminuindo a execução de etapas, tais como: isolamento, purificação de compostos já conhecidos, e direcionar ao isolamento de constituintes, apresentando características espectroscópicas novas de interesse biológico (CORDEL; SHIN, 1999; HOSTTMANN et al., 2001; NIELSEN; SMEDSGAARD, 2003; GOBBO-NETO, 2007).

A técnica mais associada com o processo de derreplicação, hoje, consiste em: sistema CLAE-EM ou CLAE-DAD-EM, apesar de várias pesquisas empregarem CLAE-RMN e, até mesmo, CLAE-EM-RMN (HOSTTMANN et al., 2001; WARIDEL et al., 2004). No processo de derreplicação de produtos naturais por CLAE-DAD-EM, os espectros de UV e dados de EM, como massas moleculares (acuradas, no caso de analisadores que permitam alta resolução) e espectros de íons produto (com relação aos espectrômetros que permitam fragmentação em célula de colisão e a realização de EM/EM), são, geralmente, utilizados em conjunto com informação quimiosistemática de uma espécie estudada e banco de dados de compostos naturais, como NAPRALERT ou SciFinder (CORDEL; SHIN, 1999; HOSTTMANN et al., 2001; NIELSEN; SMEDSGAARD, 2003; GOBBO-NETO, 2007). Em ESI, a ionização ocorre, principalmente, por reações de ácido-base de Brønsted-Lowry, ou seja, pela protonação ou desprotonação de moléculas (CECH; ENKE, 2001; CROTTI et al., 2006b; GOBBO-NETO, 2007).

Com referência ao desenvolvimento de EM/EM, um íon do estágio inicial (chamado de precursores), é selecionado e transferido para uma célula de colisão. A fragmentação do íon precursor se dá através de dissociação induzida por colisão (CID – “collision-induced dissociation”), com a aplicação de um gás inerte (geralmente: Ar, N₂ ou CO₂). Os íons resultantes (íon produto de segunda geração) são, em geral, altamente indicativos da estrutura do íon precursor. A identificação de compostos desconhecidos, combinando dados de massas moleculares exatas com os espectros de íons produtos obtidos, torna-se, então, possível. Isto se aplica especialmente para série homóloga de compostos, cuja estrutura-fragmentação é previamente conhecida (NIESSEN, 200; CROTTI et al., 2005; CROTTI et al., 2006b).

Desta forma, certos aspectos dos analisadores de massas, tendo a capacidade de desenvolver experimentos de EMⁿ (múltiplos estágios de isolamento do íon precursor e fragmentação por CID), e a capacidade de fornecer espectros, em alta resolução e medição de massas acuradas, são críticos para estudos com CLAE-EM e CLAE-EM/EM.

4.3 Material e Métodos

4.3.1 Extração e partição dos constituintes químicos de *T. guianensis*

O material botânico foi desidratado, em estufa, à temperatura média de 40 °C, durante 96 h, sendo em seguida, triturado, obtendo-se o pó (2.700 g). Este foi macerado, em etanol, a 95 %, por 72 h, sendo tal processo repetido exaustivamente. Concentrou-se a solução etanólica em rotaevaporador, a 45°C, produzindo um rendimento de 306 g, que foram tratados com a solução de Metanol : Água (7 : 3), obtendo-se uma solução hidrometanólica, que foi submetida à agitação mecânica (Figura 18).

Em seguida, particionada com Hexano (C₆H₁₄), e separada com funil de separação, filtrada e concentrada a fase hexânica, com o rendimento de 55 g. A solução hidrometanólica I passou a ser tratada com Clorofórmio (CHCl₃), procedeu-se a separação com o funil de separação, depois a filtração e concentração desta, tendo um rendimento de 54 g. Adicionou-se a solução hidrometanólica II Acetato de Etila (AcOEt), a qual foi separada com funil de separação, obtendo-se a solução de acetato. Esta, filtrada e concentrada, atingindo um rendimento de 66 g. A solução hidrometanólica III foi descartada (Figura 18).

4.3.2 Cromatografia

Quanto ao processo cromatográfico em coluna, utilizou-se como fase estacionária sílica gel 60 (Merck) 7734 (partículas como 0,063-0,2 mm; 70-230

mesh), e Sephadex LH-20 (Merck), tendo como suporte colunas de vidro cilíndricas, com dimensões variando conforme a quantidade da amostra a ser cromatografada.

O monitoramento das frações, foi realizado em cromatografia de camada delgada comparativa (CCDC); sendo utilizadas placas de vidro com dimensões de 5 x 20, 10 x 20, 20 x 20 cm, preparadas em suspensão de sílica gel PF₂₅₄ 7749 (Merck), em água, seguindo a descrição de Mattos (1997). As substâncias foram evidenciadas em processo de radiação ultravioleta, sob o comprimento de onda de 254 a 366 nm.

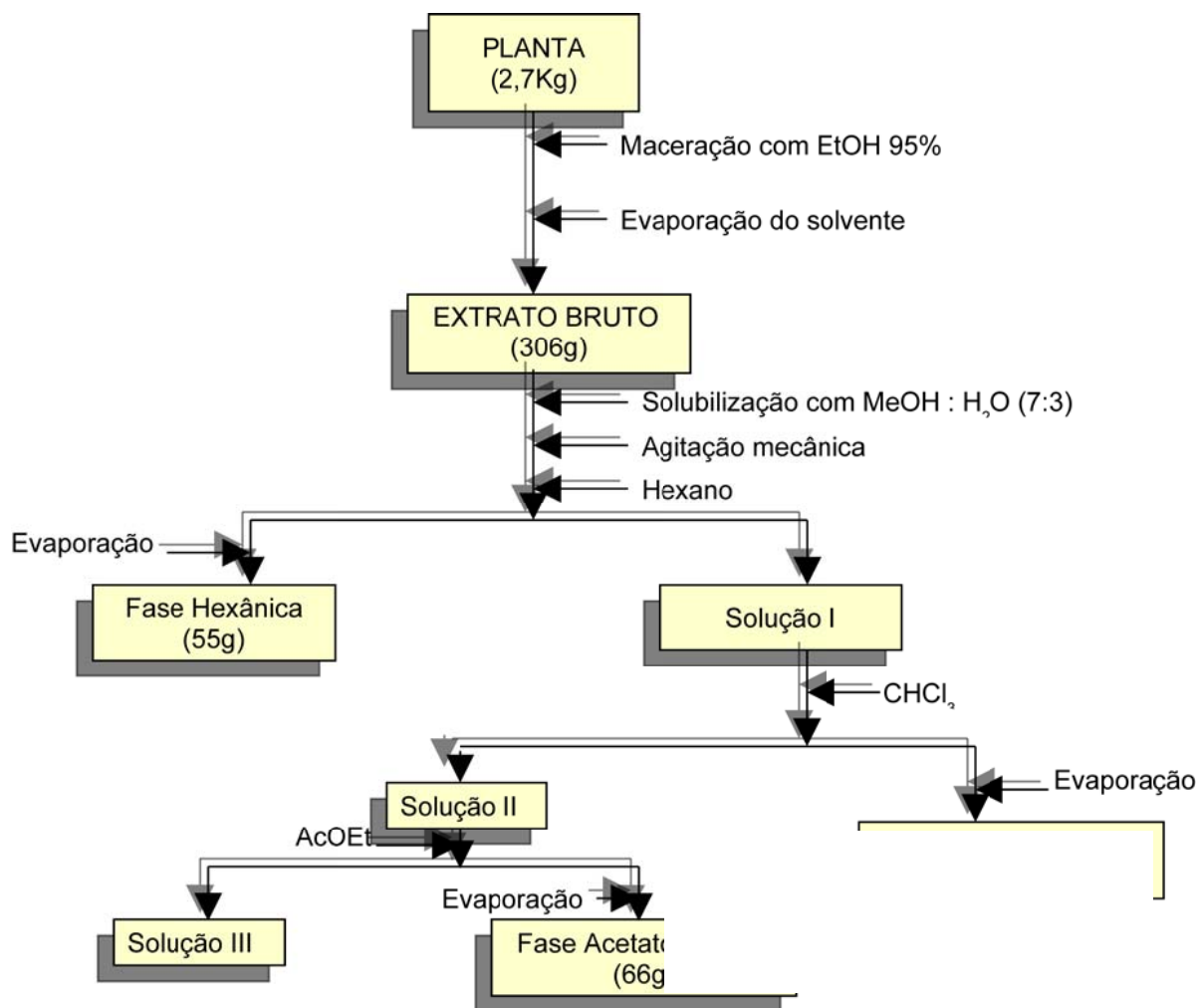


Figura 16 – Particionamento do extrato das partes aéreas de *Tococa guianensis* Aublet

4.3.3 Solventes empregados

Para a preparação da amostra, e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizaram-se solventes grau CLAE (marca J. T. Baker) todos filtrados degaseificados com auxílio de vácuo e banho ultra-som; no caso do solvente A: H₂O deionizada (18 mΩ; Milli-Q, Millipore); HAc (ácido acético), solvente B: acetonitrila (ACN).

4.3.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A análise da ocorrência de substâncias foi realizada em um sistema CLAE, acoplado a um detector na região de UV, com arranjo de diodos (sistema CLAE-DAD). Foi empregado um cromatógrafo líquido Shimadzu modelo LC-6AD, equipado com um detector UV-DAD modelo SPD-M10Avp e injetor automático modelo SIL-10AF, controlados pelo software CLASS-VP 6.14.

A identificação e/ou confirmação dos picos cromatográficos foram realizadas em um sistema CLAE acoplado a um detector de UV-DAD e a um espectrômetro de massas (sistemas CLAE-DAD-EM e CLAE-DAD-EM/EM). Desta forma, utilizou-se um cromatógrafo líquido Shimadzu LC-20^a, acoplado a um detector UV-DAD (CBM20A, Shimadzu) e a um espectrômetro de massas UltrOTOF (Bruker Daltonics) com ionização por “electrospray” (ESI) e analisador do tipo QqTOF (analisadores tipo quadrupolo e tempo de voo em seqüência). Para ambos sistemas, foram utilizadas duas colunas monolíticas (Phenomenex), acopladas.

4.3.5 Análise por CLAE-DAD

Alíquotas de 20 μL da amostra foram injetadas, via auto-injetor. Na coluna cromatográfica utilizou-se fluxo de 3 mL/min e como fase móvel: solvente **A**: H_2O com 1% HAc, solvente **B**: ACN com 1 % HAc, com gradiente linear de 5 a 40 % de **B** em 30min, 40 a 100 % de **B** até 35 min. Os cromatogramas foram registrados em dois comprimentos de onda: 270 e 325 nm a temperatura ambiente.

4.3.6 Análise por CLAE-DAD-EM e CLAE DAD-EM/EM

As análises foram efetuadas por CLAE-DAD-EM (CLAE acoplada a DAD e a espectrometria de massas com detectores, em paralelo) e, CLAE-DAD-EM/EM (CLAE acoplada a DAD, e a espectrometria de massas operando no modo EM/EM, de tal forma, gerando espectros de íons produto, a partir da fragmentação de íons precursores selecionados induzidos em célula de colisão), foram desenvolvidas empregando as mesmas condições cromatográficas para CLAE-DAD. A amostra analisada, foi preparada do mesmo modo.

O eluente da coluna foi dividido por “splitter” na proporção de 3:1, tendo o fluxo maior direcionado ao DAD e os demais ao espectrômetro de massas. Os cromatogramas na região de UV gerados pelo DAD foram registrados em 270 e 325 nm. No caso, destes gerados pelo EM, registraram-se na região entre m/z 50 e m/z

1000, e os parâmetros do espectrômetro de massas listados a seguir foram mantidos os mesmos em todas as análises: 1000 “scans” por segundo; intervalo entre espectros: 2 segundos; fluxo do gás de secagem: 5,0 L/min; temperatura do gás de secagem: 180 °C; pressão do gás de nebulização: 4bar. Quanto a obtenção de massas moleculares acuradas em alta resolução, ao final das análises cromatográficas foi injetada uma solução a 20 mM de NaOH. Os espectros de massas obtidos foram calibrados pelas massas moleculares exatas calculadas dos íons *clusters* do acetato de sódio formado entre o sódio e o ácido acético da fase móvel.

Após as análises do CLAE-DAD-EM, os tempos de retenção e m/z obtidos para cada pico dos cromatogramas gerados passaram a ser utilizados com o fim de determinar os parâmetros para posterior análise por CLAE-DAD-EM/EM. Ou seja, para a obtenção de espectros de íons produto (EM/EM), a partir dos íons precursores desejados, foi informado ao software do espectrômetro de massas o m/z de cada íon precursor, que deveria ser fragmentado na célula de colisão e seu respectivo tempo de retenção. A dissociação induzida por colisão (fragmentação) foi realizada utilizando-se N₂, como gás de colisão, e a energia desta variou entre 8 e 25 eV.

4.3.7 Identificação dos picos cromatográficos

Os picos cromatográficos, foram identificados com base em seus espectros no UV, massa acurada obtida para os íons precursores (molécula protonada $[M + H]^+$ e/ou molécula desprotonada $[M - H]^-$ em alta resolução, espectros de íons produto gerados por dissociação induzida por colisão em modo EM/EM e tempos de retenção no sistema utilizado. Estes dados foram gerados a partir de análises CLAE-DAD-EM e CLAE-DAD-EM/EM, tanto no modo de ionização positiva quanto negativa, para amostra de *T. guianensis*.

Deste modo, alguns picos foram identificados simplesmente por comparação de tempos de retenção e espectros de UV com os de padrões, e posterior confirmação pelas massas moleculares acuradas obtidas. Outros só puderam ter sua identidade definida após análise e comparação dos padrões de fragmentação observados nos espectros de íons produto com aqueles já relatados na literatura ou obtidos por picos idênticos para os picos já identificados. E, no caso, exclusivamente para flavonóides, os descritos por Becchi; Fraisse (1989), Stevens et al. (1999), Cuyckens et al. (2000), Fabre et al. (2001), Caristi et al (2003), Zhang; Brodbelt (2003), Cuyckens; Claeys (2004).

A identificação e/ou confirmação de classes de metabólitos secundários, por intermédio dos espectros obtidos na região do UV, foi realizada principalmente por comparação com espectros de padrões. Com relação aos flavonóides, os espectros podem revelar o tipo de flavonóide, por exemplo: flavona, flavonol, e às vezes até dar indícios sobre o padrão de substituição, também foram utilizados os dados e discussões publicados por Markham; Mabry (1975), Markham (1982), Gattuso et al. (2006).

4.4 Resultados e Discussão

O processo de identificação dos picos cromatográficos, foi gerado a partir de análises por CLAE-DAD, CLAE-DAD-EM e CLAE-DAD-EM/EM, realizado no modo de ionização positiva e negativa referente à fase acetato de etila da parte aérea de *T. guianensis*.

O cromatograma registrado a 270 nm, permitiu a visualização dos picos pelo método CLAE-DAD, que estão presentes na Figura 18. Os dados em alta resolução, referentes ao tempo de retenção e UV, MS/MS obtidos por CLAE-DAD-MS e MS/MS estão analisados na Tabela 7.

O espectro típico de UV-visível de flavonóides inclui a banda “A” de absorbância situada na região do UV em 310-350 nm (flavonas), enquanto, para flavonóis ficaria entre 350 e 385 nm. Uma segunda banda (“B”) é encontrada a 250-290 nm. Essa faixa é mencionada para todos os grupos de flavonóides (TSIMOGIANNIS et al., 2007), sendo um dos elementos que reforçou a identificação de flavonóides na fase acetato da espécie em questão.

Os flavonóides, em sua maioria, foram identificados principalmente por comparação com padrões referentes aos tempos de retenção e espectros de UV. Embora alguns, não foram possíveis ser identificados por falta de padrões não disponíveis; sendo então identificados por espectrometria de massas, especialmente por comparações de espectros de íons produto com os obtidos para os flavonóides já identificados e pelas fórmulas moleculares calculadas para as massas moleculares acuradas obtidas.

Com relação à fragmentação mais importante, para flavonóides, são aquelas que requerem clivagem das duas ligações entre C-C do anel-C, resultando no informativo de subsídios estruturais de íons $^{i,j}A^+$ e $^{i,j}B^+$. Estes íons podem ser

racionalizados pela reação de Retro-Diels-Alder (RDA) (Figura 19), e os fragmentos são verdadeiros diagnósticos de flavonóides aglicona, podendo ser delineados conforme a nomenclatura proposta por Ma et al. (1997).

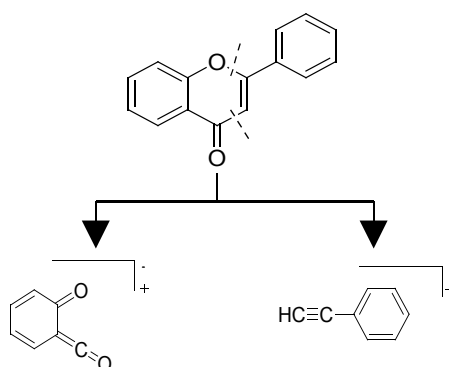


Figura 17 – Tipo de fragmentação ocorrente em flavonóides por Retro Diels-Alder.

Com relação às agliconas, a ionização por intermédio do modo negativo conduz a várias fragmentações mais intensas e difíceis de serem racionalizadas, sendo portanto menos usual para a determinação estrutural (CUTCKENS; CLAYES, 2004). Já o modo de ionização positiva é relativamente mais bem estudado e usualmente utilizado para elucidação estrutural por produzir menos fragmentos. Neste modo de ionização, na maior parte dos flavonóides, os principais fragmentos produzidos são relativos às perdas de ésteres, perdas radiculares de metilas a partir de metiléteres do anel A e, a quebra da ligação do anel C, a qual resulta em íons produtos informativos, sobre a natureza dos anéis A e/ou B (STEVENS et al., 1999; CUTCKENS et al., 2000; CUYCKENS; CLAEYS, 2004).

Já no caso das C-glicosilflavonas, o modo de ionização negativa é, sem dúvida, mais informativo para elucidação estrutural e resulta em uma fragmentação

já bem definida na literatura, a qual gera informações a respeito tanto do tipo de açúcar quanto da natureza da aglicona. Ao contrário, no modo de ionização positiva, devido a uma grande fragmentação dos açúcares, pouca informação pode ser obtida (BECCHI; FRAISSE, 1989; CUYCKENS; CLAEYS, 2004).

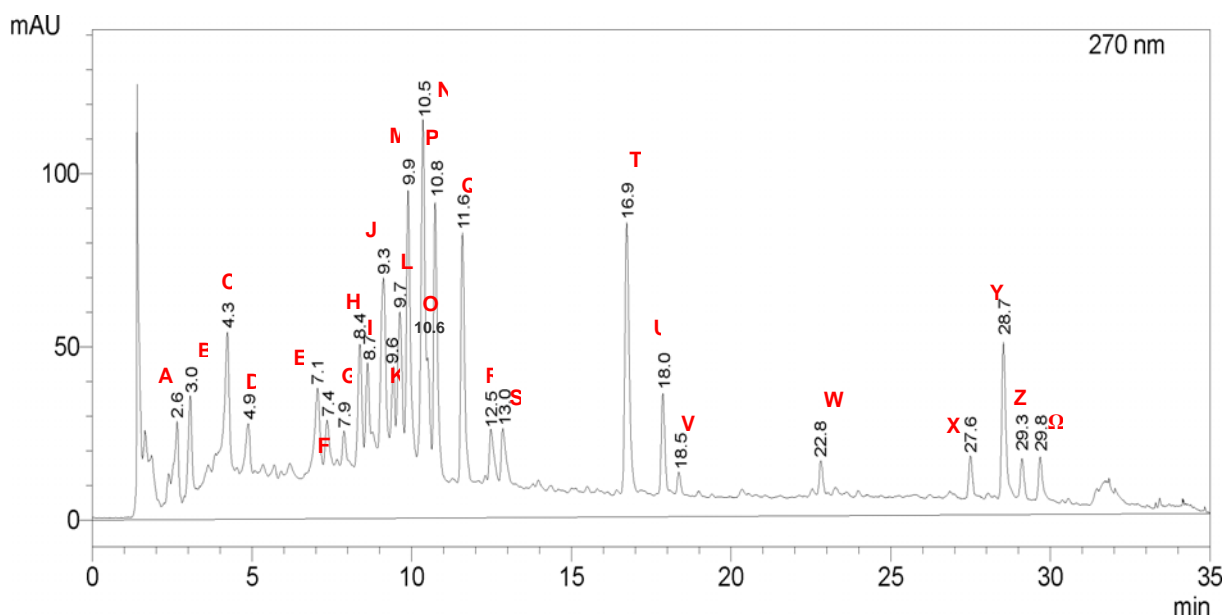


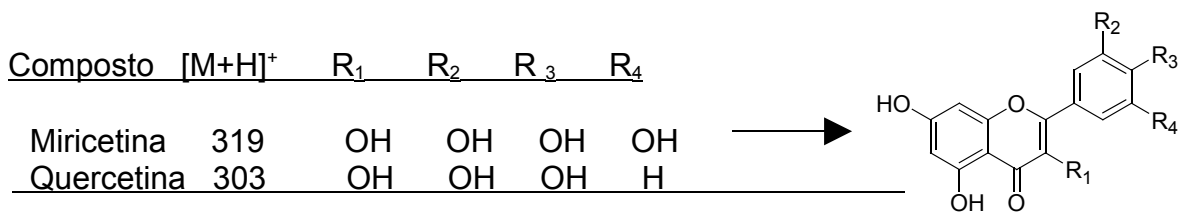
Figura 18 – Cromatograma por CLAE-DAD e UV da fase acetato de *Tococa guianensis* Aublet, registrado a 270nm. (Lê-se: A = Pico 1; B = Pico 2; C = Pico 3; D = Pico 4; E = Pico 5; F = Pico 6; G = Pico 7; H = Pico 8; I = Pico 9; J = Pico 10; K = Pico 11; L = Pico 12; M = Pico 13; N = Pico 14; O = Pico 15; P = Pico 16; Q = Pico 17; R = Pico 18; S = Pico 19; T = Pico 20; U = Pico 21; V = Pico 22; W = Pico 23; X = Pico 24; Y = Pico 25; Z = Pico 26; Ω = Pico 27)

4.4.1 Flavonoides Agliconas

A comparação de seus tempos de retenção e, espectros de UV (Figuras 20 e 21) com padrões permitiram a atribuição destes picos às substâncias Myricetina (**pico 19**); no modo positivo todos os fragmentos com 16a.m.u. a mais que a quercetina, até o 217, indica o mesmo esqueleto, com um OH a mais; as

fragmentações 165 e, 153 são relativas $^{0,2}A^+$ e $^{1,3}A^+$ são iguais à quercetina, indicando anéis A e C iguais; tendo a diferença na hidroxila (OH) do anel B (TSIMOGIANNIS et al., 2007). Porém, no modo negativo a fragmentação é idêntica à da quercetina: 179 e 151 referem a $^{1,2}A^-$ e $^{1,2}A^-$ para a perda de CO, ou seja, não produz fragmentos do anel B com carga, isto é: abaixo de 1 % segundo Fabre et al. (2001), podendo confirmar que o anel B e C são iguais da quercetina. Com base nas análises anteriores pode concluir, que o **pico 20** refere à Quercetina (Figuras 19, 20 e 21). Estes mostraram absorvância nas faixas de 270-290 nm, que vem a corresponder os indicativos da literatura.

