UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

ESCOLA DE FARMÁCIA

DANIELA MORAES E SOUZA

PERFIS CROMATOGRÁFICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE *Miconia albicans*

OURO PRETO

2023

DANIELA MORAES E SOUZA

PERFIS CROMATOGRÁFICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE *Miconia albicans*

Trabalho de Conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal de Ouro Preto.

Orientadora: Profa. Dra. Dênia Antunes Saúde Guimarães

OURO PRETO

2023

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE FARMACIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Daniela Moraes e Souza

Perfis cromatográficos e atividade antioxidante de extratos de *Miconia albicans*

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal
de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutica

Aprovada em 29 de agosto de 2023

Membros da banca

Dra. Dênia Antunes Saúde Guimarães - Orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Dra. Zilma Schimith Ferraz Filha - Instituto Federal de Minas Gerais/Campus Ouro Preto
Dr. Sidney Augusto Vieira Filho - Universidade Federal de Ouro Preto

Dênia Antunes Saúde Guimarães, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 15/02/2024

Documento assinado eletronicamente por **Denia Antunes Saude Guimaraes**, **PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 15/02/2024, às 17:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0 , informando o código verificador **0668325** e o código CRC **C4C8A7F5**.

R. Diogo de Vasconcelos, 122, - Bairro Pilar Ouro Preto/MG, CEP 35402-163
Telefone: (31)3559-1069 - www.ufop.br

RESUMO

A *Miconia albicans* é popularmente conhecida como canela-de-velho, pertencente à família Melastomataceae e apresenta ampla distribuição pelo Brasil. Já foram descritas diversas propriedades benéficas para a espécie, dentre elas a atividade antioxidante. Os antioxidantes são substâncias que inibem ou diminuem a concentração de radicais livres, que podem ocasionar diversos problemas patológicos. O presente trabalho teve como objetivo obter os perfis cromatográficos, avaliar a atividade antioxidante e determinar o teor de conteúdo fenólico nos extratos etanólico e aquoso das partes aéreas da *Miconia albicans.* A análise do cromatograma do extrato etanólico por CLAE-DAD, sugeriu a presença do ácido elágico. Para o extrato aquoso não foi possível identificar os metabólitos secundários presentes. Na avaliação da atividade antioxidante, o extrato etanólico apresentou melhores resultados que o aquoso. No teste de captura do radical DPPH, o valor obtido da CE_{50} para o extrato etanólico foi de 42,34 µg/mL e no teste do ABTS o valor de TEAC foi de 2,86, indicando atividade antioxidante significativa. Na determinação do conteúdo fenólico total, os extratos etanólico e aquoso apresentaram valores, respectivamente, de 42,19 e 4,12 mg de ácido gálico/ g de extrato. Os resultados obtidos demonstraram que o extrato aquoso de *Miconia albicans* não apresentou atividade antioxidante significativa justificado pelo baixo teor de compostos fenólicos apresentado. O extrato etanólico mostrou atividade antioxidante nos dois métodos utilizados, justificada pelo teor significativo de compostos fenólicos. O extrato etanólico das partes aéreas da *Miconia albicans* se mostrou promissor na busca de novos antioxidantes de origem natural.

Palavras chaves: *Miconia albicans;* Antioxidante; Conteúdo fenólico; Perfil cromatográfico; DPPH; ABTS.

ABSTRACT

Miconia albicans is popularly known as canela-de-velho, belonging to the Melastomataceae family and is widely distributed throughout Brazil. Several beneficial properties for the species have already been described, among them the antioxidant activity. Antioxidants are substances that inhibit or reduce the concentration of free radicals, which can cause various pathological problems. The objective of this work was to obtain the chromatographic profiles, evaluate the antioxidant activity and determine the phenolic content in the ethanolic and aqueous extracts of the aerial parts of *Miconia albicans*. Analysis of the chromatogram of the ethanolic extract by HPLC-DAD suggested the presence of ellagic acid. For the aqueous extract it was not possible to identify which secondary metabolites were present. In the evaluation of the antioxidant activity, the ethanolic extract presented better results than the aqueous one. In the DPPH radical capture test, the EC50 value obtained for the ethanolic extract was 42.34 µg/mL and in the ABTS test the TEAC value was 2.86, indicating significant antioxidant activity. In determining the total phenolic content, the ethanolic and aqueous extracts showed values, respectively, of 42.19 and 4.12 mg of gallic acid/g of extract. The obtained results demonstrated that the aqueous extract of *Miconia albicans* did not present significant antioxidant activity justified by the low content of phenolic compounds presented. The ethanol extract showed antioxidant activity in both methods used, justified by the significant content of phenolic compounds. The ethanolic extract of the aerial parts from *Miconia albicans* showed promise in the search for new antioxidants of natural origin.

Keywords: *Miconia albicans*; Antioxidant; Phenolic content; Chromatographic profile; DPPH; ABTS.

LISTA DE ABREVIATURAS

AAPH: dicloreto de 2,2-Azobis(2-metilpropionamidina);

ABTS: Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico);

ABTS $^{\bullet+}$: Radical do ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico);

ARR: Atividade de retirada radical;

BHA: Hidroxianisol butilado;

BHT: Hidroxitolueno butilado;

CLAE: Cromatografia à líquido de alta eficiência.

CLAE/DAD: Cromatografia à líquido de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de fotodiodos;

CE_{50}: Concentração necessária para reduzir 50% do radical;

DAD: Detector de arranjo de fotodiodos;

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazila;

EAMA: Extrato aquoso de *Miconia albicans*;

EEMA: Extrato etanólico *Miconia albicans*;

PTP1B: Proteína tirosina fosfatase 1B;

TEAC: Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox;

UV: Ultravioleta

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Condições para obtenção dos perfis cromatográficos dos extratos aquoso e etanólico de *Miconia albicans*.....27
Tabela 2: Conteúdo fenólico dos extratos etanólico (EEMA) e aquoso (EAMA) das partes aéreas de *Miconia albicans* 36
Tabela 3: Atividade antioxidante dos extratos etanólico (EEMA) e aquoso (EAMA) de *Miconia albicans* pelo método de captura do radical DPPH.....38
Tabela 4: Valores da concentração dos extrato etanólico (EEMA) e aquoso (EAMA) de *Miconia albicans*, quercetina e trolox em µg/mL que reduz 50% do radical livre $(\mathrm{CE50})$ DPPH 38
Tabela 5: Valores de TEAC para os extratos etanólico (EEMA) e aquoso (EAMA) das partes aéreas de *Miconia albicans* 39

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Classes de metabólitos secundários encontradas em extratos da *M. albicans.* 15

Q**uadro 2**: Metabólitos secundários e atividades farmacológicas apresentadas para *Miconia albicans* 20

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estruturas químicas do hidroxitolueno butilado (BHT) e do Terc-butil-4-hidroxianisol (BHA).....10
Figura 2: Arbusto da *Miconia albicans*.....13
Figura 3: Folhas de *Miconia albicans* 13
Figura 4: Flores de *Miconia albicans* 14
Figura 5: Frutos de *Miconia albicans*.....14
Figura 6: (A) Percolação do material vegetal com água ; (B) Retirada do solvente por rotaevaporação sob pressão reduzida a 40º C. 23
Figura 7: (1) Extrato etanólico e (2) Extrato aquoso.....31
Figura 8: Perfil cromatográfico do extrato etanólico de *Miconia albicans* extraído a 265 nm *e* espectro no ultravioleta (250-280 nm).....32
Figura 9: Perfil cromatográfico do extrato aquoso de *Miconia albicans* extraído a 265 nm *e* espectro no ultravioleta (250-280 nm).....33
Figura 10: Sobreposição dos perfis cromatográficos do extrato aquoso (azul) e do extrato etanólico (preto) de *Miconia albicans* obtidos por CLAE e extraídos a 265 nm 34
Figura 11: Soluções de ácido gálico em diferentes concentrações: Tubo 1: 50 µg/mL, Tubo 2: 40 µg/mL, Tubo 3: 30 µg/mL, Tubo 4: 20 µg/mL e Tubo 5: 10 µg/mL 34
Figura 12: Curva analítica padrão do ácido gálico 35
Figura 13: (A) Solução do extrato etanólico a 100 µg/mL, antes de incubar em estufa a 32ºC por 30 minutos. (B) Depois de incubar em estufa a 32ºC por 30 minutos. 37
Figura 14: Da esquerda para a direita são apresentadas soluções do extrato etanólico nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50 e 100 µg/mL.....37
Figura 15: Curva padrão de trolox e equação da reta.....39

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Metodologia para o ensaio do conteúdo fenólico 28
Esquema 2: Metodologia para o ensaio de captura do radical DPPH.....29
Esquema 3: Metodologia para o ensaio de captura do radical $ABTS^{\bullet+}$.....30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 10

2 EMBASAMENTO TEÓRICO 12

2.1 Miconia albicans 12

2.2 Metabólitos secundários 14

2.3 Atividades farmacológicas 18

3 JUSTIFICATIVA 21

4 OBJETIVOS 22

4.1 Objetivo geral 22

4.2 Objetivos específicos 22

5 METODOLOGIA 23

5.1 Coleta da espécie vegetal 23

5.2 Preparo dos extratos 23

5.3 Preparo das soluções 24

5.4 Obtenção dos perfis cromatográficos 26

5.5 Avaliação do conteúdo fenólico dos extratos 28

5.6 Avaliação da atividade antioxidante dos extratos etanólico e aquoso 28

5.7 Análise estatística 30

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO 31

6.1 Rendimento dos extratos 31

6.2 Perfis cromatográficos dos extratos 31

6.3 Avaliação do conteúdo fenólico com o reagente de Folin-Ciocalteu ..34

6.4 Avaliação da atividade antioxidante dos extratos etanólico e aquoso 36

7 CONCLUSÃO 40

8 REFERÊNCIAS 41

1 INTRODUÇÃO

Os radicais livres são moléculas que apresentam um elétron não emparelhado conferindo alta reatividade (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1990; FERREIRA e MATSUBARA, 1997). Sua produção pode ocorrer por mecanismos endógenos e exógenos. A formação dos radicais livres por fontes endógenas é resultado de processos que normalmente ocorrem no organismo e que apresentam papéis importantes, como a ação das oxigenases, cicloxigenases e lipoxigenases que liberam radicais livres durante a metabolização dos substratos (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; SOARES, 2002). Contudo, a sua alta produção pelo organismo pode levar ao estresse oxidativo, o que está relacionado com diversos problemas patológicos, como envelhecimento, desenvolvimento de câncer, aterosclerose e inflamação (FERREIRA E MATSUBARA, 1997).