A



B

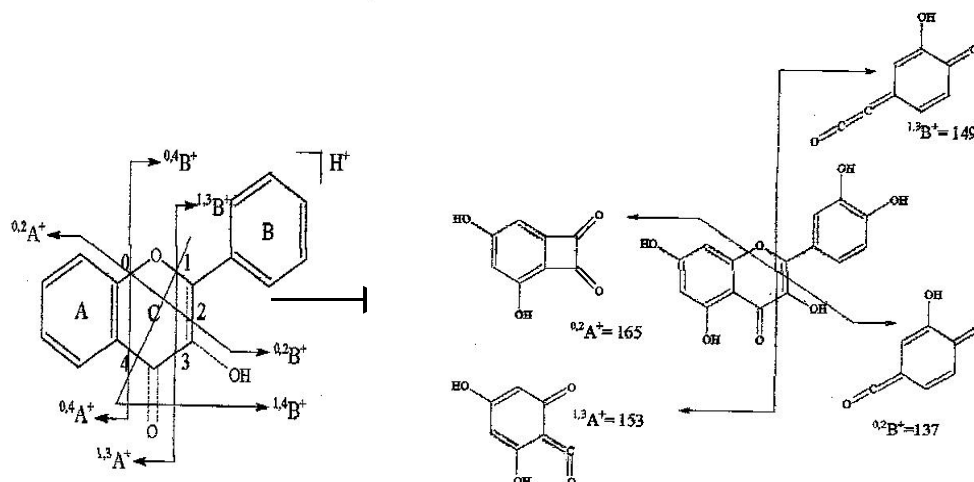
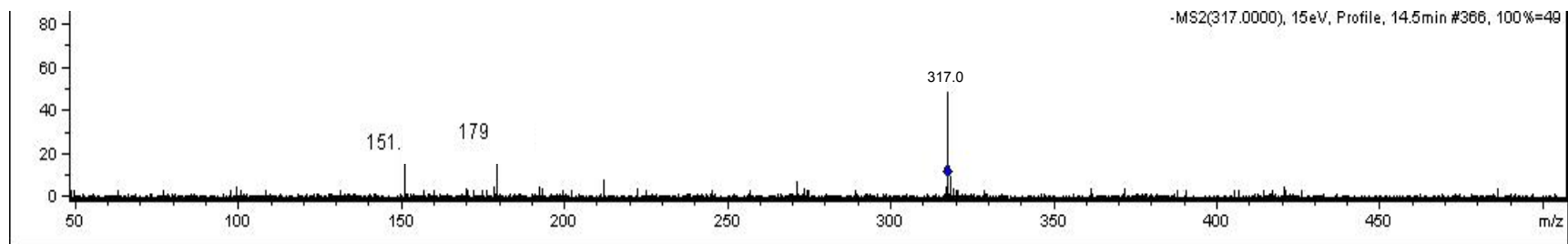
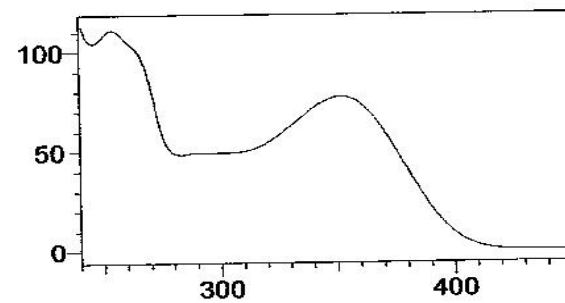
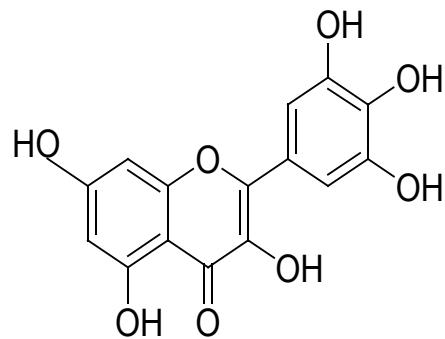


Figura 19 – Dados do íon molecular de Miricetina e Quercetina, com seus radicais (A), Processo de fragmentação do flavonol aglicona, por retrociclização da clivagem do anel-C (B).

mAU



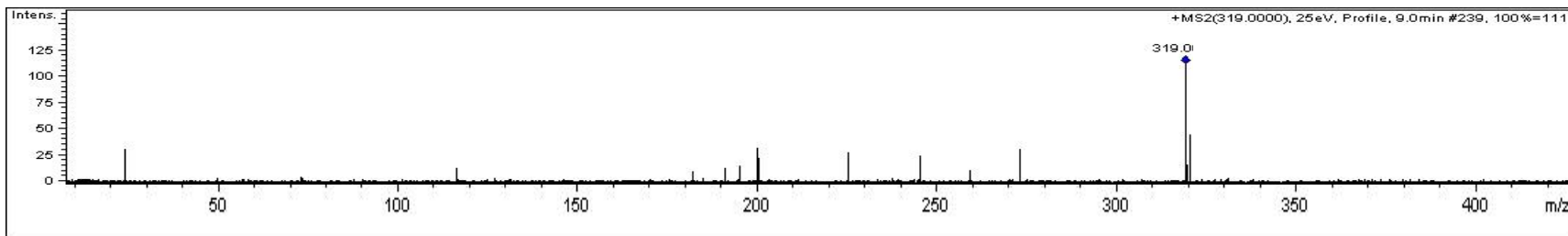
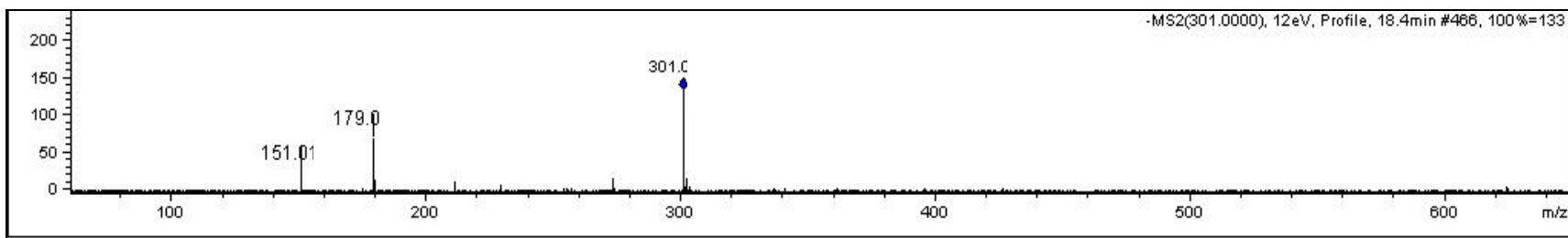
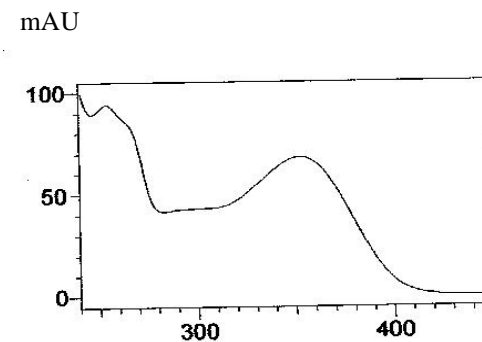
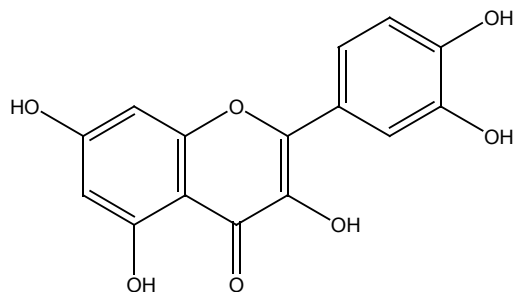


Figura 20 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 19 por CLAE-DAD-EM/EM.



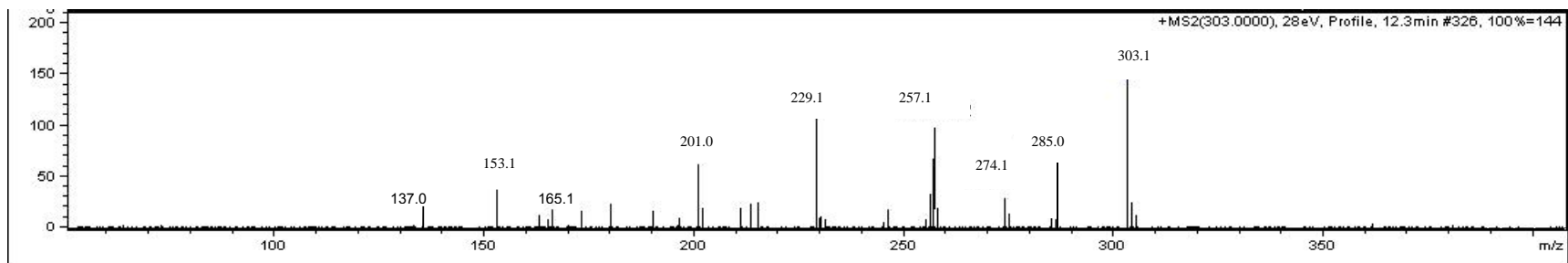


Figura 21 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 20 por CLAE-DAD-EM/EM.

4.4.2 Flavonóides Glicosilados

Os flavonóides glicosilados, pertencentes aos grupos dos flavonóis, geralmente têm a glicosilação do tipo O-glicosídeo, enquanto as flavonas podem apresentar O- ou C-glicosídeo (CUYCKENS et al., 2000). Na presente pesquisa, identificou-se, em sua maioria, flavonóis com O-glicosilação com se segue abaixo.

No caso do **pico 6** com o tempo de retenção 7,4 min, este pico gerou espectro de UV (Figura 18) bandas de absorção máxima em torno de 270 nm e 350 nm, e ombro de 295 nm característico de flavonol (MARKHAM, 1982). Foi detectado pelo espectrômetro de massa somente o modo de ionização negativa, onde a fragmentação m/z 479 relaciona à Miricetina-3-O-hexose-H (479,0831), e neste têm-se a perda da porção galoil. A outra fragmentação m/z 316 é designada para Miricetina (316,0225). Com base na massa acurada obtida para este tipo de pico (Tabela 7) indica fórmula molecular $C_{28}H_{20}O_{18}$, íon produto de $[M-H]^-$ 631,0941. Os dados do massa, aliado aos demais espectros, são coerentes de que se trata de Miricetina-3-(-O-galoil)-hexose.

Ao analisar os **picos 8 e 9** e estes têm tempo de retenção de 8,4 min e 8,7 min respectivamente, sendo estes picos muito próximos, também apresentaram UV (Figuras 22 e 23) quase idênticos com absorção máxima em 267 nm e 353 nm para o **pico 8**, 267 nm e 352 nm para o **pico 9**, ambos com ombro de 290 nm. Quanto aos espectros de massas, foram similares para as duas substâncias, destacando que nas mesmas o modo de ionização negativa a fragmentação 316 está relacionada a porção aglicona (Miricetina, com massa igual a 316,0225); no modo positivo a fragmentação de 319 é de Miricetina (319,0448); produzindo espectros idênticos ao da Miricetina. Quanto às massas acuradas obtidas (Tabela 7), com $[M-$

H] 479,0831 e [H+H] 481,0977, considerando Miricetina 3-O-hexose, ocorrendo apenas à mudança no açúcar para estas estruturas.

Em se tratando dos **picos 10 e 11** com tempo de retenção 9,3 min e 9,6 min respectivamente (Figura 18), o primeiro é mais intenso que o segundo, são bastante próximos, o que confirma os mesmos registros nos espectros de UV (Figura 24) com absorção máxima em 272 nm e 352 nm para o **pico 10**, 272 nm e 352 nm para o **pico 11**, ambas as substâncias com ombro de 290nm. Quanto aos espectros de massas, são similares para as mesmas, destacando que nelas o modo de ionização positiva que teve o registro do íon produto m/z 153 está relacionado ao ácido gálico (153,0182), e o íon produto 303 é referente à aglicona (Quercetina com massa igual a 303,0499); já m/z 315 está relacionada à porção galoilhexose-H₂O, enquanto a fragmentação m/z 297 a galoilhexose-H₂O. No entanto, no modo negativo, o íon produto 463 está relacionado à perda do ácido gálico, m/z 300 e m/z 301 são referentes à aglicona. Fazendo relação das massas acuradas obtidas (Tabela 7) e das fragmentações geradas nos espectros de íons produto (Figura 24) que estão de acordo com Ma et al. (1999); definindo os **picos 10 e 11** como Quercetina-3-(-O-galoil)-hexose, ocorrendo diferença no tipo de hexose.

Por sua vez, o **pico 12** com tempo de retenção de 9,7 min (Figura 18) apresentou um espectro de UV (Figura 25) quase idêntico ao **pico 9**; as massas em ambos modo de ionização (Tabela 7), sugerem para o modo negativo m/z 316 relacionado a aglicona, neste caso Miricetina (316,0225) e no modo positivo m/z 319 também para Miricetina (319,0448), pois produz espectro idêntico ao de Miricetina; que neste caso, evidenciou íons produto do modo negativo e positivo de [M-H]⁻ 449,0725 e [M+H]⁺ 451,0871 respectivamente, sendo indicativo de Miricetina-3-O-

desoxipentose com açúcar do tipo arabinose ou xilose (Figura 25), tendo a diferença de 30,0106 unidades de massa atômica em relação ao **pico 9**.

Em se tratando sobre os **picos 13 e 14**, com tempo de retenção de 9,9 min e 10,5 min respectivamente (Figura 18); estes produziram espectros de UV característicos de flavonas (MARKHAM, 1982) e, com registros bem semelhantes um do outro, tendo absorção máxima em 254 nm e 336 nm, com ombro de 295 nm. Com relação aos espectros de massas, apresentaram o pico base m/z 415 no modo positivo e com a fragmentação m/z 283 menos intensa para o **pico 13**, isto é um indicativo de que se trata da substância 8-C-glicosil-apigenina (Vitexina), segundo Waridel et al. (2001), (Figura 26); já para o **pico 14**, teve no seu espectro o registro o pico base m/z 283 e m/z 415 sendo menos abundante, ainda m/z 337 confirmam ser 6-C-glicosil-apigenina (Isovitexina), ver Figura 27; pois os espectros de íons produto obtidos e as massas acuradas (Tabela 7) encontradas para estes picos estão de acordo com o esperado para os tipos de flavonas, bem como confirmam o processo de C-glicosilação, que fora abordado por Becchi e Fraisse (1989); Cucyckens e Clayes (2004); Gobbo-Neto (2007).

O **pico 15**, com tempo de retenção 10,6 min (Figura 18), originou um espectro de UV característico de flavonol (MARKHAM, 1982), com bandas de absorção máxima em 254 nm e 356 nm, e dois ombros em 265 nm e 291 nm (Figura 28). A comparação deste espectro e do tempo de retenção com os obtidos para o padrão como comprovação permitiu a atribuição deste pico à substância Hiperina (Quercetina-3-O- β -galactopiranosídeo). As massas acuradas geradas (Tabela 7) para $[M-H]^-$ 463,0882 e $[M+H]^+$ 465,1028, e os picos base m/z 303,0481 (modo positivo), e m/z 463,0865 (modo negativo), tendo ainda, o íon produto m/z 927 como

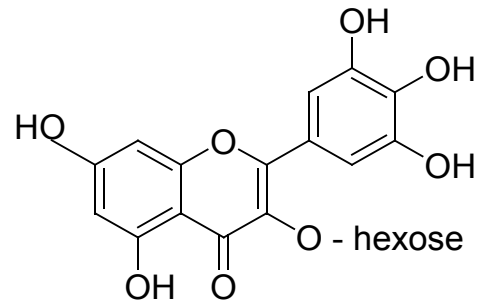
representativo de dímero; estas informações estão de acordo com a descrição de Ma et al. (1999), ver Figura 28.

Quanto ao **pico 16**, com o tempo de retenção de 10,8 min (Figura 18), produziu espectro de UV com bandas de absorção em 254 nm e 357 nm, e dois ombros em 265 nm e 290 nm. As massas acuradas dos dois espectros do modo de ionização (Tabela 7) evidenciaram $[M-H]^-$ 463,0882 e $[M+H]^+$ 465,1028, apresentando ainda, pico base de m/z 303,0479 (modo positivo) e 463,0878 (modo negativo), além do íon produto de m/z 927 indicativo de dímero. Todos os dados foram comparados o padrão, que confirmou ser Isoquercetrina (quercetina-3-O- β -glicopiranosídeo), ver Figura 29.

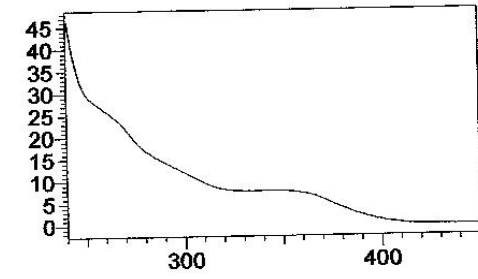
Relacionando o **pico 17**, com registro de 11,6 min (Figura 18), tem os registros em UV típico de flavonóides (MARKHAM, 1982), com bandas de absorção máxima em 256 nm. Por sua vez, os espectros de massas em ambos os modos de ionização que sugerem m/z 303,0485 (modo positivo), e m/z 301 (modo negativo) para a porção quercetina e as massas acuradas $[M-H]^-$ 433,0776 e $[M-H]^+$ 435,0922 (Tabela 7), que são característicos de Quercetina-3-O-desoxipentose (tipo arabinose ou xilose) (Figura 30).

Fazendo relação ao **pico 18**, com tempo de retenção de 12,5 min e sendo este não tão intenso (Figura 18), produziu espectro de UV conforme o esperado para diidroflavonol/flavona (MARKHAM, 1982), com bandas máximas de absorção em 255 nm e 360 nm, apresentando os dois ombros com 268 nm e 295 nm (Figura 31). Os espectros de massas gerados nos dois modos de ionização apresentaram pico base m/z 303,0480 para o modo positivo e o fragmento m/z 301 informativo de aglicona do tipo quercetina, se fosse canferol seria m/z 285,0405. Outro fato é que, as massas acuradas $[M-H]^-$ 447,0933 e $[M+H]^+$ 449,1079 (Tabela 7) demonstram que

esta substância é quercetina-3-O-ramnose, e também foi confirmada pelo padrão que produziu os mesmos resultados.



mAU



316.0

479.1

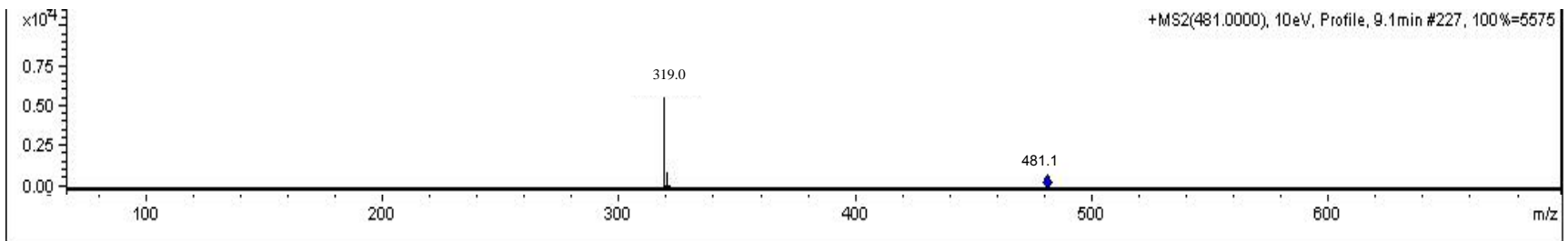
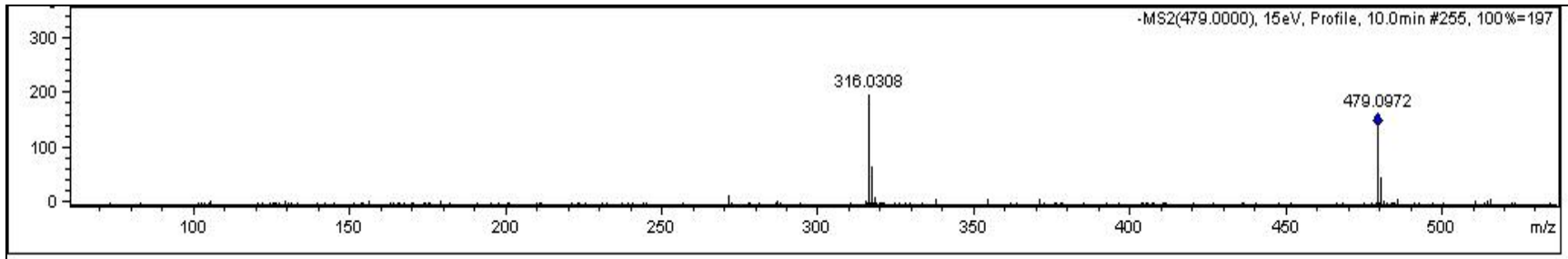


Figura 22 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 8 por CLAE-DAD-EM/EM.

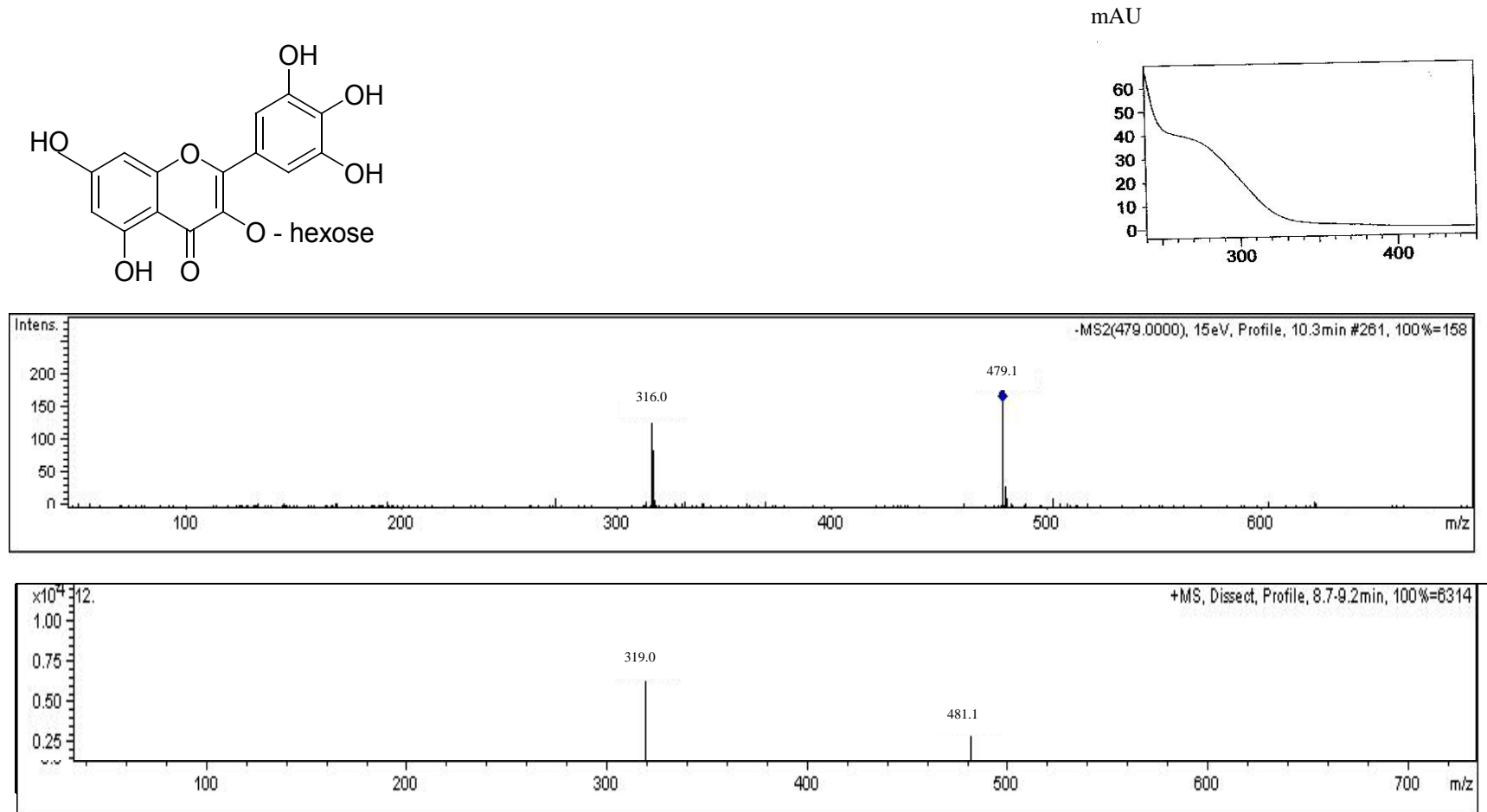
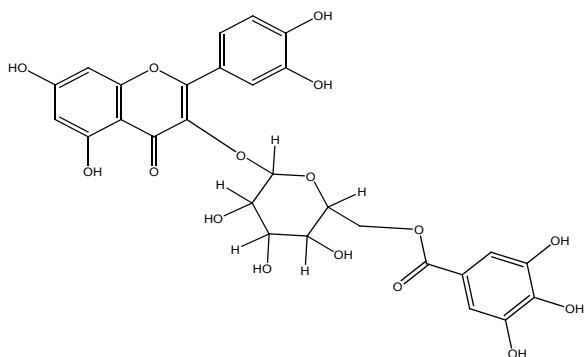
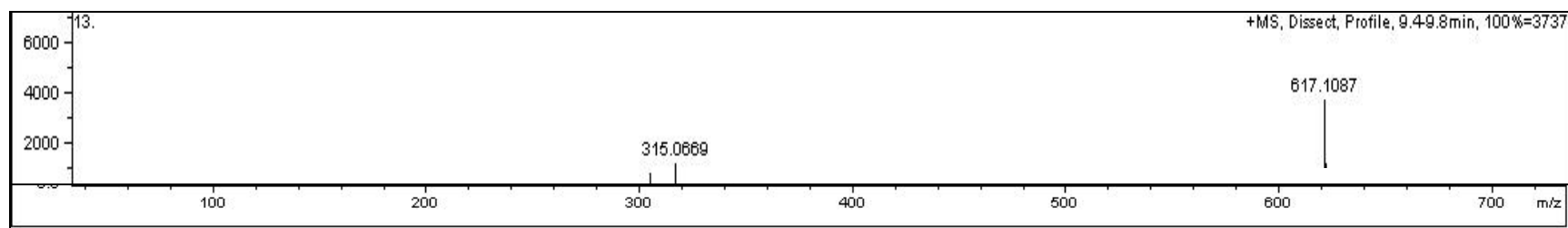
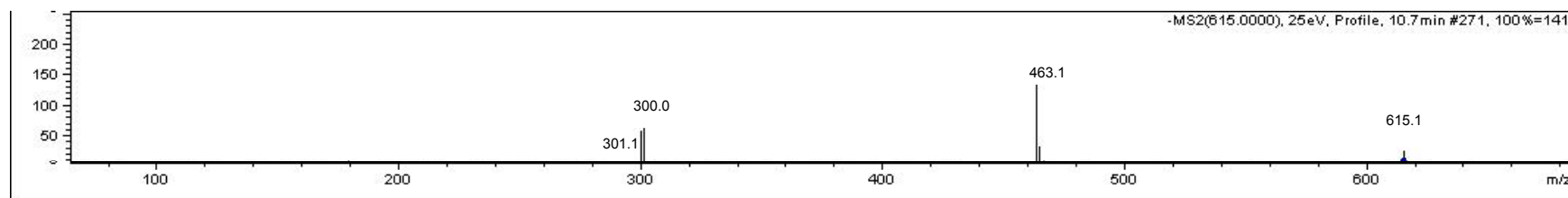
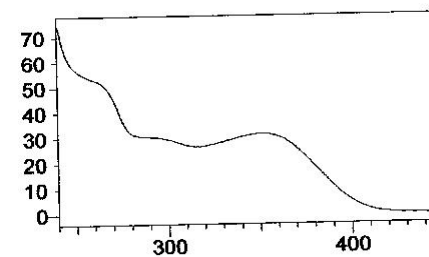


Figura 23 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 9 por CLAE-DAD-EM/EM.



mAU



303.0 315.1

Figura 24 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para os picos 10 e 11 por CLAE-DAD-EM/EM.

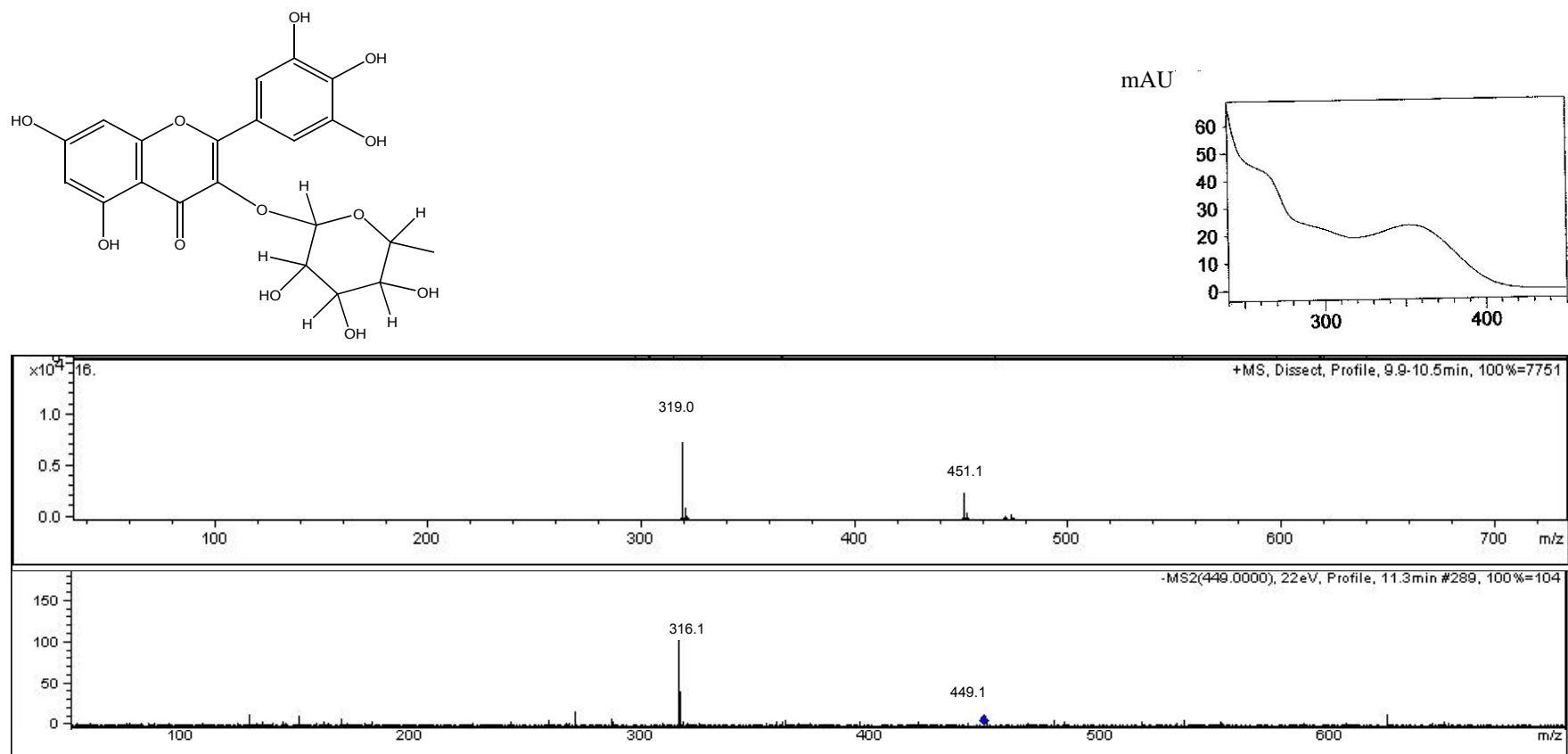


Figura 25 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 12 por CLAE-DAD-EM/EM.

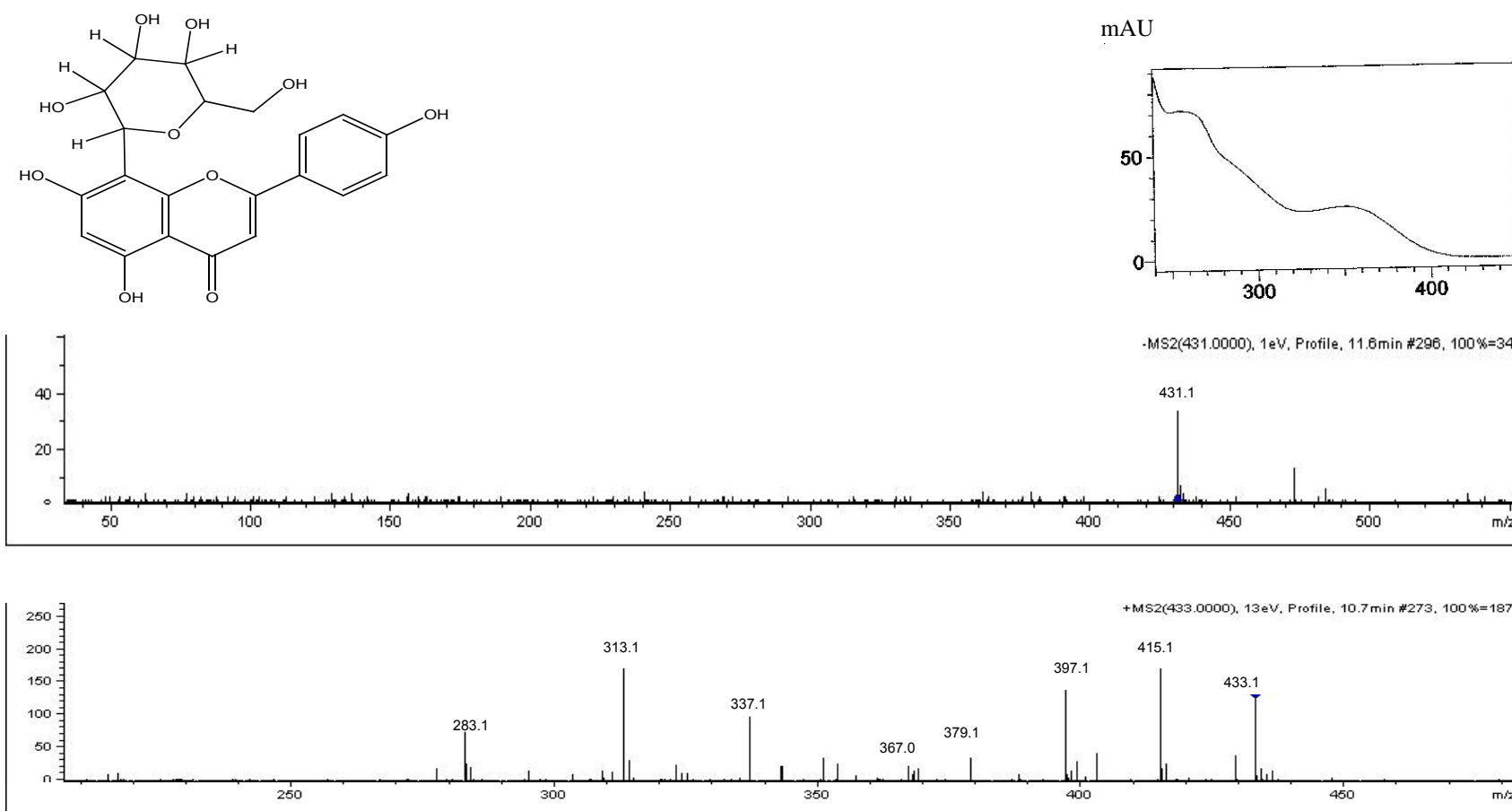


Figura 26 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 13 por CLAE-DAD-EM/EM.

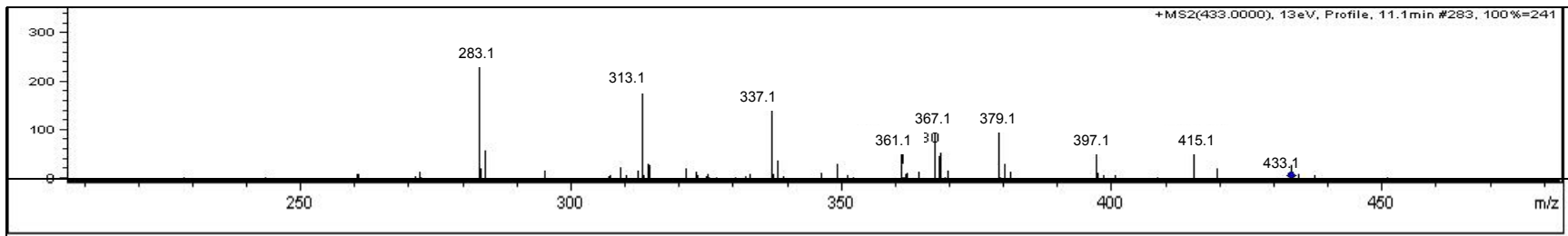
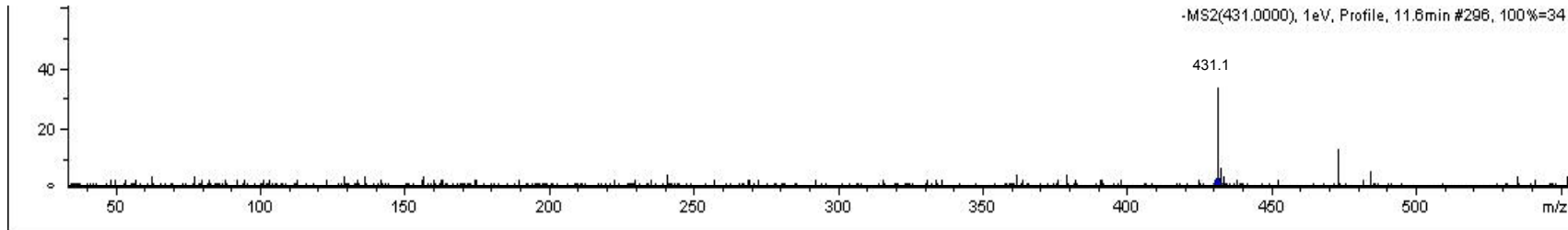
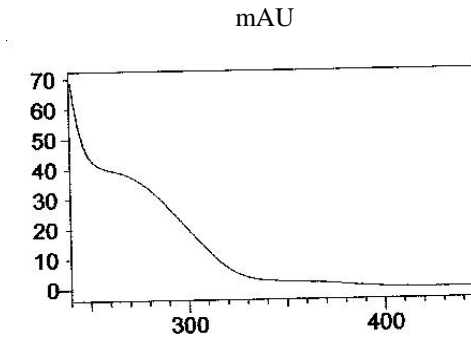
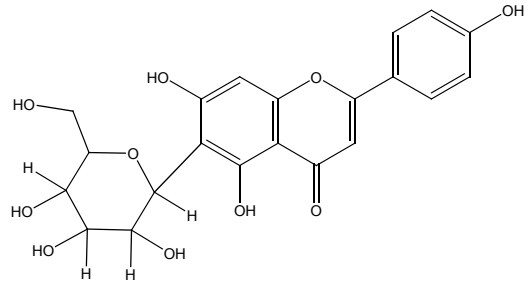


Figura 27 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 14 por CLAE-DAD-EM/EM.

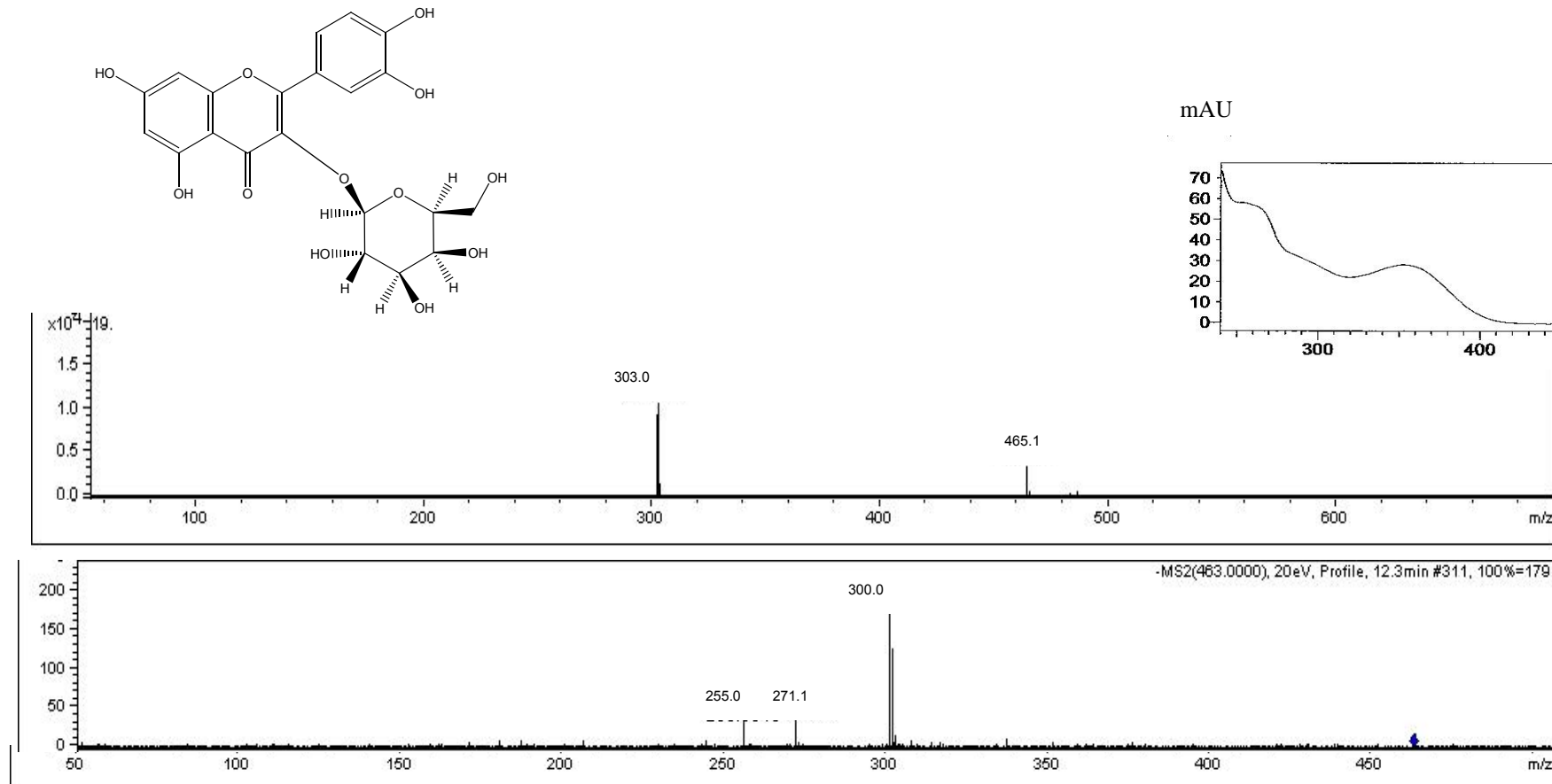


Figura 28 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 15 por CLAE-DAD-EM/EM.