Os antioxidantes são substâncias que em baixas concentrações e por meio de diversos mecanismos são capazes de diminuir e/ou inibir a produção e ação dos radicais livres, gerando produtos estáveis (SOUSA et al., 2007).

Os seres vivos apresentam diversas formas de obtenção de antioxidantes para o controle da produção de radicais livres. Esses podem ser obtidos de forma endógena e por nutrientes presentes na alimentação, como por exemplo a vitamina C e os carotenóides. Porém com a carência dessas substâncias no organismo os radicais livres acumulam e provocam diversos problemas (SOUSA et al., 2007). Dessa forma, cada vez mais cresce o interesse por estudos nessa área, principalmente na descoberta de novas fontes de antioxidantes.

Os antioxidantes podem ser classificados a partir de suas fontes em sintéticos e derivados de fontes naturais (SILVA, 2021). O hidroxitolueno butilado (BHT) e o hidroxianisol butilado (BHA) (Figura 1) são exemplos de antioxidantes sintéticos. Estudos demonstraram que alguns antioxidantes sintéticos apresentaram efeitos tóxicos podendo trazer prejuízo à saúde humana (SOUSA et al., 2007).

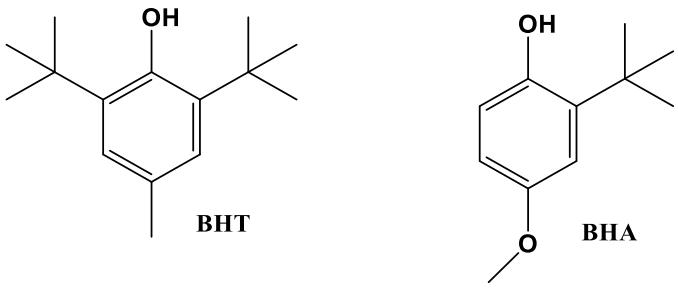


Figura 1: Estruturas químicas do di-*terc*-butil metil fenol (BHT) e do Terc-butil-4-hidroxianisol (BHA)

Os derivados de fontes naturais podem ser obtidos de extratos vegetais (SILVA, 2021). Sendo assim e em vista dos possíveis problemas que os antioxidantes podem provocar, cresce o interesse em encontrar novos antioxidantes de fonte natural.

A *Miconia albicans*, pertencente à família Melastomataceae, é conhecida popularmente como Canela-de-velho (TOMÉ et al., 2019). A espécie pode ser encontrada em diversas regiões do Brasil (MARTINS et al., 1996). Algumas das atividades farmacológicas já relatadas foram: anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, analgésica, antidiabética entre outras (LOPES, 2022).

2 EMBASAMENTO TEÓRICO

2.1 Miconia albicans

“Canela-de-velho”, "maria branca", “lacre-branco”, “folha-branca” ou “quaresma-falsa” são alguns dos nomes populares encontrados para a *Miconia albicans* (Sw.) Steud (CARREIRA 2004; TOMÉ et al*.,* 2019). Esta planta pertence à família Melastomataceae que apresenta importância devido a sua diversidade de espécies, sendo o maior número encontrado no gênero *Miconia* (MARTINS et al., 1996).

A espécie é um arbusto com aproximadamente 2,5 metros de altura (Figuras 2 a 5), sendo característica do cerrado e savanas, no entanto, pode ser encontrada em várias regiões do Brasil (MARTINS et al., 1996). Suas folhas (Figura 3) são simples com coloração verde-escura, oblonga, com aproximadamente 5 cm (MARTINS et al*.,* 1996; TOMÉ et al*.,* 2019). Suas flores (Figura 4) são pentâmeras e brancas e o seu fruto (Figura 5) é do tipo baga com cor variando de verde-jade a violeta, quando maduro. No estudo de Tomé e colaboradores (2019), a época de floração observada foi no início de agosto e a frutificação entre outubro e dezembro. Carreira (2004) em seus estudos observou que a floração da *M. albicans* ocorria entre julho e setembro e entre agosto e outubro, em áreas diferentes e simultaneamente à floração, ocorria a frutificação.

O uso popular da *M. albicans* a partir da infusão de suas folhas e/ou caule, ocorre principalmente para tratar dores articulares como artrite, dores reumáticas e tendinite (CÂNDIDO, 2018; BRASIL, 2019; HAMANN, 2020). Também já foram relatados outros usos como para tratar problemas gástricos e infecções geniturinárias (LISBOA, 2017; LOPES, 2022).

Figura 2: Foto do arbusto da *Miconia albicans*
Fonte: Mercadante M.
Disponível em: <https://jbb.ibict.br/handle/1/957> acesso em: 29 de maio de 2023

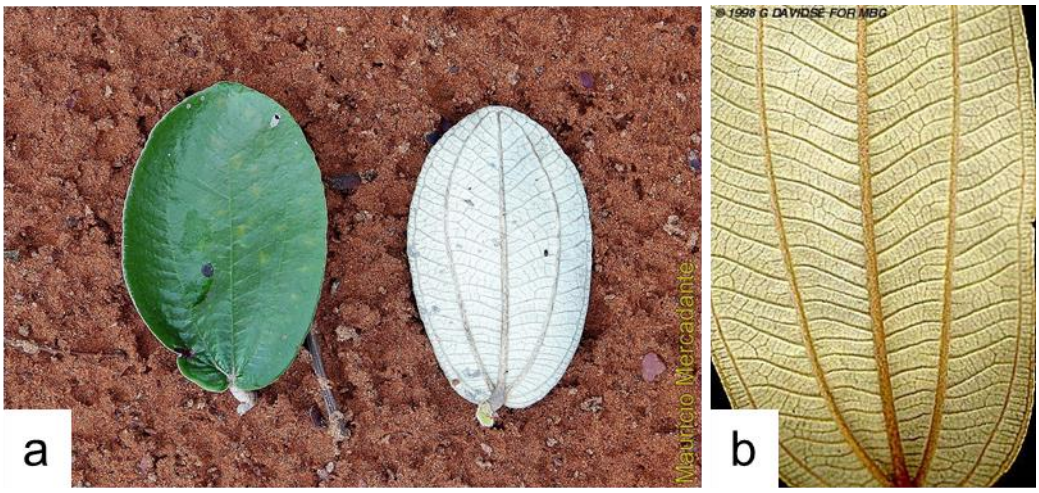


Figura 3: Foto de folhas de *Miconia albicans*
Fonte

Figura 3 (a): Mercadante M. Disponível em: <https://jbb.ibict.br/handle/1/957> acesso em: 29 de maio de 2023
Figura 3 (b): Gerrit Davidse <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0001078809#carousel> acesso em: 02 de dezembro de 2023

Figura 4: Foto das flores de *Miconia albicans*
Fonte : Mercadante M.
Disponível em: <https://jbb.ibict.br/handle/1/957> acesso em: 29 de maio de 2023

Figura 5: Foto dos frutos de *Miconia albicans*
Fonte: Frutos atrativos de goiás
Disponível em: http://www.frutosatrativosdocerrado.bio.br/76-especies/30-frutos-pequenos/155-pixirica-1 > acesso em: 29 de maio de 2023

2.2 Metabólitos secundários

É importante destacar que os constituintes de uma planta variam de acordo com aspectos ambientais como: solo, os nutrientes disponíveis, clima, regime de ventos, região onde a planta foi coletada, entre outros fatores (SILVA et al*.*, 2021).

Flavonoides, taninos, ácido oleanólico, ácido ursólico e triterpenos, são alguns dos metabólitos secundários encontrados na *Miconia albicans.* No Quadro 1 estão descritas as principais classes de metabólitos secundários encontradas em diferentes partes da planta. Tomé e colaboradores (2019) realizaram uma triagem fitoquímica de

extratos da *Miconia albicans* que revelou a presença de cumarinas, triterpenos, taninos, heterosídeos cardiotônicos, flavonoídicos e saponínicos.

Quadro 1: Classes de metabólitos secundários encontradas em extratos da *M. albicans.*

Parte da planta	**Extrato**	**Metabólitos secundários**	**Referência**
Folhas	Etanólico	Cumarinas Heterosídeos de Flavonoides Taninos Saponinas triterpênicas Heterosídeos cardiotônicos	TOMÉ et al., 2019
Folhas	Etanólico	Saponinas Ácidos orgânicos Açúcares redutores Fenóis Taninos Flavonoides Depsídeos e depsidonas Alcaloides	COUTINHO et al., 2020
Folhas	Etanólico	Esteróides Triterpenóides Flavonoides Saponinas Taninos Alcaloides Cumarinas	ALVES, 2016

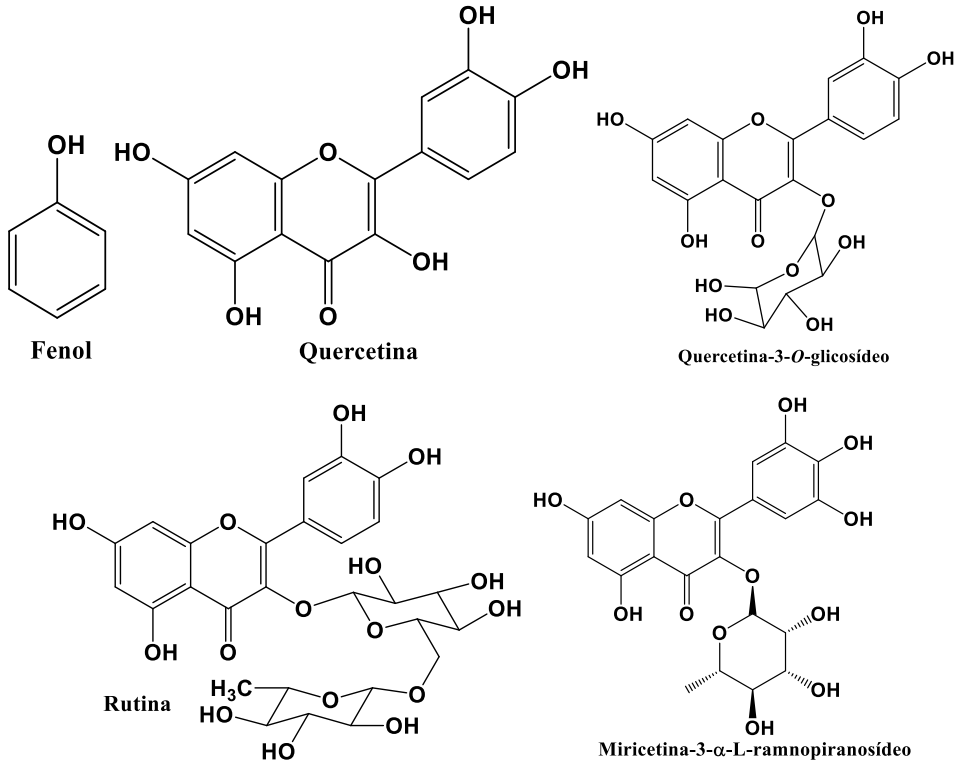
Nos estudos de Hamann e colaboradores (2020) foram identificadas as presenças de nove compostos fenólicos em extratos da *M. albicans*, entre eles o ácido gálico.