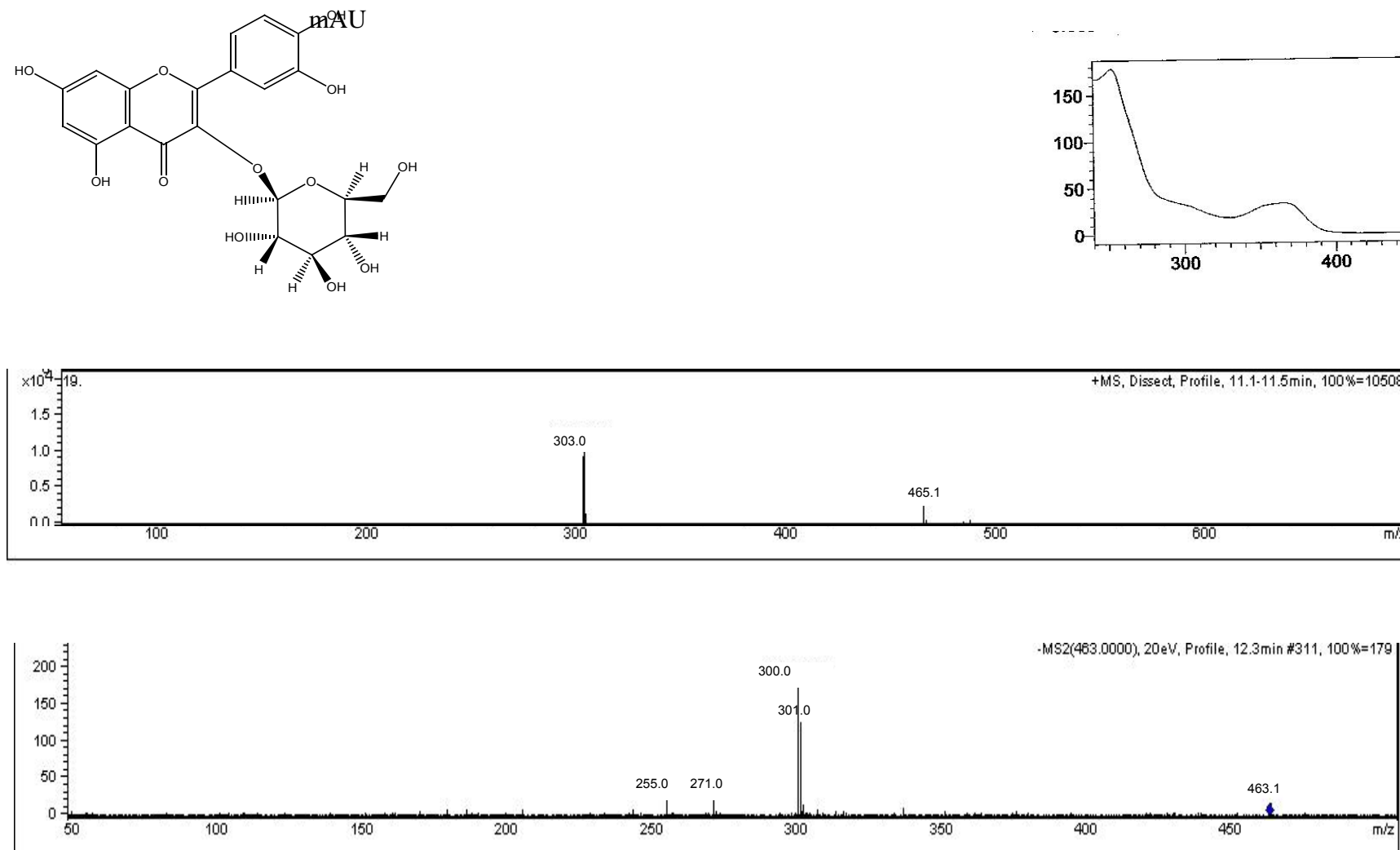


Figura 29 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 16 por CLAE-DAD-EM/EM.

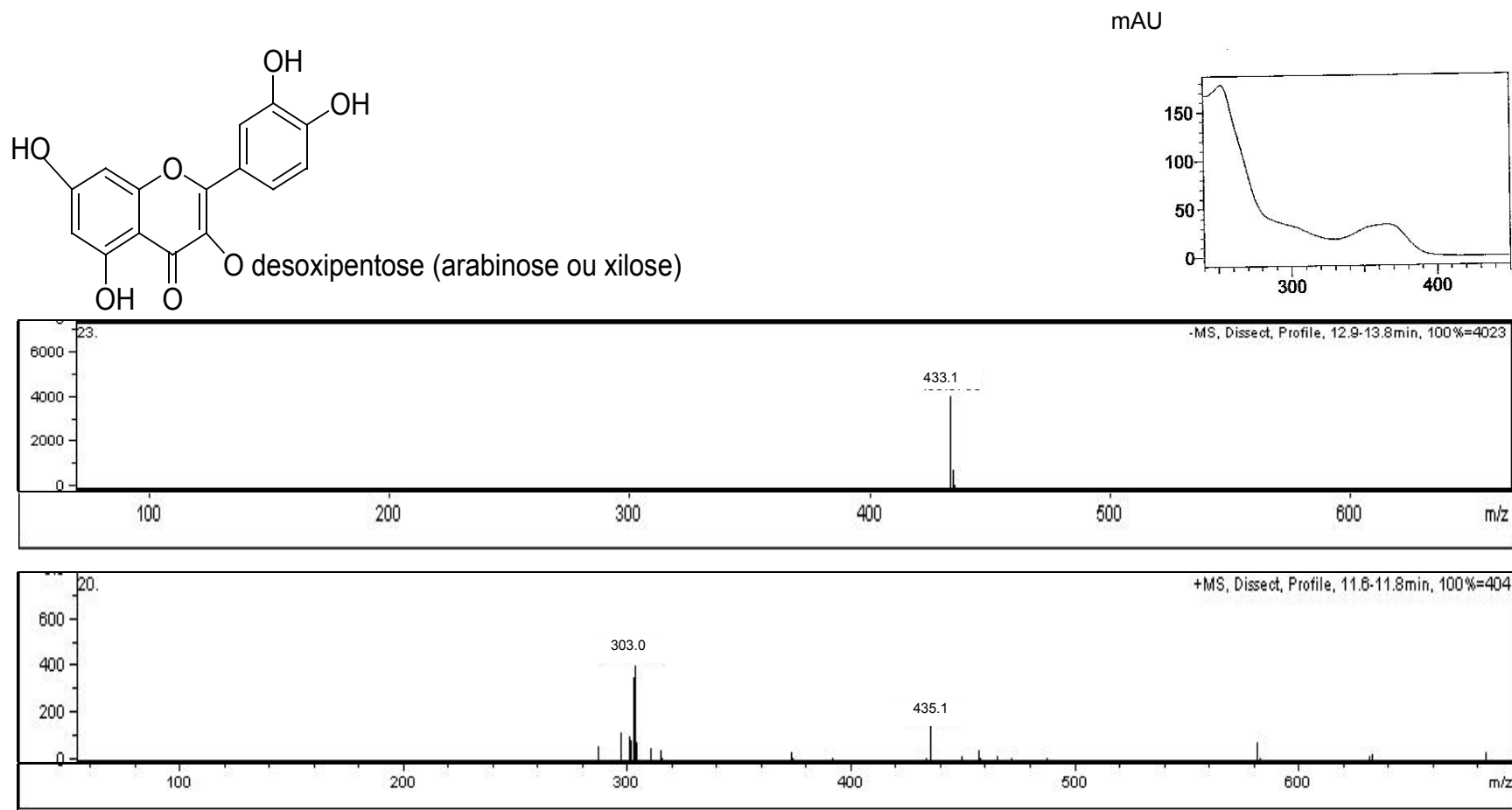
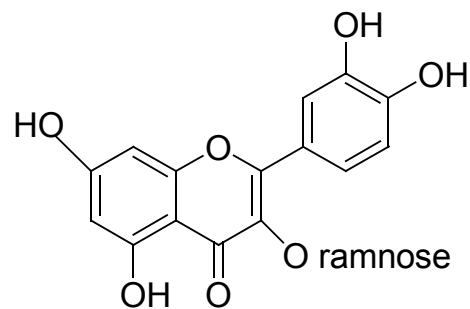


Figura 30 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 17 por CLAE-DAD-EM/EM.



mAU

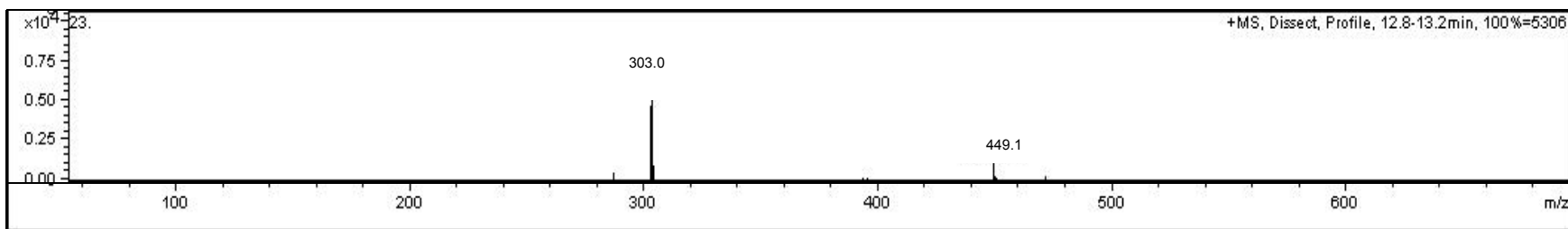
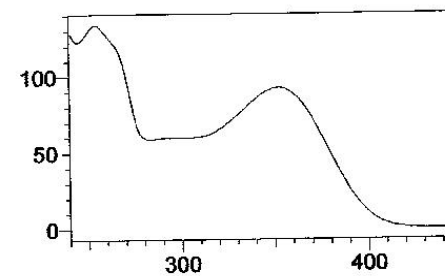


Figura 31 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 18 por CLAE-DAD-EM/EM.

4.4.3 Flavonóides do Tipo Cumaroilglicosil-Flavonóis

Com referência ao **pico 21**, com tempo de retenção de 18,0 min (Figura 18); apresentou espectro de UV (Figura 32), tendo banda máxima de absorção em 266 nm e 314 nm, os dois ombros com absorções 295 nm e 355 nm, sendo, esta uma faixa ,que é mencionada para flavonóis (TSIMOGIANNIS et al., 2007). Porém, relacionando as massas acuradas (Tabela 7) $[M-H]^-$ 593,1301, e $[M+H]^+$ 595,1446; pico base em m/z 595,1440 (modo positivo); e íons produto de m/z 309,0966 que estão relacionadas à cumaroilglicose, m/z 287,0550: canferol+H, m/z 165,0546: cumárico+H e m/z 291: 309-H₂O; estes dados conduziram a leitura de Tilirosídeo. A confirmação desta substância deu-se por intermédio das análises como padrão (Figura 32).

O **pico 22**, com tempo de retenção de 18,5 min (Figura 18), e que no espectro de UV apresentou o mesmo tipo de absorbância, que o composto acima (Figura 33) com indicativo de flavonol (TSIMOGIANNIS et al., 2007). Com base nas massas acuradas (Tabela 7) $[M-H]^-$ 593,1301 e $[M+H]^+$ 595,1446; e pelo modo positivo a fragmentação m/z 147.0441 indicou a presença de cumaroil na molécula. Já a fragmentação m/z 309,0969 corresponde a cumaroilhexose; a fragmentação 287,0550 pode ser campeferol + H, 165.0546: cumárico + H, 291-309: H₂O; quanto ao modo negativo, m/z 285.0405: campeferol - H, e m/z 447.0933: campeferol - hexosil, pois os dados direcionam para a identificação de um outro Canferol-hexose-cumaroil (tipo Tilirosídeo), provavelmente com mudanças na hexose ou na posição da esterificação do açúcar ou do cumaroil, ver Figura 33.

No caso, do **pico 24** com tempo de retenção 27,6 min (Figura 18), produziu espectro de UV com absorção máxima em 285 nm e 312 nm, apresentando ainda

um ombro em 268nm, estas informações confirmam ser flavonol (TSIMOGIANNIS et al., 2007). Quanto as massas moleculares acuradas (Tabela 7), apresentou $[M+H]^+$ 741,1814 e fórmula molecular $C_{39}H_{33}O_{15}$, com relação ao processo de fragmentação só foi evidenciada no modo positivo, revelou em m/z 147,0446: cumaroil, m/z 287,0550: campeferol e m/z 455,1342: glicose-dicumaroil, trata de Canferol-hexose-dicumaroil.

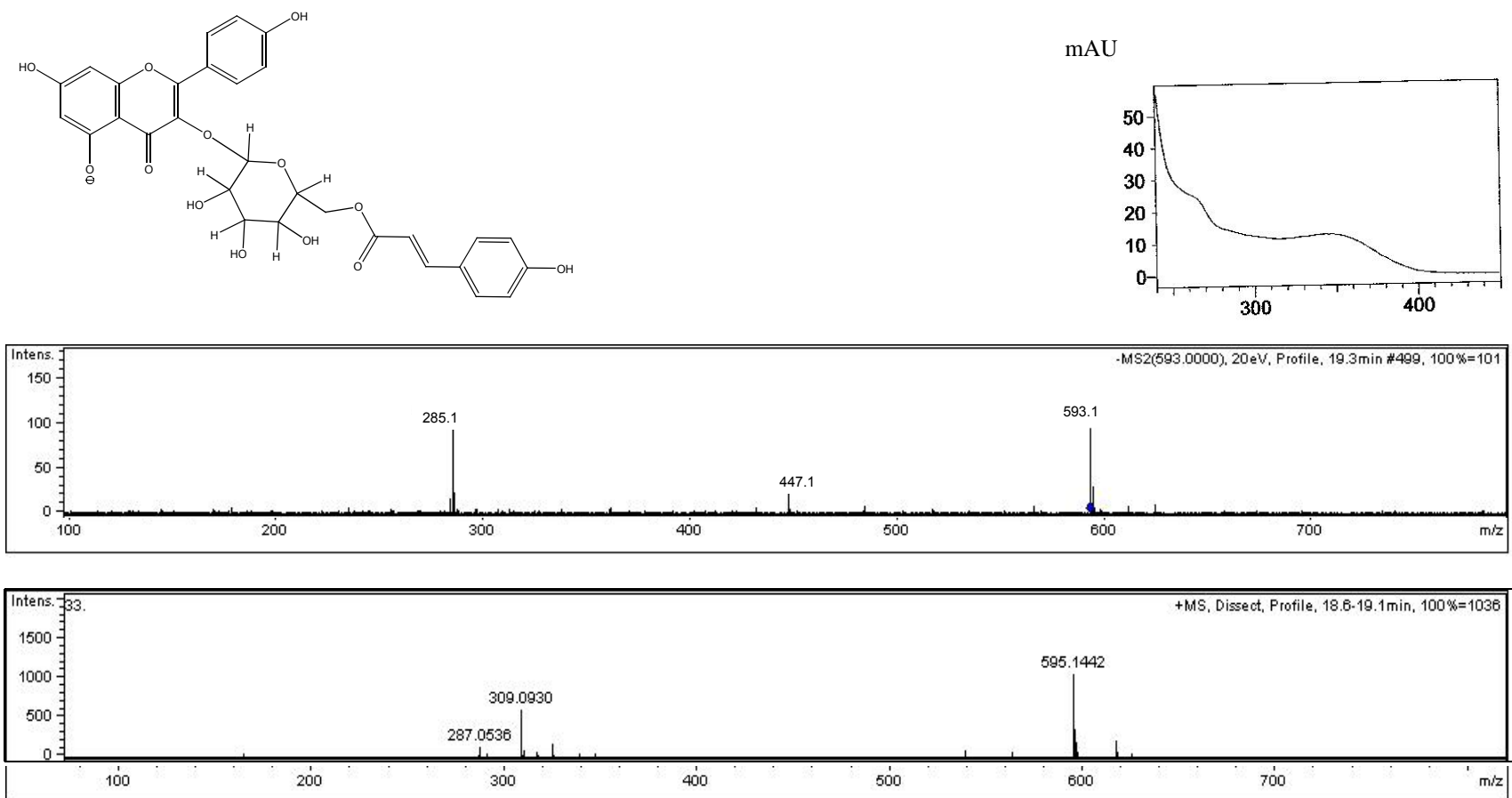


Figura 32 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 21 por CLAE-DAD-EM/EM.

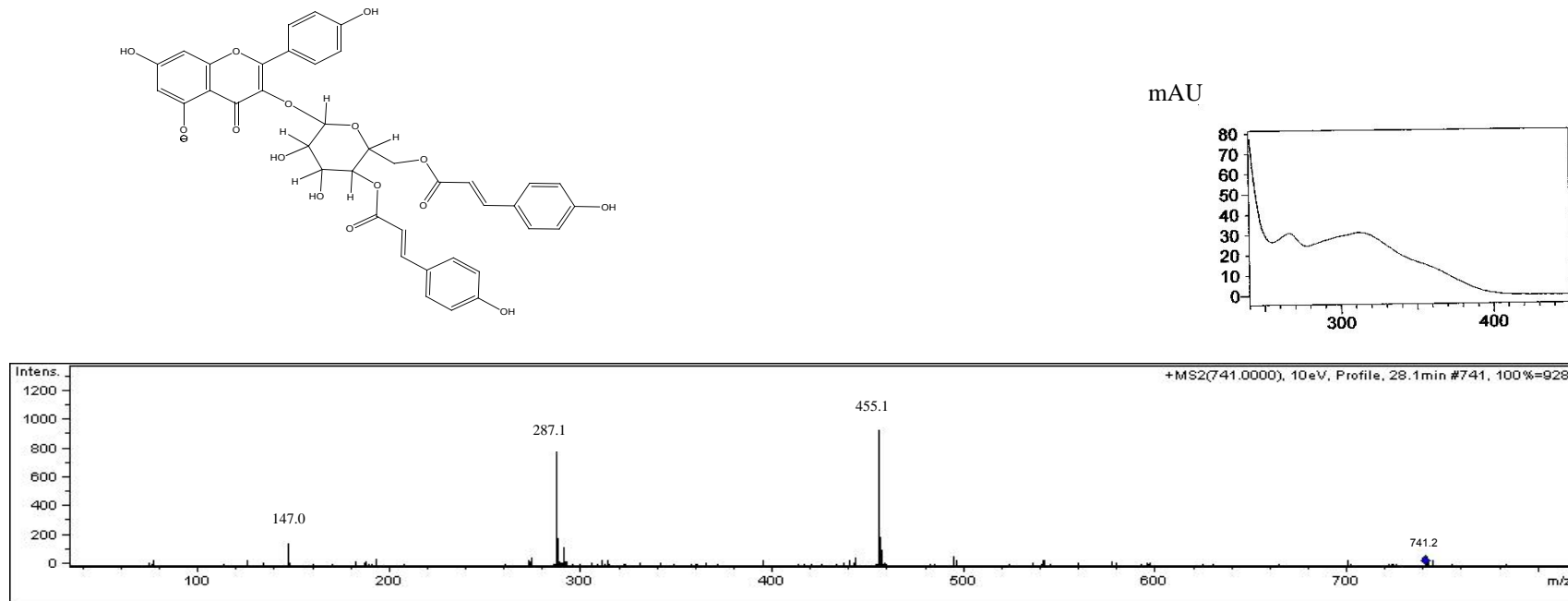


Figura 33 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e, massas de íons produto no modo de ionização positiva, obtidas para o pico 24 por CLAE-DAD-EM/EM.

4.4.4 Picos não identificados

Os **picos 2, 3 e 5**, com tempo de retenção de 3,0 min, 4,3 min e 7,1 min (Figura 18) têm em seu espectro de UV absorvância em 268 nm (**pico 3**) e, 269nm (**picos 2 e 5**), sendo estes correspondentes para flavonóides (TSIMOGIANNIS et al., 2007). As fragmentações foram apenas registradas no modo de ionização negativa, indicando ser uma substância com variações na posição de um determinado radical; pois o íon produto $m/z = 169$ e, os espectros de UV indicam a presença de ácido gálico na molécula; onde o ácido gálico-H é $m/z 169.0142$; estes picos correspondem às seguintes prováveis fórmulas moleculares: $C_{21}H_{11}N_2O_{11}$ (467,03628) e dm igual a 1,0 ppm, $C_{19}H_{15}O_{14}$ (467,04617) com dm igual a 22,2ppm, $C_{22}H_{11}O_{12}$ (467,02505) apresentando dm igual a 23,0ppm (Tabela 7). Nada semelhante foi detectado no SciFinder (Figura 34).

Com relação ao **pico 4**, com tempo de retenção de 4,9 min (Figura 18), gerou espectro de UV com absorção de 255 nm e dois ombros em 293 nm e 325 nm estas informações confirmam ser uma flavona ou diidroflavonol (MARKHAM, 1982). Quanto ao espectro de massa foi obtido apenas no modo positivo em alta resolução foi evidenciado o pico base em $m/z 237,0333$ (Tabela 7); no entanto, não foi possível chegar a uma conclusão sobre o tipo de flavonóide (Figura 35).

O **pico 23**, com o tempo de retenção de 22,8 (Figura 18) apresentou em seu espectro de UV absorvância em 287 nm e 309 nm, com um ombro de 309 nm, que, segundo estes dados, possibilitam a confirmação de que se trata de um flavonóide (TSIMOGIANNIS et al., 2007). Os espectros de massas gerados, nos dois modos de ionização em alta resolução (Tabela 7), apresentaram íons produto com $m/z 621,1955$ (modo positivo) e $m/z 619,1823$ (modo negativo). Os fragmentos $m/z 455$

(modo negativo) e, m/z 457 (modo positivo) associados aos dados de UVmax permite sugerir: trimetoxiflavona-C-desoxihexose-cafeoil com provável fórmula molecular $C_{33}H_{32}O_{12}$ e peso molecular igual a 621,1 tendo dm igual a 2,7; foi observado no Scifinder uma única estrutura coerente aos dados, mas é um produto sintético (Figura 36).

Analisando os **picos 25, 26 e 27**, com tempo de retenção de 28,7 min, 29,3 min e 29,8 min respectivamente (Figura 18); e com base nos espectros de UV que geraram registros de absorção máxima em 297 nm e 310 nm para o **pico 25**, 295 nm e 310 nm para o **pico 26**, e 295 nm e 311 nm para o **pico 27** e, com base nestas informações os mesmos correspondem a flavonóides (TSIMOGIANNIS et al., 2007). No caso dos espectros de massas, foram produzidos nos dois modos de ionização em alta resolução (Tabela 7), tendo os íons produto no modo positivo como pico base m/z 603,1872 para o pico 25, m/z 603,1865 para o pico 26 e m/z 603,1870 para o **pico 27**. Outros fragmentos deste modo de ionização têm para estes picos m/z 147: cumaroil (147,0446), m/z 767-H₂O: 749, 767→603: perda de cimárico, se fosse a perda da glicose seria m/z 164,0685; ou seja diferenças das perdas em alta resolução, comprovando que as perdas são de ácido cumárico e não de hexose. Além disso, o UV sugere cumaroil. Dá para afirmar que a fórmula molecular mais provável tem duas unidades de ácido cumárico (Figura 37). Outro aspecto importante, é que as três substâncias têm o mesmo núcleo flavonoídico para os dois últimos picos, sendo considerados isômeros de posição, mas que o **pico 26** apresenta provavelmente mudanças nas posições de esterificação dos ácidos, ou parte de onde estão esterificados, sendo considerado um isômero diferente e com as prováveis fórmulas: $C_{21}H_{11}N_2O_{11}$, $C_{19}H_{15}O_{14}$, $C_{22}H_{11}O_{12}$.