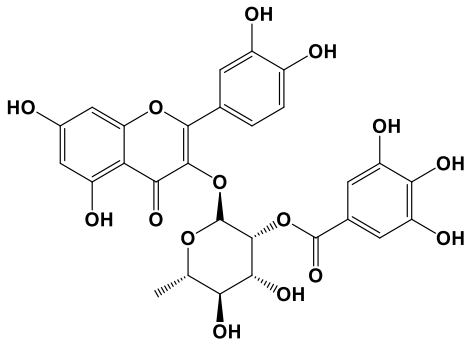
Os triterpenos pentacíclicos ácido oleanólico e ácido ursólico, que possuem atividade antioxidante, também foram isolados da planta (VASCONCELOS, 2006).

Os compostos fenólicos de plantas são substâncias que possuem em suas estruturas químicas ao menos um anel aromático com pelo menos um hidrogênio substituído por uma hidroxila (MONTEIRO, 2017).

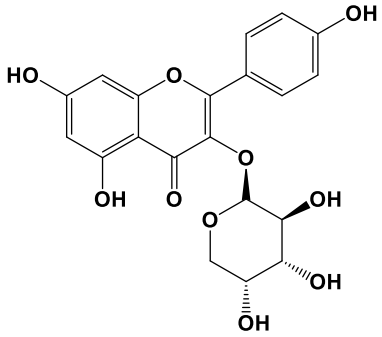
Compostos fenólicos apresentam potencial antioxidante, que vêm ganhando destaque, por inibir a peroxidação lipídica e a lipoxigenase (NIJVELDT et al., 2001). Demonstraram capacidade redutora e, devido a presença de anel aromático, os produtos formados são estabilizados através de ressonância com o anel, constituindo fatores que colaboram para sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).

Os extratos de *M. albicans* se mostraram ricos em compostos fenólicos, principalmente flavonoides. A seguir são mostradas as estruturas químicas do ácido fenólico e de flavonoides isolados de *M. albicans* (PIERONI et al., 2011; LIMA et al., 2018).

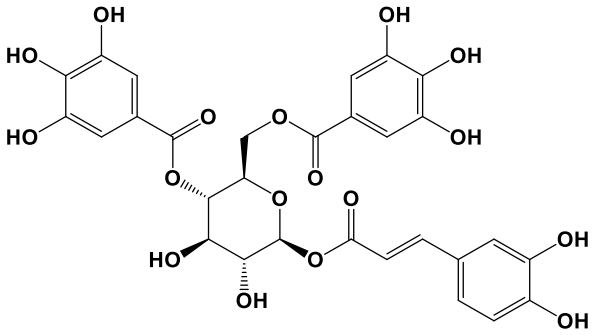




Quercetina-3-O-(2"-galoil)-α-L-raminopiranosídeo

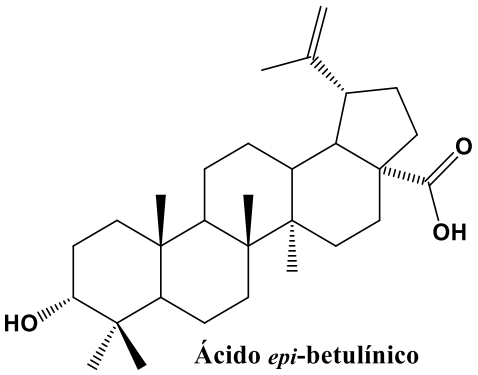


Kaempferol-3-O-α-L-arabinopiranosídeo

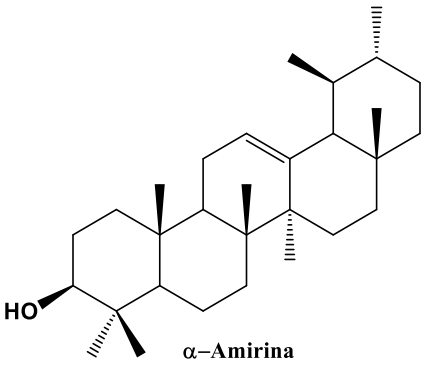


1-O-(E)-cafeoil-4,6-di-O-galoil-α-D-glicopiranosídeo

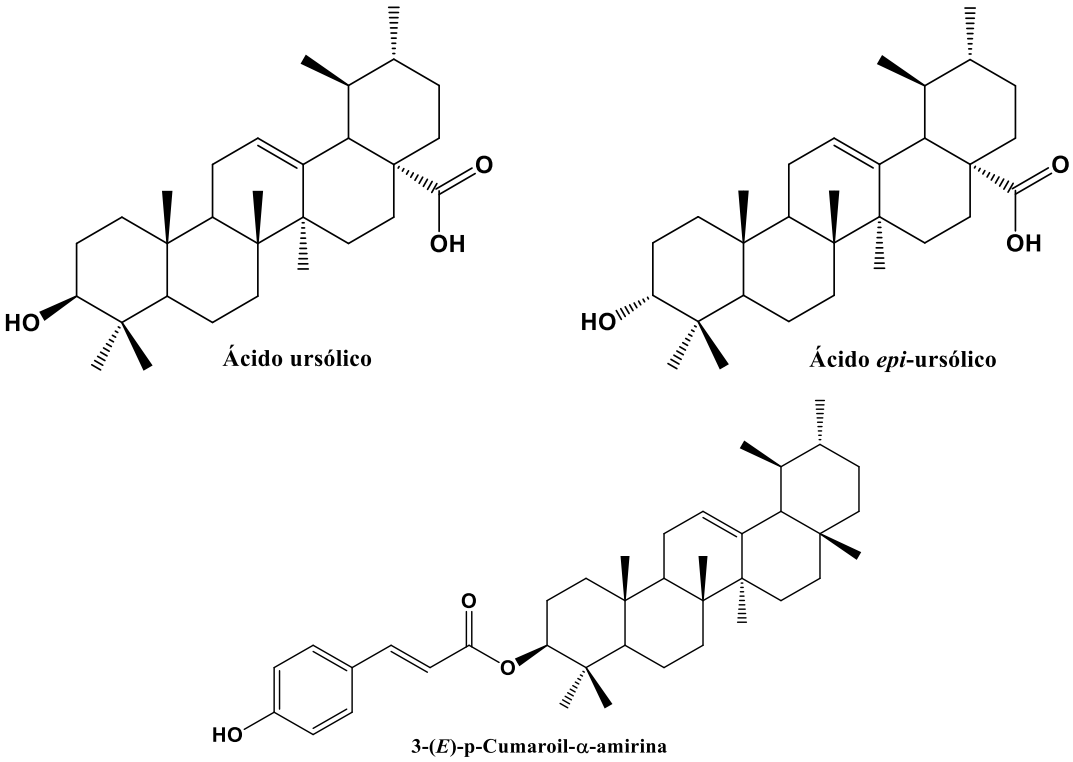
Além de compostos fenólicos foram isolados da *M. albicans* os triterpenóides cujas estruturas químicas são ilustradas a seguir (PIERONI et al., 2011; LIMA et al., 2018).



Ácido *epi*-betulínico



α–Amirina



2.3 Atividades farmacológicas

Estudos realizados demonstram que a *Miconia albicans* possui importantes propriedades. Lopes (2022) realizou uma revisão bibliográfica sobre as atividades farmacológicas da *M. albicans*, mostrando que a espécie possui efeito anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, ansiolítica, anticonvulsivante, analgésica, antidiabética e propriedades antiofídicas.

Diversos pesquisadores já avaliaram a capacidade antioxidante da *Miconia albicans.* Pieroni e colaboradores (2011) estudaram os efeitos do extrato metanólico das folhas, a fração n-butanólica e dos compostos isolados dos extratos, quercetina-3-*O* glucosídeo, rutina e quercetina, frente aos radicais dicloreto de 2,2-Azobis(2-metilpropionamidina) (AAPH) e 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). O extrato metanólico, a fração e os compostos isolados apresentaram capacidade significativa de sequestro dos radicais livres.

Lima e colaboradores (2020), avaliaram as atividades antioxidante *in vitro* e anti-inflamatória *in vivo* do extrato etanólico das folhas de *Miconia albicans*, sendo que

os constituintes químicos principais do extrato foram a rutina e a quercetina. No estudo foi observado que o extrato apresentou atividade antioxidante e anti-inflamatória significativa e também que em partes a atividade apresentava uma correlação com a presença dos metabólitos rutina e quercetina.

Vasconcelos e colaboradores (2006) avaliaram a atividade anti-inflamatória e antinociceptiva *in vivo*, dos ácidos ursólico e oleanólico, que foram os metabólitos predominantes, isolados do extrato diclorometânico das partes aéreas da *Miconia albicans*. E observaram bons resultados relacionados à atividade anti-inflamatória e antinociceptiva quando os compostos foram administrados individualmente.

Lima e colaboradores (2018) demonstraram a capacidade do extrato acetato etílico das folhas de *Miconia albicans* em inibir a proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B), demonstrando a atividade antidiabética. Estes autores apontaram as presenças no extrato ativo de cinco flavonoides e oito triterpenóides que poderiam ser os responsáveis pela atividade apresentada.

No Quadro 2 é mostrado um resumo das atividades já estudadas, os possíveis metabólitos responsáveis pelas atividades, bem como a parte da *Miconia albicans* e o extrato usados.

Quadro 2: Metabólitos secundários e atividades farmacológicas apresentadas para *Miconia albicans*

Atividade	**Parte da planta**	**Extrato**	**Metabólito/ Fração**	**Referência**
Anti-inflamatória	Partes aéreas	Cloreto de metileno	Ácido ursólico Ácido oleanólico	VASCONCELOS et al, 2006
	Folhas	Etanólico	Rutina Quercetina	LIMA et al, 2020
Antinociceptiva	Partes aéreas	Cloreto de metileno	Ácido ursólico Ácido oleanólico	VASCONCELOS et al, 2006
Antioxidante	Folhas	Metanólico	n-butanólica Quercetina-3-*O* glucosídeo, Rutina Quercetina	PIERONI et al, (2020)
	Folhas	Etanólico	Rutina Quercetina	LIMA et al, 2020
Antimicrobiana	Partes aéreas	Etanólico	Ácidos triterpênicos	CELOTTO et al, 2003
Antidiabética	Folhas	Acetato de etila	Flavonoide Triterpenoides	LIMA et al, 2018

3 JUSTIFICATIVA

O presente trabalho se justifica pela necessidade de novos antioxidantes de fonte naturais, em vista dos possíveis efeitos prejudiciais que os sintéticos podem provocar. Estudos com espécies vegetais contribuem para o desenvolvimento de novas terapias. A *Miconia albicans* é uma espécie promissora por possuir ampla distribuição no Brasil, o que permitiria fácil acesso, além de apresentar diversas propriedades farmacológicas benéficas já relatadas. Os constituintes químicos identificados ou isolados da *M. albicans* justificam seu potencial antioxidante.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Obter os perfis cromatográficos e avaliar a atividade antioxidante dos extratos das partes aéreas da *Miconia albicans* em diferentes métodos.

4.2 Objetivos específicos

4.2.1 Obter os perfis cromatográficos dos extratos etanólico e aquoso da *Miconia albicans* por Cromatografia à Líquido de Alta Eficiência acoplada a detector de arranjo diodo (CLAE-DAD).

4.2.2 Analisar o teor de compostos fenólicos nos extratos.

4.2.3 Avaliar *in vitro* a atividade antioxidante dos extratos de *Miconia albicans*, pelos métodos de captura dos radicais DPPH e $ABTS^{\cdot+}$.

5 METODOLOGIA

5.1 Coleta da espécie vegetal

As partes áreas de *Miconia albicans* (Sw.) Steud, foram coletadas no município de Mariana, MG, em novembro de 2019. Uma exsicata foi preparada e depositada no herbário da Universidade Federal de Ouro Preto, para a identificação botânica da espécie vegetal coletada. O acesso ao patrimônio genético foi cadastrado no SISGEN/Ministério do Meio Ambiente, Cadastro nº A034C7F.

5.2 Preparo dos extratos

As partes aéreas do material vegetal foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar, sem que a temperatura ultrapasse 40º C, resultando em 4,00 kg de planta seca. Posteriormente foram pulverizadas em moinho de facas e extraídas exaustivamente por percolação (Figura 6- A) com etanol e água. A planta seca pulverizada (2,00 kg) foi extraída, por percolação, com etanol PA até o esgotamento do material vegetal. Para o extrato aquoso, 100,00 g do material vegetal foram extraídos com 1,35 L de água deionizada, aquecida a 40ºC. Os solventes extratores foram eliminados em evaporador rotatório (Figura 6- B). Os extratos foram mantidos em estufa com circulação de ar até pesos constantes, então os extratos etanólico e aquoso secos foram rotulados e armazenados em geladeira.

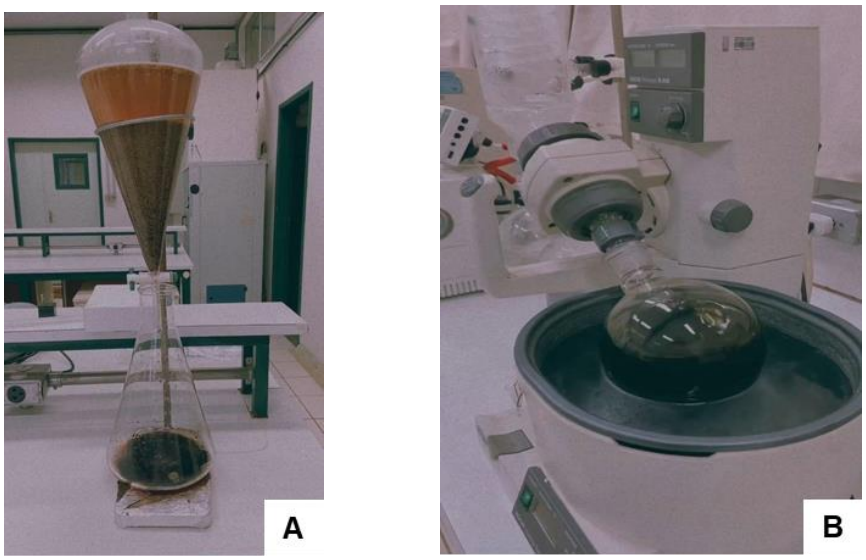


Figura 6: (A) Foto do processo de percolação do material vegetal com água ; (B) Foto da retirada do solvente por rotaevaporação sob pressão reduzida a 40º C.

5.3 Preparo das Soluções

5.3.1 Solução de DPPH

A solução de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) 0,38 mM foi preparada no dia do experimento. Em balança analítica pesou-se 7,50 mg de DPPH que foram transferidos para balão volumétrico de 50,00 mL, o metanol foi adicionado para diluir e aferir o volume, posteriormente, a solução foi protegida da luz, mantida em geladeira e em banho de gelo até a sua utilização

5.3.2 Solução dos extratos para o teste do DPPH

Em balança analítica pesou-se 5,00 mg dos extratos etanólico e aquoso de *M. albicans* que foram transferidos para balões volumétricos de 50,00 mL, o metanol e a água foram usados, respectivamente, para solubilizar os extratos etanólico e aquoso e aferir os volumes, obtendo-se soluções finais com concentração de 100,00 µg/mL. Essas soluções foram usadas para preparar diluições nas concentrações de 10,00; 20,00; 30,00; 40,00 e 50,00 µg/mL.

5.3.3 Solução de quercetina para o DPPH

Em balão volumétrico de 10,00 mL adicionou-se 10,00 mg de quercetina, o metanol foi adicionado para solubilizar a quercetina e aferir o volume. A partir dessa solução foram preparadas diluições nas concentrações de 0,50; 1,00; 5,00; 10,00 e 20,00 µg/mL.

5.3.4 Solução de trolox para o teste do DPPH

Para um balão volumétrico de 10,00 mL transferiu-se 1mg de trolox, o metanol foi adicionado para solubilizar o trolox e aferir o volume. A partir dessa solução foram preparadas diluições de 1,00; 5,00; 10,00; 15 ,00 e 20,00 µg/mL.

5.3.5 Solução estoque de ABTS 7mM

Em balança análitica pesou-se 96,00 mg do ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) que foram transferidos para balão volumétrico de 25,00 mL, a água destilada foi usada para solubilizar e aferir o volume. Essa solução foi armazenada sob refrigeração e protegida da luz.

5.3.6 Solução de persulfato 140mM

Em balança analítica pesou-se 75,68 mg de persulfato de potássio que foram transferidos para balão volumétrico de 2,00 mL, a água destilada foi usada para solubilizar o persulfato de potássio e aferir o volume do balão volumétrico. Essa solução foi armazenada sob refrigeração e protegida da luz.

5.3.7 Preparo do radical $ABTS^{\bullet+}$

Em um béquer coberto com papel alumínio, foram adicionados 88,00 µL da solução de persulfato 140 mM e 5,00 mL da solução estoque de ABTS. Essa solução foi incubada a temperatura ambiente, ao abrigo da luz por, no mínimo, 16 horas. Após o tempo de incubação foi adicionado etanol P.A. até que a absorbância estivesse na faixa de 0,70 $\pm$ 0,05 nm no comprimento de onda de 734 nm.

5.3.8 Solução de trolox para o teste do ABTS

No dia do experimento e ao abrigo da luz foi preparada a solução de trolox. Para isso, em balança analítica pesou-se 25,00 mg de trolox, que foram transferidos para balão volumétrico de 50,00 mL. O etanol foi adicionado para solubilizar o trolox e aferir o volume do balão volumétrico. A partir dessa solução foram preparadas diluições nas concentrações de 0,10; 0,50; 1,00; 1,50 e 2,00 mM.

5.3.9 Solução de ácido gálico para a determinação do conteúdo fenólico

Em balança analítica pesou-se 0,50 mg de ácido gálico, que foi transferido para balão volumétrico de 10,00 mL. O metanol foi adicionado para solubilizar o ácido gálico e aferir o volume. A partir dessa solução foram preparadas diluições nas concentrações de 10,00; 20,00; 30,00 e 40,00 µg/mL.

5.3.10 Solução de carbonato de sódio a 10%

Em balança analítica pesou-se 2,50 g de carbonato de sódio que foram transferidos para balão volumétrico de 25,00 mL. A água destilada foi adicionada para solubilizar o carbonato de sódio e aferir o volume do balão.

5.3.11 Soluções dos extratos para a determinação do conteúdo fenólico

Em balança analítica foi pesado 1,00 mg de cada extrato, estes foram transferidos para balões volumétricos de 10,00 mL. O metanol foi adicionado para solubilizar o extrato etanólico e aferir o volume do balão e a água destilada foi adicionada para solubilizar o extrato aquoso e aferir o volume do balão.