O **pico 1**, com tempo de retenção de 2,6 min (Figura 18) produziu espectro de UV característico de uma flavona ou diidroflavonol, com absorção máxima em 250 nm. No entanto, nenhum dado pôde ser obtido por espectrometria de massa, provavelmente devido ao baixo potencial de ionização, em ambos os modos de ionização (Figura 38).

Prováveis fórmulas moleculares:

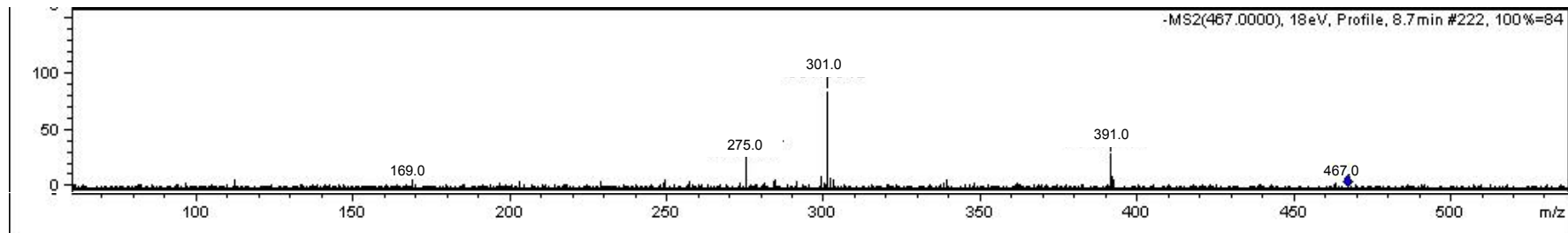
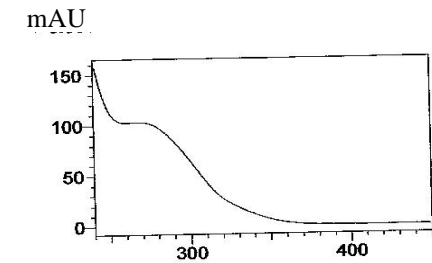
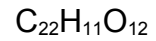
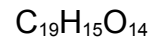
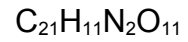


Figura 34 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e, massas de íons produto nos modos de ionização negativa obtidas para o pico 5 por CLAE-DAD-EM/EM.

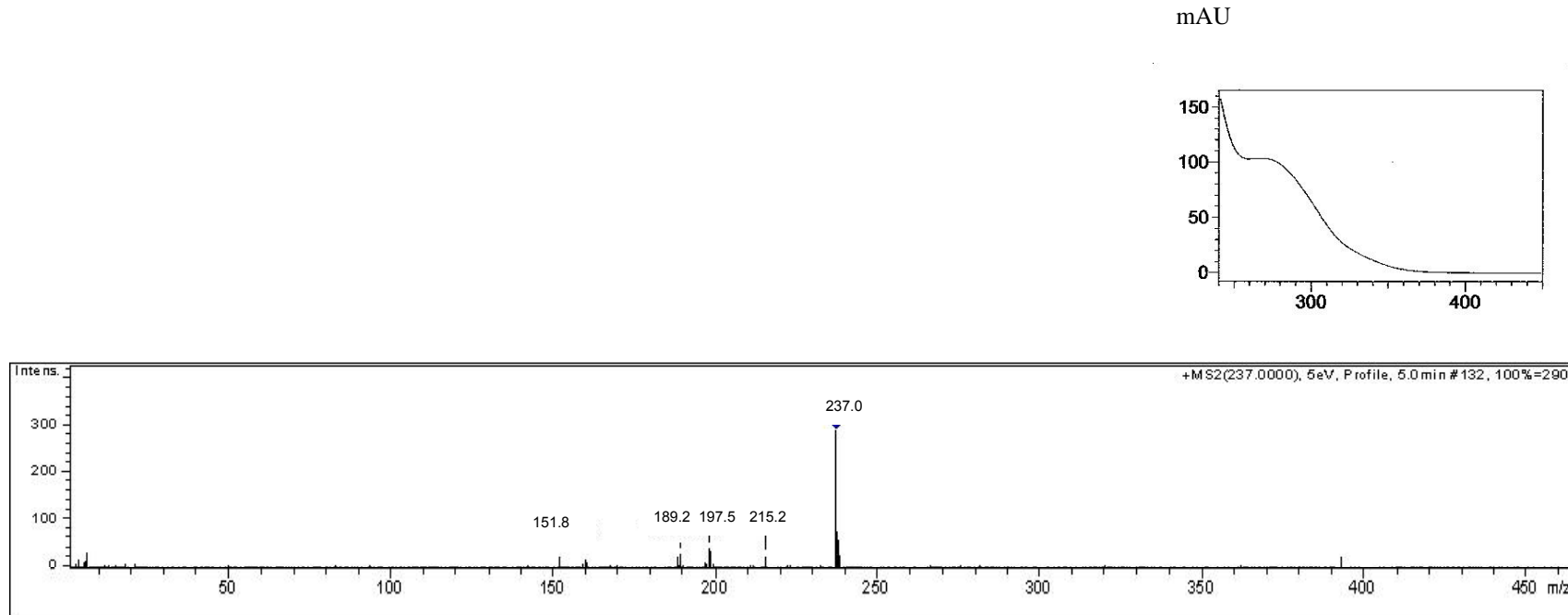


Figura 35 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e, massas de íons produto nos modos de ionização negativa obtidas para o pico 4 por CLAE-DAD-EM/EM.

Provável fórmula molecular:
 $C_{33}H_{32}O_{12}$

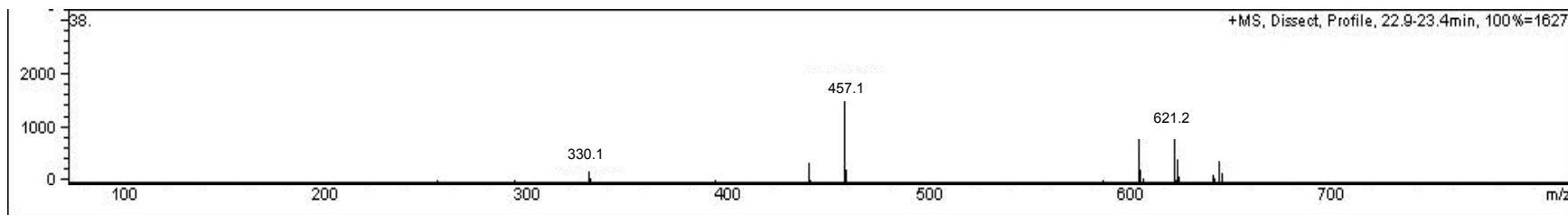
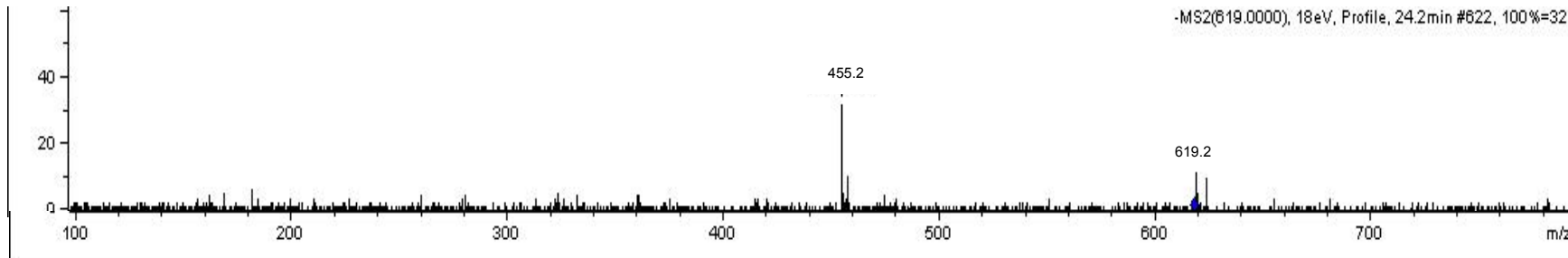
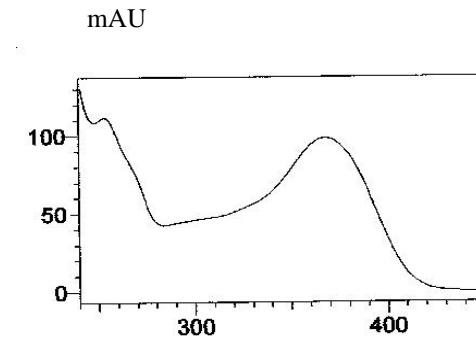


Figura 36 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e massas de íons produto nos modos de ionização negativa (acima), e positiva (abaixo) obtidas para o pico 23 por CLAE-DAD-EM/EM.

Prováveis fórmulas moleculares:

$C_{42}H_{39}O_{14}$ (a mais provável)

$C_{35}H_{43}O_{19}$

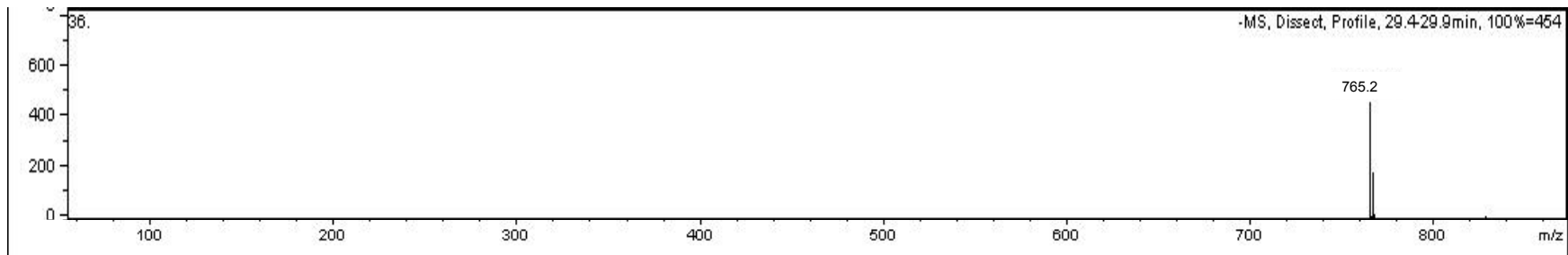
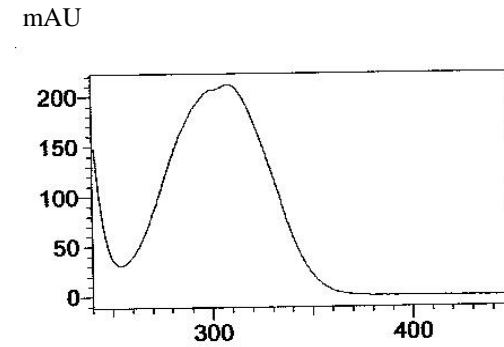


Figura 37 – Identificação, estrutura química, espectros de UV e, massas de íons produto nos modos de ionização negativa obtidas para o pico 25 por CLAE-DAD-EM/EM.

Tabela 7 – Identificação dos picos cromatográficos obtidos da fase acetato das partes aéreas de *Tococa guianensis* Aublet, e dados de UV e espectrometria de massas obtidos por CLAE-DAD-EM e CLAE-DAD-EM/EM.

Tempo de retenção (min)	Substância	Ionização positiva Íons precursores ^a	Ionização positiva EM/EM ^b	Ionização negativa Íons precursores ^a	Ionização negativa EM/EM ^b	UV
2,6	Sem informação	-----		-----		250
3,0	Galoil-bis-HHDP-hexose (C ₄₁ H ₂₇ O ₂₆)	-----		[M-H] ⁻ : 935,0796 [M-H] ²⁻ : 467,0362	467(8eV): 391, 301p.b., 275, 169,0160	269
4,3	Isômero dos picos 3,0 e 7,1	-----		[M-H] ⁻ : 935,0796 [M-H] ²⁻ : 467,0362	467(8eV): 391, 301, 275, 169.0156	268
4,9	Não identificado	237.0333 p.b. 197.0423 313.0184	237 (5eV): 215, 197, 189, 151 313 (15eV): 293, 279, 253, 209, 178	-----		255 293 sh 325 sh
7,1	Isômero dos picos 3,0 e 4,9	-----		[M-H] ⁻ : 935,0796 [M-H] ²⁻ : 467,0362	467 (12eV): 391, 301, 275, 169.0155	269
7,4	Miricetina-3-(-O-galoil)-hexose	-----	-----	631.0929 b.p.	631 (18eV): 479.0854 316.0246	270 295 sh 350

Continua

Continuação da Tabela 7

Tempo de retenção (min)	Substância	Ionização positiva Íons precursores ^a	Ionização positiva EM/EM ^b	Ionização negativa Íons precursores ^a	Ionização negativa EM/EM ^b	UV
7,9	Não identificada	-----		-----		275
8,4	Miricetina-3-O-hexose	481.0964 319.0428 p.b.	481 (10eV): 319.0425 319 (22eV): 301, 273, 217, 245, 165, 153.	479.0821	479 (23eV): 316.0245	267 297 sh 353
8,7	Miricetina-3-O-hexose	487.0959 319.0426 p.b.	481 (10eV): 301, 273, 217, 245, 165,153	479.0819.	479 (23eV): 316.0243	267 297 sh 352
9,3	Quercetina-3(-O-galoil)-hexose	617.1117 p.b. 315 303.0487	617 (8eV): 315, 303.0505, 297, 153.0203 303 (25eV): 285, 257, 229, 201, 165, 153	615.0980	615 (25eV): 463.0996, 301.0373, 300.0306	272 290 sh 352

Continua

Continuação da Tabela 7

Tempo de retenção (min)	Substância	Ionização positiva Íons precursores ^a	Ionização positiva EM/EM ^b	Ionização negativa Íons precursores ^a	Ionização negativa EM/EM ^b	UV
9,6	Quercetina-3-(-O-galoil)-hexose	617,1113 p.b. 315 303.0484	617 (8eV): 315, 303.0511, 297, 153.0207 303 (25eV): 285, 257, 229, 201, 165, 153	615.0977	615 (25eV): 463.0991, 301.0375, 300.0309	272 290 sh 353
9,7	Miricetina-3-O-pentose	319,0861 b.b. 451,0871	465 (10eV): 303.0491 303 (25eV): 285, 274, 257, 229, 201, 165, 153	463.0865 b.p. 927 (dímero)	463 (20eV): 300.0290, 301, 271, 255	254 265 sh 291 sh 356
9,9	Vitexina	415 b.b. 433,1129	465 (10eV): 303.0491 303 (25eV): 285, 274, 257, 229, 201, 165, 153	463.0878 b.p. 927 (dímero)	463 (20eV): 300.0293, 301, 271, 255	254 265 sh 290 sh 356

Continua

Continuação da Tabela 7

Tempo de retenção (min)	Substância	Ionização positiva Íons precursores ^a	Ionização positiva EM/EM ^b	Ionização negativa Íons precursores ^a	Ionização negativa EM/EM ^b	UV
10,5	Isovitexina	433,1113 383 b.b.	433 (15eV): 415, 397; 379; 367, 153.0207 303 (25eV): 285, 257, 229, 201, 165, 153	615.0977	615 (25eV): 463.0991, 301.0375, 300.0309	272 290 sh 353
10,6	Hiperina (quercetina-3-O-β-galactopiranosídeo)	465.1009 303.0481 p.b.	465 (10eV): 303.0491 303 (25eV): 285, 274, 257, 229, 201, 165, 153	463.0865 b.p. 927 (dímero)	463 (20eV): 300.0290, 301, 271, 255	254 265 sh 291 sh 356
10,8	Isoquercetrina (quercetina-3-O-β-glicopiranosídeo)	465.1013 303.0479 p.b.	465 (10eV): 303.0491 303 (25eV): 285, 274, 257, 229, 201, 165, 153	463.0878 b.p. 927 (dímero)	463 (20eV): 300.0293, 301, 271, 255	254 265 sh 290 sh 356

Continua

Continuação da Tabela 7

Tempo de retenção (min)	Substância	Ionização positiva Íons precursores ^a	Ionização positiva EM/EM ^b	Ionização negativa Íons precursores ^a	Ionização negativa EM/EM ^b	UV
11,6	Quercetina-3-O-dexipentose (tipo arabinose ou xilose)	435.0908 p.b. 303.0485	435 (10eV): 303 (25eV): 285, 274, 257, 229, 201, 165, 153	433.0767	433 (20eV): 300.0285, 301, 271, 255	256 266 sh 292 sh 358
12,5	Quercetina-3-O-ramnose	449.1069 303.0480 p.b.	449 (10eV): 303.0512, 287 303 (25eV): 285, 274, 257, 229, 201, 165, 153	447.0928	447 (20eV): 300.0288, 301, 271, 255	255 268 sh 295 sh 360
13,0	Miricetina	319.0436	319 (28eV): 301, 273, 245, 271, 165, 153	317.0294	317 (15eV): 179, 151	255 272 sh 290 sh 371
16,9	Quercetina	303.0488	303 (30eV): 285, 274, 257, 229, 201, 165, 153, 137	301.0345	301 (20eV): 179, 151	254 270 sh 298 sh 367

Continua

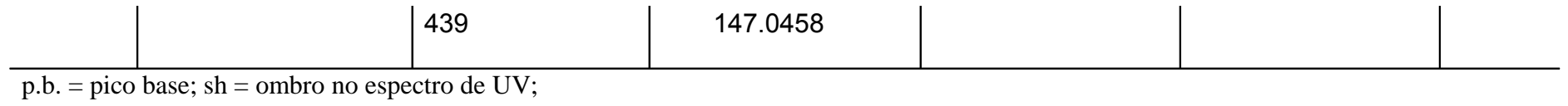
Continuação da Tabela 7

Tempo de retenção (min)	Substância	Ionização positiva Íons precursores ^a	Ionização positiva EM/EM ^b	Ionização negativa Íons precursores ^a	Ionização negativa EM/EM ^b	UV
18,0	Tilirosídeo	595.1440 p.b. 309.0966 287.0542	595 (8eV): 309.0983 287.0558, 165, 147.0449	593.1291	593 (15eV): 447.0943, 285.0430	266 295 sh 314 sh 355
18,5	Campeferol-hexose-cumaroil (semelhante a tilirosídeo)	595.1464 p.b. 309.0985 287.0561	595 (8eV): 309.0988 287.0561, 165, 147.0452	593.1294	593 (15eV): 447.0946, 285.0427	266 295 sh 315 sh 355
22,8	Não identificada	621.1955 457.1487 p.b.	-----	619.1823	619 (15eV): 455.1990 619 (18eV): 455.2060	287 298 sh 309
27,6	Campeferol-hexose-di-cumaroil	741.1816 p.b. 287.0552 455.1344	741 (10eV): 455.1378, 287.0582, 147.0461	-----	-----	268 sh 285 312

Continua

Continuação da Tabela 7

Tempo de retenção (min)	Substância	Ionização positiva Íons precursores ^a	Ionização positiva EM/EM ^b	Ionização negativa Íons precursores ^a	Ionização negativa EM/EM ^b	UV
28,7	Campeferol-hexose-di-cumaroil	767.2349 749 603.1872 p.b. 585 439	767 (5eV): 749.2417 603.2110, 585.1977, 439.1551, 147.0458 603 (8eV): 585, 439.1558	765.2195	-----	297 310
29,3	Não identificada	767.2350 749 603.1870 p.b. 585 439	767 (5eV): 749.2512 603.2117, 585.1952, 439.1556, 147.0461	765.2198	-----	295 310
29,8	Não identificada (isômero da substância 29,3)	767.2350 749 603.1870 p.b. 585	767 (5eV): 749.2615 603.2115, 585.1978, 439.1561,	765.2189	-----	295 311



p.b. = pico base; sh = ombro no espectro de UV;

**5 Estudo Biológico de
Tococa guianensis Aublet**

5.1 Atividade Antimicrobiana e Citotóxica de *Tococa guianensis* Aublet

As plantas possuem, em sua composição, substâncias químicas, biologicamente sintetizadas a partir de nutrientes, água e luz. Elas provocam, no organismo humano, reações que podem variar entre a cura ou o abraçamento de doenças, pela ação de princípios ativos glicosilados, flavonoídicos, de saponinas, alcalóides e outros.

A tendência atual nas pesquisas de produtos naturais, oriundos de plantas, consiste em estudo da atividade biológica, como etapa preliminar, seguindo-se a análise fitoquímica e biologia molecular, que têm sido importantes para compreender e elucidar o mecanismo de ação dos princípios ativos. Esses parâmetros propiciam a produção de fármacos naturais mais seguros, estáveis, padronizados e eficientes; ou modelos para desenvolvimento de moléculas sintéticas, apropriadas para a produção, por exemplo, de antimicrobianos efetivos com efeitos desejáveis e específicos contra bactérias, fungos, protozoários e vírus, minimizando os efeitos colaterais ou indesejáveis ao usuário (LIMA, 2001).