5.3.12 Solução do extrato para o teste do ABTS

Em balança analítica pesou-se 1,00 mg de cada extrato, estes foram transferidos para balão volumétrico de 10,00 mL. Metanol e água foram adicionados, respectivamente, para solubilizar os extratos e aferir o volume. A partir dessas soluções foram preparadas diluições nas concentrações de: 5,00; 10,00; 20,00; 30,00; 40,00; 60,00; 70,00 e 80,00 µg/mL.

5.4 Obtenção dos perfis cromatográficos

Os perfis cromatográficos (impressões digitais) dos extratos etanólico e aquoso foram obtidos por Cromatografia à Líquido de Alta Eficiência (CLAE). Para tal foi usado cromatógrafo da Water Aliance, acoplado a detector de arranjo diodos (DAD) modelo Waters 2996, do Laboratório Multiusuário 1 do Programa de Pós-Graduação em

Ciências Farmacêuticas da UFOP (PPG CiPharma/UFOP). A coluna cromatográfica usada foi do modelo Shimadzu Shim-pack GIST, C18, com dimensões de 4,6 x 250 nm.

As soluções dos extratos foram preparadas a 1%, diluídas em metanol grau HPLC e filtradas em filtro de seringa de 0,20 µm. As condições estabelecidas para a análise dos extratos etanólico e aquoso foram as mesmas: fluxo de 1,00ml/min, temperatura da coluna de 25ºC e volume de injeção de 20,00 µL. O método usado foi gradiente linear usando como eluentes misturas das fases móveis A e B: (A) água acidificada com ácido acético glacial 1%, pH 3,3, e (B) metanol acidificado com ácido acético glacial 1%, pH 3,2. Os cromatogramas foram obtidos na faixa de comprimento de onda de 250 a 280 nm.

Tabela 1: Condições para obtenção dos perfis cromatográficos dos extratos aquoso e etanólico de *Miconia albicans*

Tempo (minutos)	A (%)	B (%)
0,01	100	0
5,00	70	30
10,00	50	40
15,00	30	70
17,00	0	100
20,00	100	0
25,00	100	0

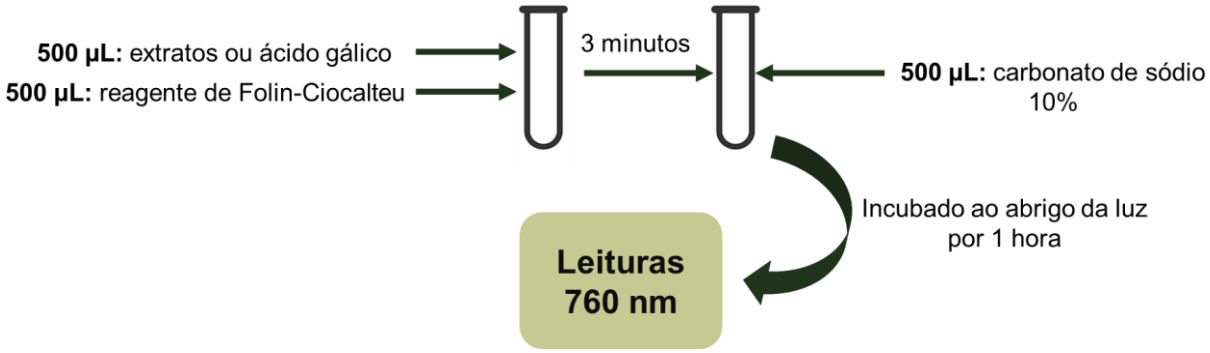
A: água acidificada com ácido acético glacial 1% pH 3,3. B: metanol acidificado com ácido acético glacial 1% pH 3,2.

5.5 Avaliação do conteúdo fenólico dos extratos

A avaliação do conteúdo fenólico dos extratos etanólico e aquoso das partes aéreas de *Miconia albicans* (Sw.) Triana foi realizada pelo método descrito por Swain e Hillis (1959), com adaptações, utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu.

À tubos de ensaio foram adicionados 500,00 µL das soluções dos extratos e 500,00 µL do reagente de Folin-Ciocalteu. Os tubos foram homogeneizados em vórtex e deixados em repouso por 3 minutos. Após, foram adicionados 500,00 µL da solução de carbonato de sódio a 10% e o material foi incubado ao abrigo da luz por 1 hora. O espectrofotômetro foi zerado com metanol para o extrato etanólico e com água destilada para o extrato aquoso. As leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 760 nm.

O padrão de referência utilizado foi o ácido gálico. Para obter a curva de calibração, foram executados os mesmos procedimentos realizados com as soluções dos extratos. Porém foram usadas soluções de ácido gálico nas concentrações de 10,00; 20,00; 30,00; 40,00 e 50,00 µg/mL. O espectrofotômetro foi zerado com metanol. O conteúdo fenólico foi expresso em mg de ácido gálico por grama de extrato e todos os testes foram realizados em triplicata.



Esquema 1: Metodologia para o ensaio do conteúdo fenólico

5.6 Avaliação da atividade antioxidante dos extratos etanólico e aquoso

5.6.1 Avaliação da atividade antioxidante usando DPPH

A avaliação da atividade antioxidante por meio do método de captura do radical livre DPPH foi realizada pelo método descrito por Singh e colaboradores (2002), com

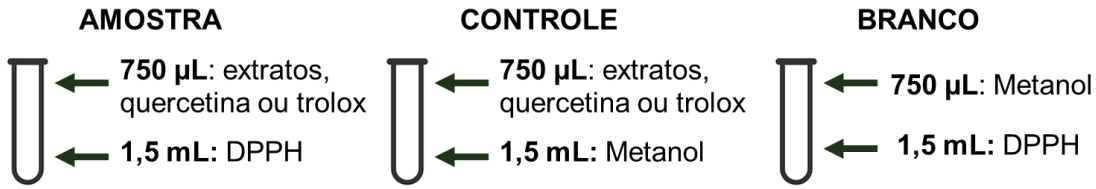
adaptações. O método é baseado na descoloração do radical DPPH que apresenta coloração violeta e quando capturado sofre descoloração, apresentando cor amarelada. Os extratos etanólico e aquoso foram diluídos em metanol ou água destilada, respectivamente, até se obter as concentrações de 10,00; 20,00; 30,00; 40,00; 50,00 e 100,00 µg/mL. Como controles positivos foram usados os antioxidantes padrões quercetina e trolox, nas concentrações de 0,50; 1,00; 5,00; 10,00 e 20,00 µg/mL para a quercetina e de 1,00; 5,00; 10,00; 15,00 e 20,00 µg/mL para o trolox .

Em tubos de ensaio foram adicionados 750 µL das soluções dos extratos, quercetina e trolox e 1,50 mL da solução de DPPH. Os tubos foram incubados em estufa a 32ºC por 30 minutos. Um controle foi preparado com 750 µL das soluções dos extratos, das soluções de quercetina ou das soluções de trolox e 1,50 mL de metanol. O branco foi preparado com 750 µL de metanol e 1,50 mL da solução de DPPH. O branco e o controle foram incubados em estufa a 32ºC por 30 minutos. Após o período de incubação, as absorbâncias de todas as amostras foram lidas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm. As análises foram realizadas em triplicata.

A atividade de retirada de radical (ARR) foi expressa em porcentagem de inibição, sendo calculada a partir da equação:

% ARR = 1- (Abs. amostra – Abs. branco / Abs. controle positivo) x 100

Onde Abs. = absorbância



Esquema 2: Metodologia para o ensaio de captura do radical DPPH

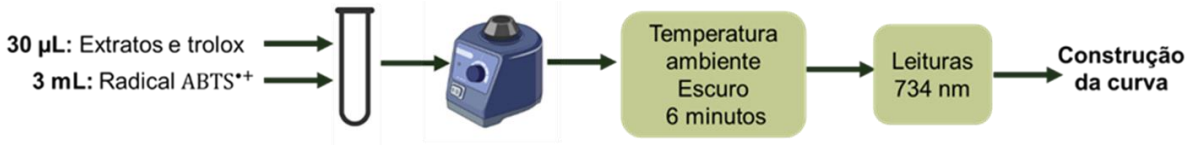
5.6.2 Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical ABTS.

A avaliação da atividade antioxidante baseada na captura do radical $ABTS^{\bullet+}$, foi realizada seguindo o método descrito por Ferraz Filha e colaboradores (2017). As soluções dos extratos foram preparadas nas concentrações de 5,00; 10,00; 20,00; 30,00; 40,00; 60,00; 70,00; 80,00 e 100,00 µg/mL. À tubos de ensaio protegidos da luz foram adicionados 30,00 µL das soluções dos extratos e 3,00 mL do radical

$ABTS^{\bullet+}$. Os tubos foram homogeneizados em vortex e incubados, a temperatura ambiente e no escuro, por 6 minutos. As leituras das absorbâncias foram realizadas a 734 nm em espectrofotômetro, previamente zerado com etanol.

Como antioxidante padrão utilizou-se o trolox. A capacidade antioxidante total foi determinada com base na atividade do trolox, por meio da construção de curva padrão. Para isso foram preparadas soluções de trolox nas concentrações de 100,00; 500,00; 1000,00; 1500,00 e 2000,00 µM, que foram submetidas às mesmas condições das amostras. Os testes foram realizados em triplicata. Para a construção da curva foram plotados no eixo X as concentrações de trolox e no eixo Y as absorbâncias correspondentes.

Os resultados obtidos foram expressos em termo de Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC), ou seja, a concentração de trolox que equivale a 1000,00 µg/mL do extrato. Para isso foi determinada a curva padrão dos extratos e calculado o valor Y (que corresponde a absorbância) na concentração de 1000,00 µg/mL dos extratos. O valor encontrado para Y foi substituído na equação da reta do trolox, sendo assim, encontrou-se o valor de X correspondente ao TEAC.



Esquema 3: Metodologia para o ensaio de captura do radical $ABTS^{\bullet+}$.