A região amazônica é considerada a maior reserva de plantas potencialmente medicinais (BRASÍLIA, 1998). Na grande diversidade de espécies vegetais, existentes nos diferentes estados distribuídos na região amazônica como Roraima, por exemplo, muitas plantas são potencialmente medicinais e muitas já foram objeto de pesquisas como leguminosas *Cassia desvauxi* Callad., *Bowdichia virgiloides* Kunth, *Mimosa pudica* L., a apocinácea *Himathantus articulatus* (Valhl) Woodson e a bignoniácea *Arrabidea chica* (H. B. K.) Verlot (LUZ, 1997). Com referência à melastomatácea, tem-se o registro de Nobotanina B (tanino hidrolizável), isolado de *Melastoma candidum* D. Don, apresentou atividade antimicrobiana (FUNATOGAWA

et al., 2004), Crevelin et al. (2006) verificaram que a atividade biológica, constatada em várias espécies de *Miconia* (ocorrentes em São Paulo), dá-se pela mistura de α -amirina, β -amirina e β -sitosterol, e essa linha de leitura reforça os mesmos argumentos, ora apontados por Santos et al. (1995); Gaertner et al. (1999); Otuki et al. (2005) para outras famílias.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Atividade antimicrobiana

Os microrganismos utilizados nos testes de detecção de atividade antimicrobiana representam bactérias Gram-positivas [*Staphylococcus aureus* Rosembach (DUAF-02), *Micrococcus luteus* (Schoeter) Cohn (DAUF-06), *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn (DAUF-16), que atuam em nível tecidual e, *Streptococcus faecalis* Pasteur & Doléris (DAUF-138), que atua em nível sistêmico]; Gram-negativas [*Serratia marcescens* Bizio (DAUF-398), que promove infecções oportunistas e sistêmicas, *Escherichia coli* (Migula) Castellani & Chalmers (DAUF-224) e *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula (DAUF-39), que atuam em nível tecidual e sistêmico] e Álcool-ácido-resistentes [*Mycobacterium smegmatis* (Trevisan) Lehmann & Neumannatua (DAUF-71), que atua em nível tecidual]; fungos filamentosos [*Neurospora crassa* (DAUF-2083), fitopatógeno) e leveduras [*Candida albicans* Berkhout (DAUF-1007), que atua em nível tecidual e sistêmico]. Todas as amostras foram procedentes da coleção de microrganismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

5.2.1.1 – Meios de cultura

Foram utilizados meios de culturas específicos, empregados rotineiramente nos testes de detecção de atividade antimicrobiana, bem como para manutenção das cepas testes (BAUER; KIRBY; SHERRIS, 1966). Nos testes da análise, para detecção de atividade antimicrobiana dos extratos sobre: *B. subtilis*, *E. coli*, *M. luteus*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* e *S. aureus*, empregou-se Agar Nutritivo (AN), e, no caso de *M. smegmatis* e *S. faecalis*, utilizou-se Glicose-levedura (GL). Para os testes com *C. albicans* e *N. crassa*, foram empregados Sabouraud-dextrose-ágar (SAB).

5.2.1.2 – Determinação da atividade antimicrobiana

Após gelificação do meio, inocularam-se as suspensões de bactérias, ou do fungo filamentoso ou da levedura, previamente padronizadas pela escala Marckfarland na concentração de 10^7 UFC/mL.

Para os extratos brutos e frações, realizou-se a avaliação da atividade biológica pelo método de difusão em ágar (disco). Os discos de papel xarope (6 mm de diâmetro), foram umedecidos com 20 μ L dos diferentes extratos e fases, solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO). Em seguida, depositados em cada placa, com microrganismos testes com três repetições para cada cepa. As placas foram incubadas, a 37 °C, para bactérias. A forma álcool-ácido-resistente (AAR), a 30 °C, para os fungos, e a temperatura ambiente (\pm 28 °C), para bactérias Gram-negativas, em um período de 48 h até 72 h. Decorrido o período de incubação procedeu-se a

leitura dos resultados, considerando a atividade antimicrobiana parcialmente ativa de 9–11 mm, ativa na faixa de 12–15 mm e muito ativa a partir de 15 mm.

5.2.2 Citotoxicidade

5.2.2.1 Preparações dos extratos das frações isoladas da fase cetato de etila

As concentrações dos extratos das frações isoladas de *T. guianensis* foram realizadas de acordo com o protocolo de Geran et al. (1972). Para os testes *in vitro*, adicionou-se aos extratos DMSO, de maneira que a concentração final do solvente nos poços fosse 0,2 %.

- Os extratos foram dissolvidos em DMSO, em uma concentração de 50 mg/mL, a partir desta solução foram obtidas várias concentrações, todas em DMSO.
- A solução foi diluída na proporção de 1.: 50 em meio de cultura DMEM sem suplemento.
- A solução 10 vezes concentrada foi adicionada às placas de cultura, obtendo-se a concentração final desejada.

5.2.2.2 Tratamento das células com as frações isoladas da fase cetato de etila

Para os testes de citotoxicidade, as linhagens de células HEP-2 (derivadas de Carcinoma Epidermóide de Laringe) e KB (Carcinoma Epidermóide de Boca) foram tripsinizadas em placas e uma suspensão contendo aproximadamente 5×10^4 células/mL foi distribuída em placas de cultura com 96 poços (125 μ L em cada

poço). As placas foram incubadas a 37 °C, em atmosfera enriquecida com 5 % de CO₂. Após 24 horas de incubação, as substâncias testes nas concentrações de 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2,5 µg/mL e 1,25 µg/mL, foram adicionadas aos poços. Cada concentração foi testada em quadruplicata.

Como controle, foi utilizado meio de cultura sem suplemento, e o mesmo volume de DMSO utilizado na dissolução do produto.

As células permaneceram incubadas, sob as mesmas condições de manutenção, por 72 h. Cada teste foi repetido, no mínimo, três vezes para confirmação dos resultados. A contagem das células foi realizada com auxílio de um hemocítmetro, preenchido com uma alíquota da suspensão de células homogeneizadas, e levados para contagem em microscópio invertido LEITZ. Os testes de citotoxicidade sobre as células HEP-2 e KB foram realizados com preparações celulares cuja viabilidade encontrava-se acima de 95%.

5.2.2.2 Determinação da atividade citotóxica das frações isoladas da fase cetato de etila

Para os testes de citotoxicidade, a atividade foi avaliada através do método colorimétrico do MTT (brometo [3-(4,5-dimetil (tiazolil)-3,5-difenil] tetrazólio), frente às linhagens de células selecionadas.

A suspensão celular, com 10⁵ células/mL, foi distribuída em placas de cultura, com 96 poços, cada poço com 198 µL. Elas foram incubadas a 37 °C, durante 24 h.

Sendo as substâncias testes adicionadas às placas com 22 µL/poço, em uma concentração de: 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2,5 µg/mL e 1,25 µg/mL, as mesmas foram reincubadas a 37 °C, por 72 h. Em seguida, foram adicionados 25 µL de MTT (5

mg/mL). As placas foram mantidas por duas horas na estufa. Após esse período, foram adicionados 100 μ L de DMSO a cada poço, para realizar a leitura óptica a 595 nm.

Os resultados foram obtidos pela determinação da CI, concentração que inibe 50 % da proliferação celular em relação ao controle (ADOLPE; BARLOWATZ-MEIMON, 1988).

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 – Ação do extrato etanólico e das fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila frente aos microrganismos testes

Os registros de literatura apontam ação antimicrobiana para extratos brutos de diversas partes da planta de espécies de *Miconia*, e para outros gêneros menos representativos, numa faixa de 7,0-18 mm de halo de inibição (LIMA et al., 1970; ALVES et al., 2000; GUNATILAKA et al., 2001; LI et al., 2001; LI et al., 2002; CELOTTO et al., 2003; BARDÓN et al., 2007; CREVELIN et al., 2007; RODRIGUS et al., 2007; VENTURA; OLIVEIRA; BRAGA, 2007). A atividade mais forte foi encontrada em *Melastoma candidum*, que apresentou halo de inibição de 25 mm para *Helicobacter pylori* (FUNATOGAWA et al, 2004).

O extrato bruto etanólico da parte aérea de *T. guianensis* provocou uma inibição do crescimento nos microrganismos testados, de 40%, com halos de 9-18 mm para as fases clorofórmica e de acetato de etila; a fase hexânica não inibiu o crescimento das formas microbianas (tabela 9).

Denotou-se que *S. faecalis*, *E. coli*, *S. marcenscens*, *N. crassa* e *C. albicans* foram mais resistentes a ação do extrato e das fases clorofórmica e de acetato de etila referente a parte aérea de *T. guianensis*, pois não apresentaram atividade antimicrobiana.

Ventura; Oliveira; Braga (2007), comentaram que o extrato bruto etanólico da folha de *Trembleya laniflora* D. Don., promoveu halo de inibição de 12,8 para *M. luteus*, e a fase hexânica gerou a inibição de 21 mm, para o mesmo microrganismo. Ainda para a mesma espécie, Cota et al. (2002), relataram halo de 11,14 mm para *P. aeruginosa*. Os mesmos autores comentam que o extrato bruto metanólico da parte

aérea de *Lavoisiera confertiflora* Naudim apontou um fraco halo de inibição (10 mm) frente a *M. luteus*, com relação a *L. cordatazona* Cong. inibiu fracamente (8,5 mm) o crescimento desse mesmo microrganismo. O extrato bruto etanólico de *T. guianensis* teve um halo máximo de inibição de 18 mm para o referido microrganismo teste (Tabela).

Em se tratando da inibição do crescimento de *S. aureus*, os resultados de *T. guianensis* foi de 15 mm e são próximos aos do extrato bruto metanólico da folha de *Miconia albicans* (Sw.) Triana (18 mm) (ALVES et al., 2000), que, segundo Crevelin et al. (2006), deve-se à presença de terpenos e esteróides, nela detectados. Outras espécies de Melastomataceae apresentaram halos inferiores, por exemplo: *Melastoma affine* D. Don com zona de inibição de 10,5 mm (SU, ZHOU e LIU, 2005). Porém, a fase hexânica da parte foliar de *Trembleya laniflora* registrou o halo de 14 mm (VENTURA, OLIVEIRA e BRAGA, 2007); mas o extrato metanólico do caule de *Dissotis theifolia* apresentou halo de inibição 15-21 mm (OEDIMEGWU et al., 2008).

Com relação à atividade antimicrobiana, os extratos testados de *T. guianensis*, foi parcialmente ativa (9-11 mm), para bactérias Gram-negativas (*P. aeruginosa*), para a forma Álcool-ácido-resistente (*M. smegmatis*), e ativa (15-18 mm), para (*M. luteus* e *S. aureus*). No caso da fase clorofórmica de *T. guianensis*, a inibição ativa foi evidenciada na faixa de 12-15 mm para bactéria Gram-positiva (*B. subtilis* e *M. luteus*) e parcialmente ativa (10 mm), em *S. aureus*. O mesmo fato fora detectado para a fase acetato de etila dessa espécie, mas a faixa de inibição foi de 10-15 mm, para *S. aureus* e *M. luteus*, respectivamente, sendo valores bastante significativos para a literatura. Estes resultados ressaltam a importância da continuidade de investigações, com o fim de priorizar a identificação dos componentes ativos desses extratos.

Tabela 8 – Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico e das fases clorofórmica e acetato de etila das partes aéreas de *Tococa guianensis* Aublet

Extrato	Halo de Inibição dos Microrganismos Testes (mm)					
	Bruto*/Fase*	B. sub	M. lut	S. aur	P. aer	M. ame
Extrato bruto		0,0	18,0	15,0	9,0	11,0
Clorofórmica		12,0	15,0	0,0	0,0	0,0
Actato de Etila		0,0	15,0	10,0	0,0	0,0

25 µg (*), microrganismos testes: *Bacillus subtilis* (B. sub), *Micrococcus luteus* (M. lut), *Staphylococcus aureus* (S. aur), *Pseudomonas aeruginosa* (P. aer), *Mycobacterium smegmatis* (M. sme).

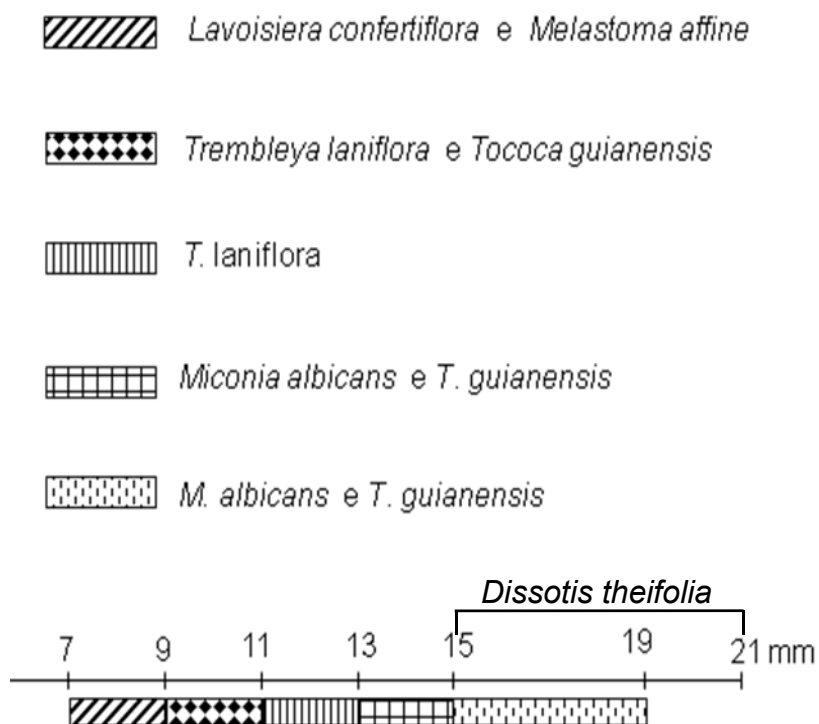


Figura 39 – Faixa da atividade antimicrobiana de espécies de Melastomataceae frente a *Staphylococcus aureus* Rosembach e *Micrococcus luteus* (Schoeter) Cohn, relacionada aos dados de *Tococa guianensis* Aublet segundo o método de difusão registrado na literatura.

5.3.2 – Verificação da efetividade da citotoxicidade em *Tococa guianensis* Aublet

Com base nas análises das frações da fase acetato de etila da parte aérea de *T. guianensis*, houve baixa citotoxicidade, tendo CI_{50} (concentração que inibe 50 % da proliferação celular) maior que 10 $\mu\text{g/mL}$. Porém, na família Melastomataceae, são evidenciados estudos citotóxicos de: extrato bruto diclorometano e metanólico do caule e de folhas (separados), de *Axinaea castaricensis* Cogn.; extrato bruto metanólico e fases hexânica e metanólica das folhas de *Clidemia sericea* D. Don; extrato bruto diclorometano e metanólico da casca do caule de *Henriettella fascicularis* (SW.) C. Wright; extrato metanólico das folhas de *Melastoma malabatricum* L. Ainda em outro trabalho, foram testados flavonoides não glicosilados e também com ação citotóxica positiva; extrato bruto: diclorometano e metanólico das folhas de *Miconia impetiolaris* (DC.) Naud.; extrato aquoso das folhas de *Osbeckia aspera* L. Blume; extrato bruto diclorometano e metanólico da parte aérea de *Topobea praecox* Gleason (GUNATILAKA et al., 2001; DÉVEHAT et al., 2002; CALDERON et al., 2003; MONTENEGRO et al., 2007; SUSANTI et al., 2007).

Realizando análise da posição taxonômica dos gêneros, que apresentam registros bibliográficos da ação citotóxica para a referida família, pode-se considerar que estão em clado mais superiores. Embora *Tococa* pertença à Tribo Miconieae, que é a mesma para *Clidemia*, *Henriettella* e *Miconia*; ela é caracterizada por apresentar inflorescências terminais e/ou pseudo-axilares, botões florais de ápice agudo a acuminado, pétalas atenuadas e acuminadas, frutos suculentos do tipo baga e polispérmicos (BAUMGRATZ, 1985 apud BAUMGRATZ; SOUZA, 2005) (Figura 39). As espécies de *Tococa* têm características muito próximas com os representantes de *Miconia*. Entretanto, as espécies com domácias fazem parte do taxa *Tococa stricto sensu*; e *T. guianensis* fica em posição inferior aos gêneros ora

supracitados, sendo pertencente à Secção Hypophysca (MICHELANGELI, 2000) (Figura 40).

Topobea está inserido na tribo Blakeeae que é monofilética, caracterizada como hemiepifítica e epifítica, com inflorescência axilar ou fasciculada; flores hexâmeras com um par de brácteas decussadas; frutos bagas (CLAUSING; RENNER, 2001; MICHELANGELI, 2004) (Figura 39).

Com relação, aos gêneros *Melastoma* e *Osbeckia*, pertencem à Tribo Melastomeae, que são reconhecidos por possuírem flores pentâmeras a tetrâmeras, de colorações purpúreas ou claras, que estão dispostas em inflorescências delicadas e pouco ramificadas, ou em inflorescências bem desenvolvidas e bastante ramificadas; estames com conectivos apresentando de forma dorso ventral a basal ventral (CLAUSING; RENNER, 2001). A Tribo Melastomeae tem grupos mais superiores do que as tribos referidas anteriormente (Figura 39).

Fica, então, a questão: (1) As plantas em grupos mais superiores do que *T. guianensis* apresentaram ação citotóxica pelo fato de terem sido utilizados extratos brutos? (2) Ou por possuírem estratégias químicas e morfológicas mais avançadas? (3) Mas, como fica o fato das análises com as fases hexânica e metanólica das folhas de *Clidemia sericea* D. Don? (4) Quais as substâncias presentes nas frações de acetato de etila de *T. guianensis*, que não favoreceram a citotoxicidade ou não se têm?

Fazendo referência às questões 1 e 2, percebe-se que estão relacionadas ao extrato bruto testado para citototoxicidade e, nesses casos, possibilitaria uma maior atuação das substâncias, permitindo o sinergismo das mesmas, tendo uma positividade deste tipo de atividade. Quanto à questão 3, também se tem a evidência de substâncias apolares e polares, que culminaram com a ação citotóxica. No último

questionamento, é nítida a leitura da presença de compostos polares, nas frações da fase acetato de etila, mas que não contribuiu para o efeito citotóxico.

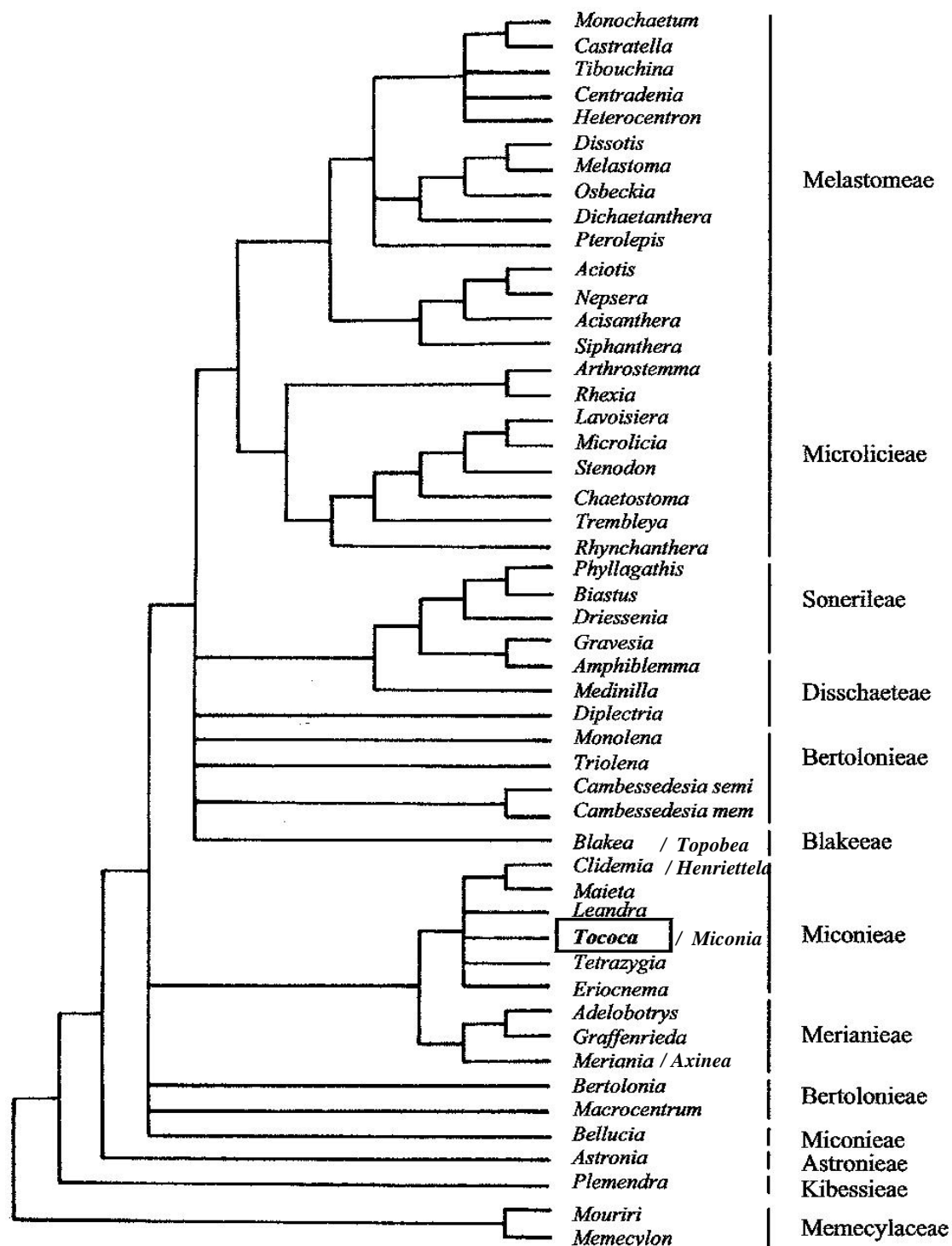


Figura 39 – Posição taxonômica dos gêneros de Melastomataceae (*stricto sensu*), com base nos dados de *rp116*, adaptado de (CLAUSING; RENNER, 2001)

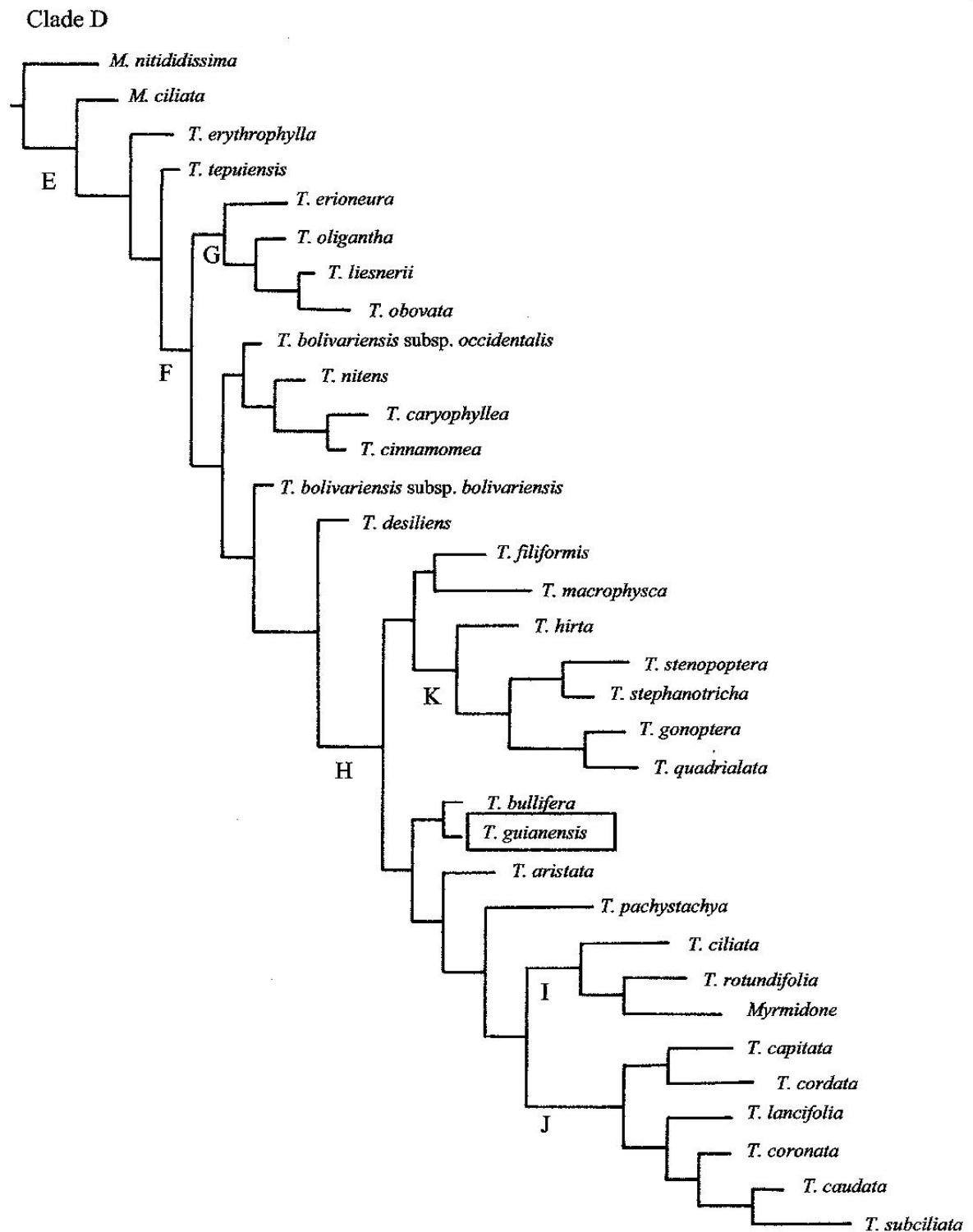


Figura 40 – Relações filogenéticas de *Tococa* (stricto sensu), com as espécies do mesmo gênero e do gênero *Miconia* (MICHELANGELI, 2000, adaptado).