5.7 Análise estatística

Os resultados obtidos nos experimentos passaram por análises estatísticas realizadas por meio do *software GraphPad Prism* 6.0, seguida de pós-testes adequados. O intervalo de confiança adotado será de 95%, sendo considerada diferenças significativas quando o valor de *P* for menor que 0,05 ($P<0,05$).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Rendimento dos extratos

A partir de 100,00 g da parte aérea (folhas e ramos) de *Miconia albicans* seca e pulverizada foram obtidos 13,20 g do extrato aquoso seco (EAMA) Figura 7- 2, resultando em 13,27% de rendimento. A extração com etanol a partir de 2.000,00 g de planta seca resultou em 167,51 g extrato etanólico seco (EEMA; 8,38% de rendimento) Figura 7- 1.

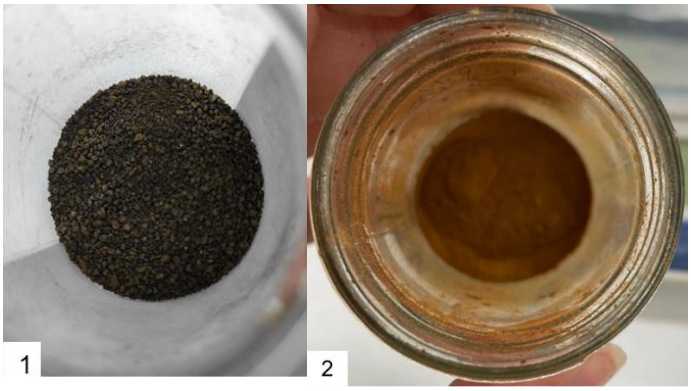
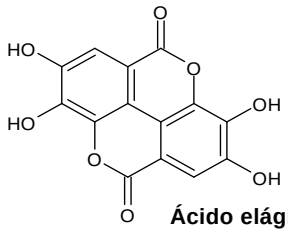


Figura 7: (1) Foto do extrato etanólico e (2) Foto do extrato aquoso

6.2 Perfis cromatográficos dos extratos

Os cromatogramas dos extratos etanólico e aquoso foram obtidos no comprimento de onda 265 nm. Nas Figuras 8 e 9 é possível observar os perfis cromatográficos dos extratos etanólico e aquoso respectivamente, assim como os espectros no UV dos picos principais.

O extrato etanólico apresentou três picos principais (Figura 8). Quando o espectro no UV de EEMA foi comparado com dados dos espectros no UV extraídos de cromatogramas de extratos de *Miconia albicans* por CLAE-DAD, registrados na literatura, foram observadas semelhanças com o espectro no UV do ácido elágico (pico 3), λmáx 254 e 368 nm (Serafim, 2021). O que pode sugerir a presença deste metabólito secundário no extrato obtido neste trabalho.



Ácido elágico

O cromatograma do extrato aquoso apresentou dois picos principais (Figura 9). Não foi possível identificar possíveis componentes químicos pela comparação dos espectros no UV extraídos dos picos 1 e 2 do cromatograma de EAMA com dados registrados na literatura.

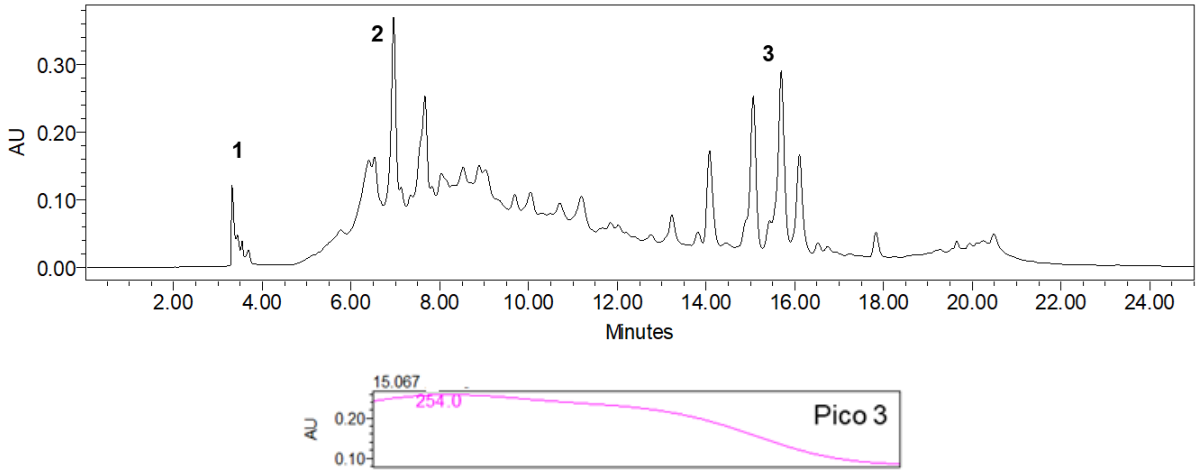


Figura 8: Perfil cromatográfico do extrato etanólico de *Miconia albicans* extraído a 265 nm *e* espectro no ultravioleta (250-280 nm)

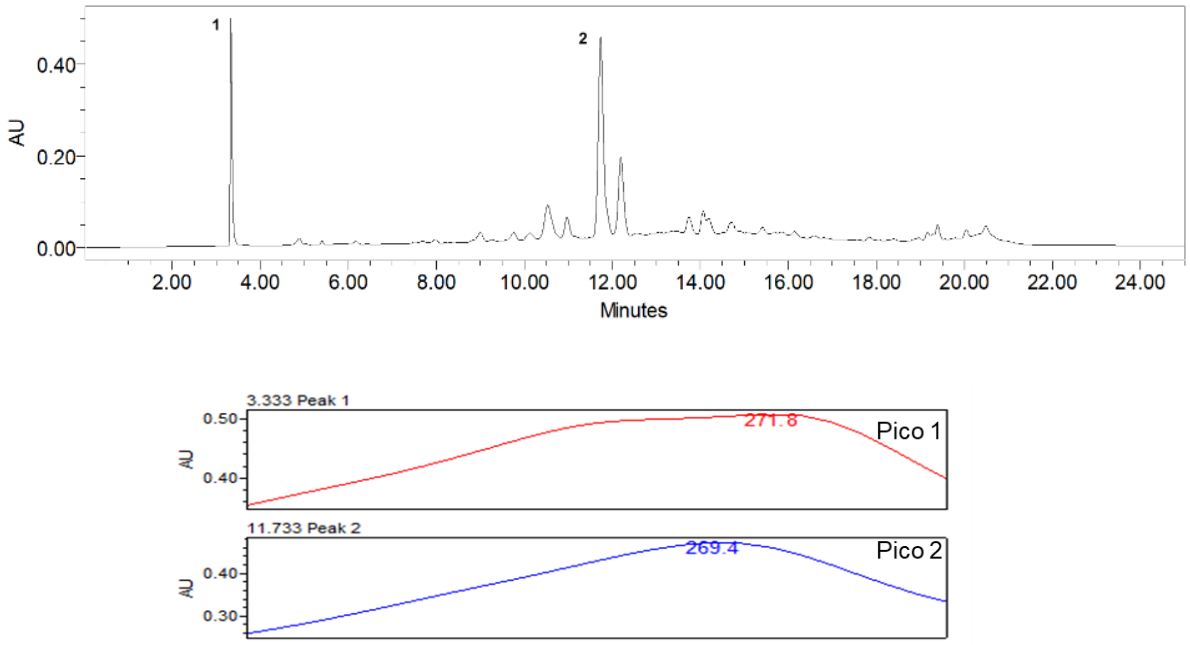


Figura 9: Perfil cromatográfico do extrato aquoso de *Miconia albicans* extraído a 265 nm *e* espectro no ultravioleta (250-280 nm)

Na Figura 10 está a sobreposição dos perfis cromatográficos dos dois extratos. Sendo possível observar que os picos 1 e 2 foram sobrepostos. O pico 1 foi mais intenso no extrato aquoso, enquanto o pico 2 foi mais intenso no extrato etanólico.

A fase estacionária usada na cromatografia apresenta caráter apolar, dessa forma os constituintes mais polares serão eluídos primeiro. A substância do pico 1 não apresentou afinidade pela fase estacionária apresentando um tempo de retenção baixo, o que indica ser uma substância com caráter polar, sendo assim justifica o pico do extrato aquoso ser mais intenso que no extrato etanólico, ou seja, por se tratar de uma substância mais polar é melhor extraída na água do que no etanol.

No pico 2 a substância apresentou mais afinidade com a fase estacionária, apresentando tempo retenção maior quando comparado com do pico 1, isso indica ser uma substância com polaridade intermediária, sendo assim foi melhor extraída no etanol que na água, podendo ser observado no cromatograma que o pico do extrato etanólico foi mais intenso que do extrato aquoso.

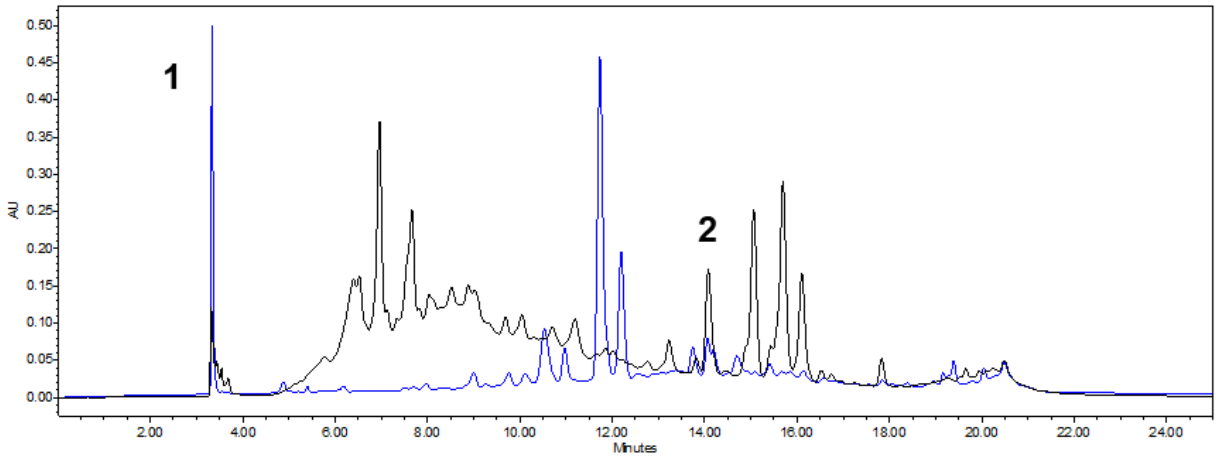


Figura 10: Sobreposição dos perfis cromatográficos do extrato aquoso (azul) e do extrato etanólico (preto) de *Miconia albicans* obtidos por CLAE e extraídos a 265 nm

6.3 Avaliação do conteúdo fenólico com o reagente de Folin-Ciocalteu

Na Figura 11 são mostradas as colorações das diferentes concentrações das soluções de ácido gálico e, na Figura 12, a curva padrão obtida a partir das absorbâncias (eixo y) e concentrações do ácido (eixo x).

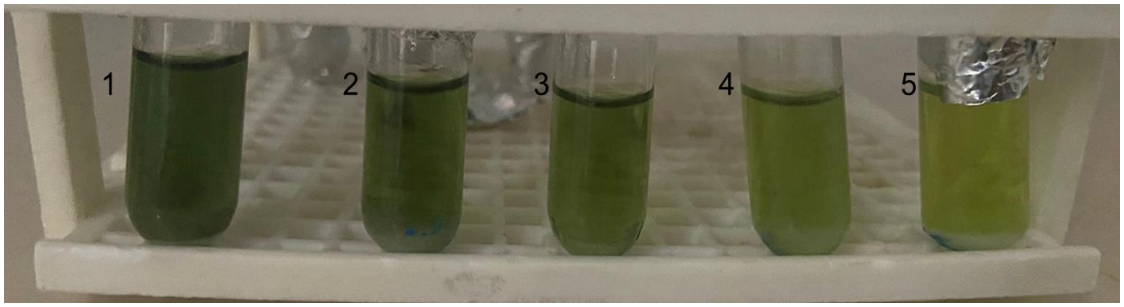


Figura 11: Foto dos tubos de ensaio contendo as soluções de ácido gálico em diferentes concentrações: Tubo 1: 50,00 µg/mL, Tubo 2: 40,00 µg/mL, Tubo 3: 30,00 µg/mL, Tubo 4: 20,00 µg/mL e Tubo 5: 10,00 µg/mL

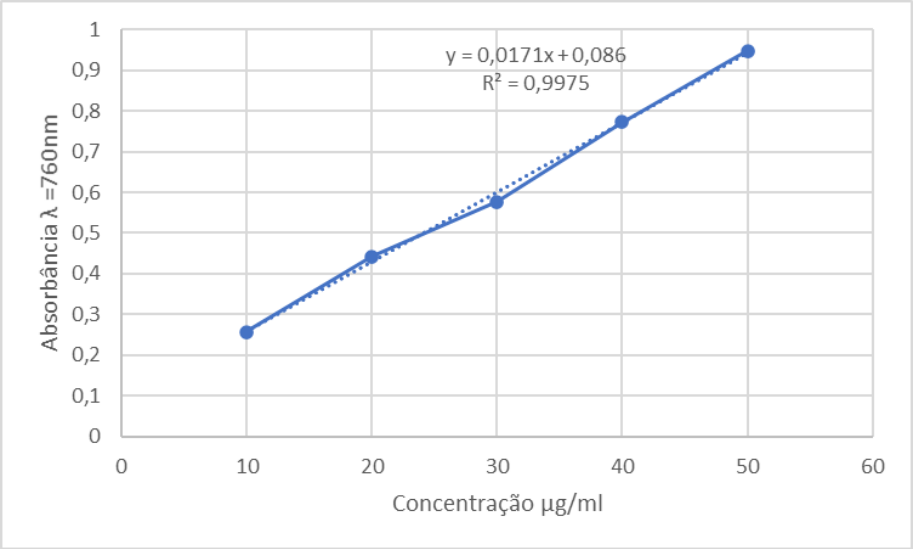


Figura 12: Curva analítica padrão do ácido gálico

A partir da curva foi gerada a equação da reta (y= 0,0171x+0,086), que foi utilizada para calcular o teor de conteúdo fenólico em miligrama (mg) de ácido gálico por grama (g) de extrato. Para isso, substituiu-se o valor de y pelas absorbâncias dos extratos, e foi obtido o valor de x correspondente ao valor em mg de equivalente de ácido gálico/ g de extrato (Tabela 2).

Já foram descritos diversos compostos fenólicos para a *Miconia albicans*, sendo os flavonoides quercetina e rutina os principais já relatados (PIERONI et al., 2011; LIMA et al., 2018).

Na Tabela 2 estão os valores de conteúdo fenólico encontrado para o extrato etanólico e aquoso. O extrato etanólico foi o que apresentou maior conteúdo fenólico no valor de 42,19 $\pm$ 2,92 mg de ácido gálico/extrato, obtendo valores razoáveis.

Pieroni e colaboradores (2011) avaliaram os teores de fenólicos no extrato metanólico de *Miconia albicans,* pelo método de Folin-Ciocalteu e obteve resultados significativos de 70,04 ± 0,12 mg de ácido gálico/g extrato seco.

A diferença entre os dados encontrados na literatura e os obtidos nos estudos, pode ser decorrente a mudanças como região da coleta, solo, época do ano da coleta entre outros que certamente influenciam o tipo e teor dos constituintes presentes na planta.

Tabela 2: Conteúdo fenólico dos extratos etanólico (EEMA) e aquoso (EAMA) das partes aéreas de *Miconia albicans*

Extrato	**Conteúdo fenólico total (mg de equivalente de ácido gálico/ g de extrato)**
EEMA	42,19 ± 2,9277
EAMA	4,12 ± 0,8045

6.4 Avaliação da atividade antioxidante dos extratos etanólico e aquoso

6.4.1 Avaliação da atividade antioxidante usando DPPH

O método para avaliar a atividade antioxidante usando o DPPH determina a capacidade que uma substância tem de transferir elétrons para o radical livre ($DPPH^{\cdot}$). Sendo assim, quanto maior o número de hidroxilas estiverem presentes na estrutura química da substância maior será sua propriedade antioxidante, principalmente se as hidroxilas estiverem ligadas a anel aromático e em posição orto (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Quando o radical $DPPH^{\cdot}$ sofre redução ou é reduzido reduz ele passa da coloração púrpura para amarelo. Como é possível observar na Figura 13, a solução do extrato etanólico a 100 µg/mL promoveu maior descoloração do radical DPPH, sendo que nas outras concentrações do extrato etanólico, como também nas outras soluções (extrato aquoso, quercetina e trolox) a descoloração foi menor (Figura 14).

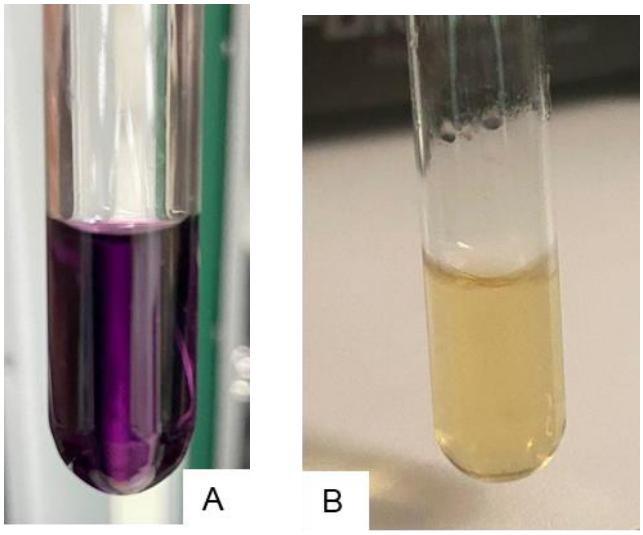


Figura 13: Foto da (A) Solução do extrato etanólico a 100 µg/mL, antes de incubar em estufa a 32ºC por 30 minutos. (B) Depois de incubar em estufa a 32ºC por 30 minutos.

Figura 14: Da esquerda para a direita são apresentadas soluções do extrato etanólico nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50 e 100 µg/mL.

A avaliação da atividade antioxidante dos extratos foi realizada por meio da porcentagem de descoloração e pela concentração necessária para reduzir 50 % do radical (CE_{50}). Para o cálculo da porcentagem de descoloração foi usada a equação descrita no item 5.6.1, obtendo-se os valores apresentados na Tabela 3. Já os dados de CE_{50} estão representados na Tabela 4.

O extrato etanólico foi o que apresentou a maior porcentagem de descoloração, assim como o maior valor de CE_{50}. Pieroni e colaboradores (2020) obtiveram em seu trabalho o resultado para CE_{50}, do extrato metanólico de folhas de *Miconia albicans* de 49,45 µg/mL, valor próximo ao encontrado no presente trabalho para o extrato etanólico.

Tabela 3: Atividade antioxidante dos extratos etanólico (EEMA) e aquoso (EAMA) de *Miconia albicans* pelo método de captura do radical DPPH

Solução	**Concentração (µg/Ml)**	**%descoloração**
EEMA	100	97,03%
EAMA	100	70,79%
Quercetina	20	86,35%
Trolox	20	76,79%

Tabela 4: Valores da concentração dos extratos etanólico (EEMA) e aquoso (EAMA) de *Miconia albicans*, quercetina e trolox em µg/mL que reduz 50% do radical livre (CE_{50}) DPPH

Solução	**CE_{50} (µg/mL) (intervalo de confiança - 95%)**
EEMA	42,34 (40.06 - 44.83)
EAMA	76,20 (74,39 -78,06)
Quercetina	5,93 (4,399 - 7,289)
Trolox	6,27 (5,518 - 7,031)

6.4.2 Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical ABTS.

O teste do ABTS é um dos mais empregados para avaliar a atividade antioxidante, pois é possível ser aplicado tanto para substâncias lipossolúveis como para hidrossolúveis (VASCONCELOS et al, 2007). Na Figura 15 está representada a curva padrão obtida para o trolox, sendo que a equação da reta determinada foi y = -

0,2759x + 0,6274. Nessa equação foi substituído o valor de y correspondente a 1000 µg/mL, encontrado a partir das equações da reta dos extratos, e encontrado o valor de x correspondente à concentração de trolox equivalente a 1000 µg/mL do extrato, ou seja, Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC). Portanto, quanto maior o valor do TEAC melhor será o desempenho antioxidante do extrato.