5.3.3 Quercetinas glicosiladas de *T. guianensis*

O que motivou o estudo da atividade citotóxica da fase acetato de etila de *T. guianensis*, é que esta fase polar possibilitaria identificações de flavonóides, pois estes constituem uma grande classe de metabólitos secundários, que são reportados por exibirem diferentes efeitos biológicos, incluindo antimicrobiano, antiinflamatório, antialérgico, no papel das funções celulares, contra agentes oxidantes ou radicais livres, efeito vaso dilatador, atividade antitumoral, hepatoprotetora e antiulcerogênica, antiviral (HAVSTEEN, 1983; HANASAKI; OGAWA; FUKUI, 1994; DI CARLO et al., 1999; DEPEINT, 2002; NILSSLER; GEBHARTDT; BERGER, 2004), e ainda estudos relacionados sobre a redução de risco de doenças cardiológicas e cancerígenas (SCALBERG; WILLIAMSON, 2000).

Os deslocamentos químicos, nos espectros de hidrogênio de flavonóides glicosilados, fornecem várias informações referentes ao tipo de açúcar presente na molécula. Outro ponto relevante trata sobre o deslocamento químico do hidrogênio anomérico, pois este quando substituído por glicose na posição 3 (OH-3), geralmente absorve entre δ 5,35 e δ 5,56. No entanto em ramnosídeos, o hidrogênio anomérico absorve entre δ 4,96 e δ 5,36 (HARBORNE, 1994).

Com base nas análises em CLAE e RMN-¹H e confrontando com os registros da literatura, foram identificados, dos picos mais intensos, quatro flavonóis da fase acetato do tipo: Hyperina (quercetina-3-O- β -galactopiranosídeo) e Isoquercetrina (Quercetina-3-O- β -glicopiranosídeo), Quercetina-3-O-desoxipentose, Quercetina-3-O-ramnose; sendo as substâncias novas referências para o gênero *Tococa*. Vale ressaltar que o núcleo quercetina-3-O-glicosídeo é característico para a família Melastomataceae, estando presente nas espécies: *Huberia carvalhoi* Baumgratz., *H.*

consimilis DC., *H. glazioviana* Cogn., *H. minor* Cogn., *H. netoana* Brade, *H. ovalia* Baumgratz, *H. semiserrata* DC., *Lavoisiera alba* Dc., *L. confertiflora* Naud., *L. macrocarpa* Naudn., *L. pulcherima* DC., *L. subulata* Triana, *Melastoma candidum* D. Don, *Miconia cabu* Hoehne, *Microlicia avicularis* Mart., *M. confertiflora* Naud. var. *confertiflora* Naud., *M. confertiflora* var. *laxifolia*, *M. crenulata* Mart., *M. domazioi* Brade, *M. fulva* (Spreng.) Cham., *M. isophylla* DC., *M. macrophylla* Naud., *M. martana* O. Berg. Ex Triana, *M. polystema* Naud., *M. pulchella* Naud., *Microlicia* sp, *Tibouchina pulchra* Cogn., *Trembleya chamissoana* Naud., *T. diffusa* E. Martins et A. B. Martins, *T. laniflora* (Don) Cogn., *T. parviflora* (Don) Cogn., *T. phlogiformis* Mart. e Schr. ex DC. (BOMFIM-PATRÍCIO et al., 2001; LEE, 2001; MINURA; SALATINO; SALATINO, 2004; MOTA et al., 2005).

Quercetina e seus glicosídeos são mais representativos em vegetais, frutos e suco de uvas (HERTOG; HOLLMANN; KATAN, 1992; HERTOG, HOLLMAN et al., 1993; WALGREN, WALLE e WALLE, 1998); geralmente ocorrem nas plantas à porção O-glicosídeo (PIETA e MAURI, 1991); em que um ou mais grupos de hidroxilas são ligados a açúcar ou açúcares, porém ligação hemiacetal é ácido-doadora (MARKHAM, 1982). A porção principal carboidratada compreende D-glicose, L-ramnose, glicoramnose, galactose e arabinose (HAVSTEEN, 1983). Nesta, a preferência da glicosilação é na posição “3”, e menor na posição “7”. A glicose é o resíduo de açúcar mais freqüente, porém outros resíduos podem ocorrer, tais como: galactose, ramnose e xilose (COTELLE, 2001).

A substituição do grupo hidroxila diminui a atividade antioxidante da porção aglicona, e que provavelmente deva ser este o fato de não ter ocorrido atividade citotóxica em *T. guianensis*. Na literatura, foi abordado que quercetina-3-O-glicosídeo apresentou resultado semelhante a esta pesquisa, tendo a citotoxicidade negativa para a linhagem Caco2 (células adenocarcinomas do colon do intestino humano), porém outros compostos fenólicos, por exemplo: epicatequina, galato de epigallocatequina e ácido gálico apresentaram atividade citotóxica positiva (SALUCCI et al., 2002). Mas, ainda fica a questão: o que impediria a promoção da citotoxicidade?

A justificativa apontada por Fukumoto e Mazza (2000), é talvez a mais provável para se explicar esse efeito negativo que, segundo eles, está relacionado à hidrância estérica (Figura 40), e, por sua vez, este entendimento foi reforçado por Biesaga, Stafiej e Pyrzynska (2007). Vale ressaltar, no caso de não ter ocorrido atividade citotóxica *in vitro*, pode ocorrer atividade antitumoral, pois, os registros bibliográficos comentam sobre estudos avaliando a dieta alimentar humana balanceada com flavonóides glicosilados, verificando que a porção glicosídica foi hidrolisada, na cavidade oral, ficando apenas a porção aglicona, por exemplo, quercetina, sendo esta atuante na atividade antineoplásica (BIIESAGA, STAFIEJ e PYRZYNSKA, 2007).

6 Conclusões

Com relação ao levantamento bibliográfico direcionado ao perfil medicinal de Melastomataceae, teve um maior direcionamento para os estudos farmacológicos e com maior incidência para ensaios antimicrobianos, seguidos de citotoxicidade.

Das pesquisas apresentadas na área farmacológica para as espécies dessa família, teve uma maior representatividade o nível de mecanismo de ação sistêmico, e posteriormente o nível de mecanismo tecidual.

O número de pesquisas relacionadas à etnobotânica, na categoria de uso medicinal das Melastomatáceas, é muito pequeno quando se considera o número das espécies desta família, mas seus resultados indicam a necessidade de se desenvolver mais estudos que possam contribuir para um melhor conhecimento químico, etnobotânico e farmacológico.

A análise dos tricomas foliares revelou a presença de tricomas longos multisseriados secretores ainda não referidos para *T. guianensis*.

As análises desenvolvidas por CLAE-DAD-EM e CLAE-DAD-EM/EM, associadas com as comparações de tempos de retenção com padrões, permitiram a identificação de dezessete flavonóides dos vinte e sete picos, embora, dois tipos de substâncias apresentaram cada com três tipos de isômeros de posição, sendo estas substâncias, de alta polaridade e pertencentes apenas a fase acetato das partes aéreas de *T. guianensis*.

Dos dezessete flavonóides, quinze são flavonóis distribuídos em: três canferóis, cinco miricetinas e sete quercetinas, porém treze glicosiladas, duas agliconas; e duas flavonas, todas as substâncias são inéditas para o gênero.

A predominância do padrão de glicosilação dos flavonóis, é do tipo 3-O-glicosilação; e, no caso das duas flavonas, é do tipo 6 e 8-C-glicosilação, estes são correspondentes à família Melastomataceae.

A atividade biológica está potencialmente relacionada a flavonóides e saponinas de intensidade moderada, e a intensidade em nível de apenas presente e até muito freqüente para taninos e esteróis, segundo estudos fitoquímicos.

Em *T. guianensis* estão presentes substâncias com atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas reveladas na ação do extrato bruto etanólico e das fases clorofórmica e de acetato de etila, menos na fase hexânica.

A faixa da ação antimicrobiana frente às formas bacterianas selecionadas para *T. guianensis* são compatíveis ao perfil dos representantes da família Melastomataceae em relação aos mesmos microrganismos testes.

Estudos de CLAE confirmaram a presença nas frações da fase de acetato das partes aéreas de *T. guianensis* de dois tipos de flavonóides: Hiperina (Quercetina-3-O- β -galactopiranosídeo), Isoquercetrina (Quercetina-3-O- β -glicopiranosídeo), estas substâncias são novas referências para o gênero em questão.

A baixa atividade citotóxica nas frações glicosiladas da fase acetato do extrato das partes aéreas de *T. guianensis* pode ser atribuída à presença de um núcleo básico de flavonóides 3-O-glicosídeo, fato este relacionado à hidrância estérica.

Referências

ADAMS, R. P. Chemosystematics: analyses of populational differentiation and variability of ancestral and recent populations of *Juniperus ashei*. **Ann. Missouri Bot. Gard.**, v. 64, p. 184-209, 1977.

ADONIZIO, A. L. et al. Anti-quorum sensing activity of medicinal plants in southern Florida. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 427-435, 2006.

AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of flavonoids**. New York: Elsevier, 1989, 564 p.

ALBUQUERQUE MELO et al. Catálogo de plantas tóxicas e medicinais do Estado da Bahia. **Boletim do Instituto Biológico da Bahia**, v. 10, n. 1, p. 39-65, 1971.

ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 76-91, 2007.

ALVAREZ, G.; et al. Ant-plant association in two *Tococa* species from a primary rain forest of Colômbia Choco (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 38, n. 3B, p. 585-602, 2001.

ALVES, T. M. et al. Biological screening of brazilian medicinal plants. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 3, p. 367-373. 2000.

AMOROZO, M. C. M. Algumas notas adicionais sobre o emprego de plantas e produtos com fins terapêuticos pela população cabocla do município de Barcarema, PA, Brasil. **Boletim do Museu Praense Emílio Goeldi**, v. 13, n. 2, p. 191-213, 1997.

ANESINE, C.; PEREZ, C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 39, p. 119-128, 1993.

ANTON, R. et al. Pharmacognosy of *Mimosa termiflora* (Willd) Poiret. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 38, p. 153-157, 1993.

APG II. Na update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 141, p. 399-436, 2003.

BALBACH, A. **A flora nacional na medicina doméstica**. São Paulo:Edificações Vida Plena, 1984.

BALUNAS, M. J. et al. Relationships between inhibitory activity against a cancer cell line panel , profiles of plants collected, and compound classes isolated in an anticancer drug discovery project. **Chemistry & Biodiversity**, v. 3, p. 897-915, 2006.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiosperma do Brasil**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa – UFV, 1991.

BARDÓN, A. et al. Bioactive plants from Argentina and Bolivia. **Fitoterapia**. v. 78, p. 227-231, 2007.

BAUMGRATZ, J. F. A.; FERREIRA, G. L. Estudo da nervação e epiderme foliar das Melastomataceae do município do Rio de Janeiro. Gênero *Miconia* Ruiz et Pavon. Seção *Miconia*. **Rodriguesia**, v. 32, p. 61-169, 1980.

BAUMGRATZ, J. F. A.; FERREIRA, G. L. Estudo da nervação e epiderme foliar das Melastomataceae do município do Rio de Janeiro. Gênero *Miconia* Ruiz et Pavon. Seção *Miconia*. **Rodriguesia**, v. 32, p. 61-169, 1984.

BECCHI, M.; FRAISSE, D. Fast atom bombardment and fast atom bombardment collision-activated dissociation/mass-analysed ion kinetic energy analysis of C-glycosidic flavonoids. **Biomed. Environ. Mass Spectrom.**, v. 18, p. 122-130, 1989.

BEHNKE, G. A. Plant trichomes-structure and ultrastructure: general terminology, taxonomic applications, and aspects of trichomes-bacterial interaction in leaf tips of *Dioscorea*. In: Rodriguez E. Healey PL, Mehta I, eds. **Biology and chemistry of plants trichomes**. New York: Plenum Press, 1984.

BERG, J. M. **Isolation, characterization, and synthesis of bioactive natural products from rainforest flora**. Dissertation, Faculty of the Virginia Polytechnic and State University. 2001.

BERNAYS, E. et al. Antifeedant nature of the quinone primin and its quinol miconidin from *Miconia* spp. **Experientia**, v. 40, p. 1010-1011, 1984.

BIESAGA, M.; STAFIEJ, A.; PYRZYNSKA, K. Extration and hydrolysis parameters for determination of quercetin in *Hypericum perforatum*. **Chromatographia**, v. 65, p. 701-706, 2007.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A.; DEGÁSPARI, C. H. Anthocyanins from *Tibouchina grandiflora*. **Food Chemistry**., v. 18, p. 153-159, 1985.

BOMFIM-PATRÍCIO, M. C. et al. Flavonoids of *Lavoisiera*, *Microlicia* and *Trembleya* (Melastomataceae) and their taxonomic meaning. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 7, p. 711-726, 2001.

BOSCOLO, O. H. **Estudos Etnobotânicos do Município de Quissamã R. J.** Dissertação de Mestrado. Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2003, 206 p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária-INCRA, Coordenação Fundiária de Roraima, **Projeto Fundiário Roraima**, 1982. 31 f. Relatório Técnico.

BRASIL. **Plantas medicinais: produtos potenciais da Amazônia.** Brasília, 1998a.

BRASIL. **Informações complementares.** Brasília, 1998b.

BRASÍLIA, MMM/SUFRAMA/SEBRAE/GTA. **Plantas medicinais – Produtos Potenciais da Amazônia.** 1998.

BRUNETON, Jean. **Farmaognosia: Fitoquímica & Plantas Medicinais.** 2ª ed., Editora Acriba S. A., 2001.

CÁCERES, A. et al. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrintestinal disoleu IV. Vibriocidal activity of five American plants. Used to treat infection. **Journal of ethnopharmacology**, v. 39, p. 73-75, 1993a.

CÁCERES, A. et al. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 39, p. 77-82, 1993b.

CALDERÓN, A. I. et al. Forest plot as a tool to demonstrate the pharmaceutical potential of plants in a tropical forest of Panama. **Economic Botany**, v. 54, n. 3, p. 278-294, 2000.

CALDERÓN, A. I. et al. Isolation and structure elucidation of an isoflavone and a sesterterpenoic acid from *Henriettella fascicularis*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 12, p. 1749-1753, 2002.

CALDERÓN, A. I. et al. In vitro cytotoxicity of 11 Panamanian plants. **Fitoterapia**, v. 74, p. 378-383, 2003.

CALDERÓN, A. I. et al. Occurrence of taxiphyllin and 3, 3'-di-O-methylellagic acid 4'- β -D-glucoside in *Henriettella fascicularis*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 31, p. 789-791, 2003.

CALDERÓN, A. I. et al. Taxiphyllin from *Henriettella fascicularis*. **Acta Cryst.**, v. 59, p. 174-176, 2003.

CALDERÓN, A. I. et al. Evaluation of larvicidal and in vitro antiparasitic activities of plants in a biodiversity plot in the Altos de Campana National Park, Panama. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 7, p. 487-498, 2006.

CARISTI, C. et al. Flavonoids detection by HPLC-DAD-MS-MS in lemon juices from sicilian cultivars. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 3528-3534, 2003.

CARRICONDE, C. et al. **Plantas medicinais e plantas alimentícias**. Olinda, Pe: Centro Nordestino de Medicina Popular/ Universidade Rural de Pernambuco, 1995.

CECH, N.B.; ENKE, C.G. Practical implications of some recent studies in eletrospray ionization fundamentals. **Mass Spectrom. Rev.**, v. 20, p. 362-387, 2001.

CELOTTO, A. C. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos brutos de três espécies de *Miconia*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 339. 2003.

CHAN, S. C. et al. Three new flavonoids and antiallegic, anti-inflammatory constituents from heartwood of *Dalbergia odorifera*. **Planta Med.**, v. 64, p. 153-158, 1998.

CHATURVCDULA, V. S. P. et al. A new ursane triterpene from *Monochaetum vulcanicum* that inhibits DNA polymerase β lyase. **J. Nat. Prod.**, v. 67, n. 5, p. 899-901, 2004.

CHENG, J.; HSU, F.; CHEN, H. Antihypertensive principles from the leaves of *Melastoma candidum*. **Planta Med.**, v. 59, p. 405-407, 1993.

CHOI, S. M. et al. Screening of 5 alpha-reductase inhibition and comedolytic effects from natural products. **Yakhak-Hoeji**, v. 43, p. 342-350, 1999.

CLAUSING, G.; MEYER, K.; RENNER, S. S. Correlation among fruit traits and evolution of different fruits with Melastomataceae. **Botanical Journal of the Linnaean Society**, v. 133, p. 303-326, 2000.

CLAUSING, G.; RENNER, S. S. Molecular phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae: implications for character evolution. **American Journal of Botany**, v. 88, n. 3, p. 486-498, 2001.

COTA, B. B. et al. Antimicrobial activity of plant species from Brazilian hotspot for conservation priority. **Pharmaceutical Biology**, v. 40, p. 542-547, 2002.

CORDELL, G.A.; SHIN, Y.G. Finding the needle in the haystack. The dereplication of natural product extracts. **Pure Appl. Chem.**, v.17, p.1089-1094, 1999.

COSTA, C. G. *Miconia theazans* (Bomp.) Cogn. (Melastomataceae) considerações anatômicas. **Rodriguesia**, v. 29, p. 7-92, 1977.

COSTA, M. A. A. **Plantas & Saúde: guia introdutório à fitoterapia**. Brasília: Governo do Distrito Federal.

CREVELIN, E. J. et al. Identification of biologically active triterpenes and sterols present in hexane extracts from *Miconia* species using high-resolution gas chromatography. **Biomedical Chromatography**, v. 20, p. 827-830, 2006.

CROTTI, A. E. M. et al. LC-hyphenated techniques: uses in the structural elucidation of low and high-molecular weight compounds. In: TAFT, C.A. **Modern Biotechnology in Medicinal Chemistry and Industry**, Kerala, Índia: Research Signpost, p. 99-141, 2006a.

CROTTI, A. E. M. et al. Espectrometria de massas com ionização por eletrospray: processos químicos envolvidos na formação e íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. **Quim. Nova**, v. 29, p. 287-292, 2006b.

CUNHA, W. R. et al. A study of the trypanocidal activity of triterpene acids isolated from *Miconia* species. **Phytotherapy Research**, v. 20, p. 474-478, 2006.

CUYCKENS, F. et al. Tandem mass spectral strategies for the structural characterization of flavonoid glycosides. **Analisis**, v. 28, p. 888-895, 2000.

CUYCKENS, F.; CLAEYS, M. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. **J. Mass Spectrom.**, v. 39, p. 1-15, 2004.

DI STASI, L. C. et al. **Plantas medicinais da Amazônia**. São Paulo: UNESP. 1989.

DEFILICE, S. L. Nutraceuticals: opportunities in an emerging market, **Scrip. Magazine**, v. 9, p. 14-15, 1992.

DEVEZ, G. **Les Plantas Utiles et les Bois Industriels de la Guyane**. Paris: Societe d'Editions Geographiques, Maritimes et Coloniales, 1932.

DÉVÉHAT, F. L. et al. Antiviral and cytotoxic activities of some Indonesian plants. **Fitoterapia**, v. 73, p. 400-405, 2002.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. New York: John Wiley & Sons, 2002.

DI CARLO, G.; et al. Minireview flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**, v. 65, n. 4, p. 337-353, 1999.

DINDA, B. e SAHA, M. K. J. **Indian Chem. Soc.**, v. 63, p. 764, 1986.

DOTTORI, N. M. Morfologia foliar em *Celtis tala* y *C. pallida* con special referencia a los domacios. **Kurtziana**, v. 9, p. 63-80, 1976.

EDWARDS, E.; THOMAS-OATES, J. Hyphenating liquid phase separation techniques with mass spectrometry: on-line or off-line. **Analyst**, v. 130, p. 13-17, 2005.

EVANS, W. C. **Trease and Evan's pharmacognosy**. Ed. 14, London: WB Saunders Company. 1996.

FABRE, N.; RUSTAN, I.; HOFFMANN, E.; QUETIN-LECLERQ, J. Determination of flavone, flavonol, and flavanone aglicones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry. **J. Am. Soc. Mass Spectrom.**, v. 12, p. 707-715, 2001.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I. ; SIMÕES, C. M. O. **Introdução à análise fitoquímica**. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; ETROVICK, P. R. Florianópolis: UFGS, 2003.

FORMICA, J. V.; REGELSOM, W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. **Fd. Chem. Toxic.**, v. 33, p. 1061-1080, 1995.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. **Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 3597-3604, 2000.

FUNATOGAWA, K. et al. Antimicrobial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. **Microbiol. Immunol.**, v. 48, n 4, p. 251-261, 2004.

GATTUSO, G. et al. Flavonoid glycosides in bergamot juice (*Citrus bergamia* Risso). **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, p. 3929-3935, 2006.

GERSHENZON, J.; MAFFEI, M.; CROTEAU, R. Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of spearmint (*Mentha spicata*). **Plant Physiol.**, v. 89, p.1351-1357, 1989.

GUIMARÃES, P. J. F.; MARTINS, A. B. *Tibouchina* sect. *Pleuroma* (d. Don) Cogn. (Melastomataceae), no Estado de São Paulo. **Rev. Brás. Bot.**, v. 20, n. 1. p. 11-3, 1997.

GLEASON, H. A. **Melastomataceae. Flora of Surinam**. Ed. by Pulle, A., Koninklijk Koloniaal Instituut te Amsterdam. 1935, p. 178-281.

GOBBO-NETO, L. **Emprego de técnicas hifenadas na identificação de metabólitos secundários de *Lychnophora ericoides* Mart. (Asteraceae) e determinação de suas variações populacionais e temporais**. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2007. 254 p.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v.30, p. 374-381, 2007.

GRENAND, P.; MORETTI, C.; JACQUEMIN, H. **Pharmacopées traditionnelles en Guyane. Créoles, Palikur, Wayãpi**. Paris: Editions de l'ORSTOM, Mémoires n.108, 1987, p. 286-288.

GUARANI NETO, G.; ASAKAWA, N. M. Estudo de mirmecodomaceos em algumas espécies de Boraginaceae, Chrysobalaceae, Melastomataceae e Rubiaceae. **Acta Amazônica**, v. 8, n. 1, p. 45-49, 1978.

GUNATILAKA, A. A. L. et al. Isolation synthesis, and structure activity relationships of bioactivi benzoquinones from *Miconia lepidota* from the Suriname Rainforest. **J. Nat. Prod.**, v. 64, n. 1, p. 2-5, 2001.

GUZMÁN, A.; GUERRERO, R. O. Inhibition of aldose redutase by herbs extracts and natural substances and their role in prevention of cataracts. **Rev. Cubana Plant Med.**, v. 10, p. 1-7, 2005.

HARBORNE, J.B. Biochemical systematics of flavonoids. In: HARBORNE, J.B.; MABRY, T.J.; MABRY, H. **The flavonoids**. London: Chapman and Hall Ltd., 1975. cap.19, p.1056-1095.

HARBORNE, J. B. **Biochem. Syst. Ecol.**, p. 5 e 7, 1977.

HARBORNE, J.B. Higher plant-lower plant interactions: phytoalexins and phytotoxins. In:____. **Introduction to ecological biochemistry**. 3ed. London: Academic Press Limited, 1989a, cap.10, p. 302-340.

HARBORNE, J.B. The coevolutionary arms race: plant defense and animal response. In:____. **Introduction to ecological biochemistry**. 3ed. London: Academic Press Limited, 1989b, cap.7, p. 214-239.

HARBORNE, J.B.; BOARDLEY, M.; LINDER, H.P. Variations in flavonoid patterns within genus *Chondropetalum* (Restionaceae). **Phytochemistry**, v. 24, n. 2, p. 273-278. 1985.

HANASAKI, Y.; OGAWA, S.; FUKUI, S. The correlation between active oxigens scavenging and antioxidante effects of flavonoids. **Free Radical Biological Medicine**, v. 16, p. 845-850, 1994.

HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacobiol potency. **Biochemical Pharmacology**, v. 32, p. 1141-1148, 1983.

HECKEL, E. **Les Plantes Médinales et Toxiques de la Guyana Française**. Macon, France: Protat Freres. 1897.

HEYDE, H. **Medecijn Planten in Suriname (Den Dresi Wiwiri foe Sranan)**. 157pp. Paramaribo, Surinam: Stichting Gezondheidsplanten Informatie. 1987, 157 p.

HERTOG, M. G. L.; HOLLMANN, P. C. H.; KATAN, M. B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruit commonly consumed in the Netherlands. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, p. 2379-2383, 1992.

HERTOG, M. G. L. et al. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Eldery study. **Lancet.**, v. 342, p. 1007-1011, 1993.

ISAZA, M. J. H.; ITO, H.; YOSHIDA, T. Monochaetin, a Di-hyperin Ester of Tetrahydroxy- μ -truxinic Acid from *Monochaetum multiflorum*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 47, n. 10, p. 1510-1511, 1999.

ISAZA, J. H.; ITO, H.; YOSHIDA, T. A flavonol glycoside-lignan ester and accompanying acylated glucosides from *Monochaetum multiflorum*. **Phytochemistry**, v. 58, p. 321-327, 2001.

ISHII, R. et al. Inhibitory effects of hydrolyzable tannins from *Melastom dodecandrum* LOUR. on nitric oxide production by a murine macrophage-like cell line, RAW264.7, activated with lipopolysaccharide and interferon- γ . **Biol. Pharm. Bull.**, v. 22, n. 6, p. 647-653, 1999.

JAMAL, C. M. et al. Antinoceptive activity of *Lavoisiera pulcherrima*. **Fitoterapia**, v. 70, p. 178-180, 1999.

JANG, D. S. et al. Beccaridiol, an unusual 28-nortriterpenoid from the leaves of *Diplectria beccariana*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 1832-1837, 2006.

JAYATILAKA, K. A. P. W. et al. An evaluation of the potency of *Osbeckia octandra* and *Melothria maderaspatana* as antihepatotoxic agents. **Planta Medica**, v. 55, p. 137-139, 1989.

JOLIVET, P. **Ants and plants, an example of coevolution**. Backhuys publishers, 1996.

LEE, M. et al. Monoamine oxidase B and free radical scavenging activities of natural Flavonoids in *Melastoma candidum* D. Don. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, p. 5551-5555, 2001.

LEVIN, D. A. The role of trichomes in plants defence. **Quarterly Review of Biology**, v. 48, p. 3-15, 1973.

LI, X. C. et al. Phenolic compounds from *Miconia myriantha* inhibiting *Candida asprtic* proteases. **J. Nat. Prod**, v. 64, p. 1282-1285, 2001.

LI, X. C. et al. Fatty acid synthase inhibitors from plants: isolation, structure elucidation and SAR studies. **J. Nat. Prod.**, v. 65 n. 12, p. 1909-1914, 2002.

LIMA, O. G. et al. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores-Comunicação XXXII. Atividade antimicrobiana e antineoplásica de produto identificado como 2-metoxi-6-n-pentil-*p*-benzoquinona (Primina) isolado de raízes de *Miconia* sp. (Herb. IAUFPE-1903) (Melastomataceae). **Revista do Instituto de Antibióticos**, Recife, v. 10, p. 29-3, 1970.

LIMA, O. G. et al. Substância antimicrobiana de plantas superiores-Comunicação XXXIII. Primeiras observações sobre a atividade antimicrobiana e antineoplásica de 2-metoxi-6-n-pentil-1,4-dihidrobenzeno (Miconidina), isolada de extratos de raízes de *Miconia* sp. (Herb. IAUFPE-1903) (Melastomataceae). **Revista do Instituto de Antibióticos**, v. 10, p. 35-39, 1970.

LIMA, E. de O. **Plantas medicinais sob a ótica a química medicinal moderna - Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica**. Argos, p. 481 – 501, 2001.

LOUB, W. D. et al. Partial characterization of antitumor tannin isolated from *Calycogonium aquamulosum* (Melastomataceae). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 62, n. 1, p. 149-150, 1973

LOWRY, J. B. Anthocyanins of the Melastomataceae, Myrtaceae and some allied families. **Phytochemistry**, v. 62, p. 149-150, 1976.

LUU, C. Contribution à l'étude des plantes médicinales de la Guyane Française. **Journal d' Agriculture Tropicale et de Botanique Appliqué**, v. 22, n. 4-6, p 121-141, 1975.

MA, Y.L.; HEUVEL, H.V.; CLAEYS, M. Characterization of 3-Methoxyflavones using fast-atom bombardment and collision-induced dissociation tandem mass spectrometry. **Rapid Commun. Mass Spectrom.**, v.13, p.1932-1942, 1999.

MACKOVA, Z.; KOBLOVSKA, R.; LAPCIK, O. Distribution of isoflavonoids in non-leguminous taxa – An update. **Phytochemistry**, v. 67, p. 849-855, 2006.

MAÑEZ, S.; RECIO, M.C.; GINER, R.M.; SANZ, M.J.; TERCENIO, M.C.; PERIS, J.B.; STUBING, G.; RIOS, J.L. A chemotaxonomic review of the subtribe *Crepidinae* based on its phenolic constituents. **Biochem. Syst. Ecol.**, v.22, p.297-305, 1994.

MARODIN, S. M.; BAPTISTA, L. R. M. O uso de plantas com fins medicinais no município de Dom Pedro de Alcântara, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 4, n. 1, p. 57-68, 2001.

MARKHAM, K.R.; MABRY, T.J. Ultraviolet-visible and proton magnetic resonance spectroscopy of flavonoids. In: HARBORNE, J.B.; MABRY, T.J.; MABRY, H. **The flavonoids**. London: Chapman and Hall Ltd., 1975. cap.2, p.45-77.

MARKHAM, K. R. **Techniques of flavonoids identification**. London: Academic Press Inc., 1982. cap. 3, p. 36-51.

MARKHAM, K.R. Ultraviolet-visible absorption spectroscopy. In:____. **Techniques of flavonoid identification**. London: Academic Press Inc., cap.3, p. 36-51, 1982.

MATOS, A. F. J. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2ª Edição, Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MATOS, F. J. de A. **O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha: informações sobre o emprego na medicina caseira, de plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 2ª. ed. Fortaleza: UFC, 1997.

MENNEGA, E. A., TAMMENS-ROOJ, W. C. M.; JANSEN-JACOBS, M. J. **Check-list of Wood Plants of Guyana**. Ede. The Netherlands: Tropenbos Foundation. 1988, 281 p.

MENTINK, H.; BASS, P. Leaf anatomy of the Melastomataceae, Memecylaceae and Crypteroniaceae. **Blumea**, v. 37, p. 189-225, 1992.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Second edition, Oxford, England: Clarendon Press, 1979.

MICHELANGELI, F. A. A cladistic analysis of the genus *Tococa* (Melastomataceae) based on morphological data. **Systematic Botany**, v. 25, n. 2, p. 211-234, 2000.

MICHELANGELI, F. A. Ant protection against herbivory in three species of *Tococa* (Melastomataceae) occupying different environments. **Biotropica**, v. 35, n. 2, p. 181-188, 2003.

MICHELANGELI, F. A.; RODRIGUEZ, E. Absence of cyanogenic glycosides in the tribe Miconieae (Melastomataceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, p. 335-339, 2005.

MIMURA, M. R. M.; SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F. Distribution of flavonoids and taxonomy of *Huberia* (Melastomataceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 27-34, 2004.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 105-111, 2001.

MONTENEGRO, H. et al. Antiprotozoal activity of flavonoid glycosides isolated from *Clidemia sericea* and *Mosquitoxilon jamaicense*. **Pharmaceutical Biology**, v. 45, p. 376-380, 2007.

MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A. **Medicinal Plants of Brazil**. 1^a ed. Michigan, USA: Reference Publications, 2000.

NIÑO, J. et al. In vitro inhibition of acetylcholinesterase by crude plant extracts from Colombian flora. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 7, p. 783-785, 2006.

ODIMEGWU, D.C. et al. Wound healing and antibacterial activities of the extract of *Dissotis theifolia* (Melastomataceae) stem formulated in a simple ointment base. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.2, n.1, p.11-16, 2008.

OKERI, H. A.; ALONGE, P. O. Determination of the ascorbic acid content of two medicinal plants in Nigeria. **Pak. J. Pharm. Sci.**, v. 19, n. 1, p. 39-44, 2006.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K.. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1998.

OMULOKOLI, E.; KHAN, B.; CHHABRA, S. C. Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 56, p. 133-137, 1997.

PAGE, C. et al. **Farmacologia integrada**. Segunda Edição, São Paulo: Editora Manole Ltda., 2004.

PEREIRA, Z. V.; MEIRA, R. M. S. A.; AZEVEDO, A. A. Morfoanatomia foliar de *Palicourea longepedunculata* Gardiner (Rubiaceae). **Revista Árvore**, v. 27. n. 6, p. 759-767, 2003.

PIETA, P. G.; MAURI, P. L. Application of micellar eletrokinetic capillary chromatography to the determination of flavonoids drugs. **Journal of Chromatography**, v. 549, p. 367-373, 1991.

PIVA, M. G. **O caminho das plantas medicinais – Estudo Etnobotânico**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Mondrian, 2002.

PLOTKIN, M. J. **Ethnobotany and Conservation of the tropical forest with Special Reference to the Indians of Southern Suriname**. Ph.D Disertation. Tufts University. 1986.

PLOTKIN, M. J.; BOOM, B. M.; ALLISON, M. The ethnobotany of Aublet's *histoire des plantes de la Guiane Française* (1775). **Monographs in Systematic Botany**, v. 35, p. 1-108, 1991.

REIS, C.; BIERAS, A. C.; SAJO, M. G. Anatomia foliar de Melastomataceae do Cerrado do Estado de São Paulo. **Revista Brasil. Bot.**, v. 28, n. 3, p. 451-466, 2005.

RENNER, S. S. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. **Nordic. Journal of Botany**, v. 13, p. 519-540, 1993.

RENNER, S. S. **The Ecology of Papua - Melastomataceae of Papua**. Marshall, A. J. and Beehler, B. M. 2006, p. 399-403.

RIETZ, G. E. Du. On domatia in the genus *Nothofagus*. **Svesk botanisk Tidskrift**, v. 24, n. 4, p. 505-510, 1930.

RIBEIRO, J. E. L. da S. et al. **Flora da reserva Ducke**. Manaus: INPA. 1999.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; YLER, V. E. **Farmacognosia – Farmacobiotechnologia**. São Paulo, Editorial Premier, 1997.

RODRIGES, J. et al. Na unusual C₆ – C₆" linked from *Miconia cabu* (Melastomataceae). **Phytochemistry**, v. 68, p. 1781-1784, 2007.

ROMERO, R. Revisão taxonômica de *Microlicia* sect. *Chatostomoides* (Melastomataceae). **Revista Brasil. Bot.**, v. 26, n. 4, p. 429-435, 2003.

ROMERO, R. e MARTINS, A. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais. **Rev. Brasil. Bot.**, v. 25, n. 1, p. 19-24, 2002.

SALUCIC, M. et al. Flavonoids uptake and their effect on cycle of human colon adenocarcinoma cells (Caco2). **British Journal of Cancer**, v. 86, p. 1645-1651, 2002.

SARGENTI, S.R.; VICHNEWSKI, W. Sonication and liquid chromatography as a rapid technique for extraction and fractionation of plant material. **Phytochem. Anal.**, v.11, p. 69-73, 2000.

SCALBERG, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition.**, v. 130, p. 2073-2085, 2000.

SCHENKEL. E. P.; GOSMAN, G.; PETROVICK, P. R. **Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos – Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Rio Grande do Sul: UFSC, 2000.

SCHWABE, H. Sobre una particularidad de la anatomia foliar de *Tibouchina mathaei* Cgn. (Melastomataceae). **Boletin de la Sociedad Argentina de Botanica**, v. 1, n. 4, p. 287-289, 1946.

SOUZA, R. S. C.; MARQUETE, O. *Miconia tristis* Spring e *Miconia dorianae* Cogn. (Melastomataceae): anatomia do eixo vegetativo e folhas. **Rodriguesia**, v. 51, p. 134-142, 2000.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática – Guia ilustrado para a identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseada em APG II**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2005.

SPESSOTO, M. A. et al. Evaluation of the analgesic of extracts of *Miconia rubiginosa* (Melastomataceae). **Phytomedicine**, v. 10, p. 606-609, 2003.

STALCUP, M. M. **Plantas de uso medicinal ou ritual numa feira livre no Rio de Janeiro**, Brasil. Dissertação de Mestrado, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2000.

STEENBOCK, W. **Buscando a nossa farmacopéia**. Paraná: Grafel, 2000.

STEVENS, J. F. et al. Leaf surface flavonoids of *Chrysothamnus*. **Phytochemistry**, v.51, p.771-780, 1999.

SU, J. D. et al. Tannin antioxidants from *Osbeckia chinensis*. **Phytochemistry**, v. 27, pp. 1315-1319, 1988.

SU, Y. P., ZHOU, S. Y.; LIU, J. Q. Determination of anti-microbial activity and the content of flavonoids of *Melastoma affine*. **J. of Plant Resources and Environment**, v. 14, pp. 56-57, 2005.

SUSANTI, D. et al. Antioxidant and cytotoxic flavonoids from the flowers of *Melastoma malabathricum* L. **Food Chemistry**, v. 103, p. 710-716, 2007.

SWAIN, T. **Em pigments in plants**. Czygan. F., ed., Fisher: Stuttgart, 1980, 224 p.

TALEB-CONTINI, S. H. et al. Detection of flavonoids in glandular trichomes of *Chromolaena* species (Eupatorieae, Asteraceae) by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 2, p. 315-321, 2007.

TERAHARA, N. et al. A diacylated anthocyanin from *Tibouchina urvilleana* flowers. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 3, p. 335-340, 1993.

THEOBALD, W. L.; KRAHULIK, J. L.; ROLLINS, R. Trichomes description and classification. **Anatomy of the dicotyledons**. Second edition, Oxford England, Clarendon Press., v. 1, 1979.

TIWARI, S. **Ethnomedicine of the Patamona Indians of Guyana**. Dissertation. Bronx, New York: City University of New York (Lehman College). 1999.

VASCONCELOS, M. A. L. et al. *In vivo* Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of Ursolic Acid and Oleanoic Acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae). **Z. Naturforsch.** v.61, p.477-482, 2006.

VEIGA Jr., V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? **Quim. Nova**, v. 28, p.519, 2005.

VENTURA, C. P.; OLIVEIRA, A. B. de and Antimicrobial activity of *Trembleya laniflora*, *Xyris platystachia* and *Xyris pterygoblephara*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, Nº 1, pp 17-22, 2002.

VENTURA, C. P. et al. A flavanone and other constituents of the Brazilian endemic species *Trembleya laniflora* (D. Don) Cogn. (Melastomataceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 40-41, 2007.

VETTER, J. Plant cyanogenic glycosides. **Toxicon**, v. 38, p. 11-36, 2000.

VIEIRA, R. F.; MARTINS, M. V. M. Recursos genéticos de plantas medicinais do cerrado: uma compilação de dados. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 3. n. 1, p. 13-26, 2000.

VILEGAS, W. et al. Constituintes químicos de *Cambessedesia espora* DC – Melastomataceae. **Rev. Ciênc. Farm.**, v. 19, n. 2, p. 235-241, 1998.

Von REIS, S.; LIPP, F. J. **New plant sources for drugs and foods from the New York Botanical Garden Herbarium**. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 1982.

WAGNER, G. L.; WANG, E.; SHEPHERD, R. W. New approaches for studying and exploiting an old protuberance the plant trichome. **Annals of Botany**, v. 93, p. 3-11, 2004.

WALGREN, R. A.; WALLE, U. K.; WALLE, T. Transport of quercetin and its glucosides across human intestinal epithelial Caco2. **Bioch. Pharmacol.**, v. 55, p. 17721-17727, 1998.

WARIDEL, P. et al. Identification of the polar constituents of *Potamogeton* species by HPLC-UV with post-column derivatization, HPLC-MSⁿ and HPLC-NMR, and isolation of a new *ent*-labdane diglycoside. **Phytochemistry**, v. 65, p. 2401-2410, 2004.

WATERMAN, P.G.; MOLE, S. Why are phenolic compounds so important?. In: WATERMAN, P.G.; MOLE, S. **Analysis of phenolic plant metabolites**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, cap.3, p. 44-65, 1994.

WILLIAMS, C.A.; DEMISSIE, A.; HARBORNE, J.B. Flavonoids as taxonomic markers in old-world *Lupinus* species. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 19, n. 1, p. 81-86, 1983.

WILSON, I.D.; BRINKMAN, U.A.T. Hyphenation and hypernation the practice and prospects of multiple hyphenation. **J. Cromatogr. A**, v. 1000, p. 325-356, 2003.

WOLLENWEBLEEN, E.; ROITMAN, J. N. A novel methyl ether of quercetagenin from *Chromolaena odorata* leaf exudates. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 24, n. 5, p. 479-480, 1996.

WURDACK, J. J. Atlas of hair for neotropical Melastomataceae. **Smithsonian Contribution to Botany**, v. 63, p. 1-80, 1986.

YAMAURA, T.; TANAKA, S.; TABATA, M. Light-dependent formation of glandular trichomes and monoterpenes in thyme seedlings. **Phytochemistry**, v. 28, p.741-744, 1989.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO. **Breve histórico da química de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármacos segundo os paradigmas ocidental e oriental – Plantas Medicinais: sob a ótica da química medicinal moderna**. Argos – Editora Universitária, 2001.

ZAKARIA, Z. A. et al. Antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic properties of *Melastoma malabathricum* leaves aqueous extract in experimental animals. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 84, p. 1291-1299, 2006.

ZHANG, J.; BRODBELT, J.S. Structural characterization and isomer differentiation of chalcones by electrospray ionization tandem mass spectrometry. **J. Mass Spectrom.**, v. 38, p. 555-572, 2003.

ZHANG, Q. et al. Flavanone glycosides from *Miconia trailii*. **J. Nat. Prod.**, v. 66, p. 39-41, 2003.

ZHANG, Q. et al. A new triterpene from *Leandra chaetodon*. **Pant. Med.**, v. 69, p. 579-582, 2003.

ZIDORN, C.; STUPPNER, H. Evaluation of chemosystematic characters in the genus *Leontodon* (Asteraceae). **Taxon**, v. 50, p.115-133, 2001.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)