Os valores encontrados para cada extrato estão representados na Tabela 5, sendo que o extrato etanólico apresentou resultados mais significativos de TEAC, quando comparado com o extrato aquoso.

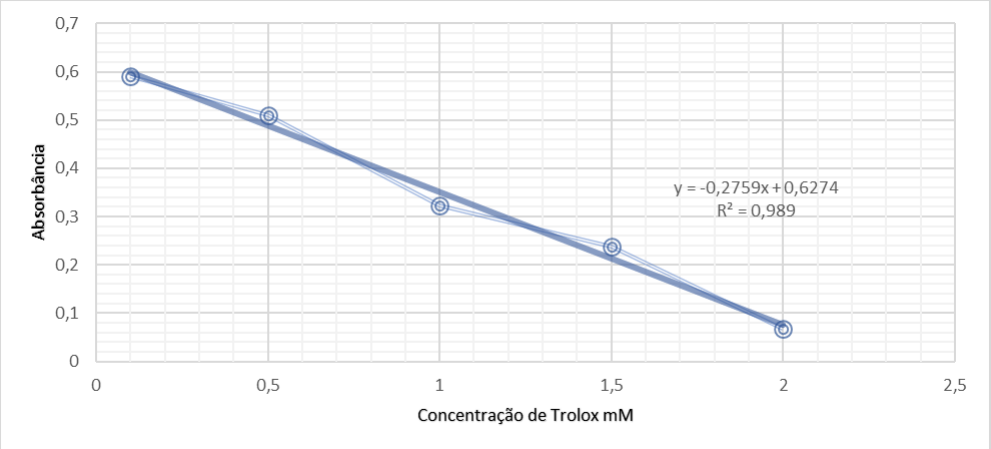


Figura 15: Curva padrão de trolox e equação da reta

Tabela 5: Valores de TEAC para os extratos etanólico (EEMA) e aquoso (EAMA) das partes aéreas de *Miconia albicans*

Extrato	TEAC ± EPM (mM)
EEMA	2,87 ± 0,7774
EAMA	0,79 ± 0,1951

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que o extrato etanólico de *Miconia albicans,* mostrou atividade antioxidante nos testes do DPPH e ABTS e apresentou quantidades razoáveis de conteúdo fenólico (42,19 mg de equivalente de ácido gálico/ g de extrato). Os compostos fenólicos são considerados como sendo os componentes responsáveis pelo efeito antioxidante do extrato etanólico. Em contrapartida, o extrato aquoso apresentou baixo teor de compostos fenólicos o que pode justificar o seu baixo efeito antioxidante. O extrato etanólico da *Miconia albicans* é uma promissora fonte de novos antioxidantes de origem natural.

8 REFERÊNCIAS

ALVES, N. R. **Estudo dos extratos de três espécies do gênero *Miconia* sobre a inibição das MMPs 2 e 9 e sobre o crescimento tumoral *in vitro***. 2016. 81 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular) - Programa Multicêntrico de Pós Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de São João Del Rei, Divinópolis, 2016.

BRASIL E.M.; ARAÚJO R.S.; JUNIOR G.B.C.; NUNES A.R.D.; KRAMER, D.G. Atividade biológica de *Miconia albicans*: uma breve revisão. **Revista Ciências da Saúde** v.21, n 1, 2019.

CÂNDIDO I. S., **Plantas medicinais do cerrado comercializadas em feiras da região central do distrito federal**. 2018. Trabalho de conclusão de curso- Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

CARREIRA R.C. **Germinação em sementes de *Miconia albicans* (Sw.) Triana e *Miconia rubiginosa* (Bonpl.) DC. Melastomataceae, do cerrado de Mogi Guaçu, SP.** 2004. Dissertação de mestrado, área Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais. Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2004.

CELOTTO A. C., NAZARIO D. Z., SPESSOTO M. A., MARTINS C. H. G., CUNHA, W. R.. Evaluation of the *in vitro* antimicrobial activity of crude extracts of three *Miconia* species. **Brazilian Journal Of Microbiology.** v. 34, n. 4, p. 339-340, 2003.

COUTINHO, L. C. M., COSTA, A. M. R., SILVA, A. S., SOARES, C. A. M., MONTEIRO, E. W. S., CUNHA, H. R., BARBOSA, I. I. A.; NEGRÃO, J. C. F., OLIVEIRA, J. S., CAPUTO, L. A. V. A., LEITE, M. A. C., OLIVEIRA, M. A.; SANTOS, N. G. L., MARQUES, R. N., SOUSA, R. S,; CORRÊA, T. O., PERES, T. R., ALMEIDA, S. S. M. S. Estudo fitoquímico do extrato bruto da espécie *Miconia albicans* (Sw.) Triana.

Revista do Grupo PET e Acadêmicos de Geografia da UFAC. v. 3, ed. 2, 1 dez. 2020.

DUARTE-ALMEIDA J. M., SANTOS R. J., GENOVESE M.I., LAJOLO, F.M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

FERRAZ FILHA, Z. S. ; FERRARI, F. C. ; ARAÚJO, M.C.P.M. ; BERNARDES, A. C. F. P. F, ; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A. . Effects of the aqueous extract from *Tabebuia roseoalba* and phenolic acids on hyperuricemia and inflammation. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 2712108, 2017.

FERREIRA A.L.A., MATSUBARA L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista Associação Médica Brasileira**, Botucatu, SP; v. 43, n. 1, p. 61-8, 1997.

HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M.C., Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods Enzymol**, Clarendon, v. 186, p. 1-85, 1990.

HAMANN B., WINTER E.M.S., SILBERT D. A., MICKE G.A., VITAL L. TENFEN A. ZIMMERMANN L.A.. Caracterização dos compostos fenólicos, avaliação da toxicidade e análise da qualidade de amostras de chá de *Miconia albicans*. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 4, p. 450-461, 2020.

LIMA R. C. L., KONGSTAD K. T., KATO L., SILVA M. J., FRANZYK H., STAERK, D.. High-Resolution PTP1B Inhibition Profiling Combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR for Identification of PTP1B Inhibitors from *Miconia albicans*. **Molecules**. v. 23, n. 7, p. 1755, 2018.

LIMA T. C.; MATOS S. S.; CARVALHO T. F.; SILVEIRA-FILHO A. J.; COUTO L. P. M., QUINTANS-JUNIOR L. J., QUINTANS J. S., SILVA A. M. O., HEIMFARTH L., PASSOS F. R.. Evidence for the involvement of IL-1β and TNF-α in anti-inflammatory effect and antioxidative stress profile of the standardized dried extract from *Miconia albicans* Sw. (Triana) Leaves (Melastomataceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 259, p. 112908, 2020.

LISBOA M. S., PINTO A.S. BARRETO P.A. RAMOS Y.J., SILVA M.Q.O.R., MARIA C., ALMEIDA M.Z. Estudo etnobotânico em comunidade quilombola Salamina/ Putumujú em Maragogipe, Bahia. **Revista Fitos.** Rio de Janeiro, v. 11, n 1, p. 1- 118, 2017.

LOPES T. M. S**. Potencia terapêutico da Canela-de-velho (*Miconia albicans)*: revisão de literatura**. Trabalho de conclusão de curso- Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2022

MARTINS, A.B., SEMIR, J., GOLDENBERG R., MARTINS, F.R. O Gênero *Miconia* Ruiz & Pay. Melastomataceae no estado de São Paulo. **Acta Botanica Brasilica,** v. 10, n. 2, p. 67-314, 1996.

MONTEIRO S.C., BRANDELLI C.L.C.. **Farmacobotânica aspectos teóricos e aplicação**. Artmed, 2017. E-book. https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582714416/.

NIJVELDT R.J., HOORN E.V.N.D.E.V., BOELENS P.G., NORREN K.V., LEEUWEN P.A.V.. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **The American journal of clinical nutrition**, v. 74, n. 4, p. 418–425, 2001.

PIERONI L.G., de REZENDE F.M., XIMENES V.F., DOKKEDAL A.L. Antioxidant Activity and Total Phenols from the Methanolic Extract of *Miconia albicans* (Sw.) Triana Leaves. **Molecules**. v 16, n 11, p 9439-50, 2011.

SERAFIM, A. C. G. **Marcadores analíticos para CLAE-DAD de extratos das folhas de *Miconia albicans* (SW) DC. (Melastomataceae)**. 2021. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Farmácia) - Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema., Diadema/SP, 2021.

SILVA, A. A. O., FIQUEREDO A.T.F.B., SANTOS P.A, BELO E.S., SOUZA M.J.M.F. Análise fitoquímica e doseamento de metabólitos secundários das folhas de *Miconia albicans (Sw)* Triana coletadas de duas regiões do estado de Goiás. **Revista Eletrônica da Faculdade Evangélica de Ceres**. v. 10, n. 1, 2021

SILVA, R. B. D. **Antioxidantes alimentares e os efeitos da oxidação lipídica no alimento**. 2021. Trabalho de conclusão de curso (Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos), Campinas, 2021. Trabalho de conclusão de curso (Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos), Campinas, 2021.

SINGH R.P.; MURTHY K.N.C.; JAYAPRAKASHA G.K. Studies on the antioxidant activity of Pormegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using *in vitro* models. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, p. 81-86, 2002.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71–81, 2002.

SOUSA C.M.M., SILVA R.H., JUNIOR G.M.V. AYRES M.C.C., COSTA C.L.S., ARAÚJO D.S.C., CALVACANTE L.C.D., BARROS E.D.S., ARAÚJO P.B.M., BRANDÃO M.S., CHAVES M. H.. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, Teresina, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L. - The quantitative analysis of Phenolic Constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 6 n. 9, p. 63-68, 1959.

TOMÉ L. U., FERREIRA H.D., ALVES V.F., OLIVEIRA L.G., BORGES L.L., SÁ S., PAULA J.R., FIUZA T.S Estudo Morfo-Anatômico, Triagem Fitoquímica, Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Extrato Bruto e Frações das Folhas de *Miconia albicans* (Sw.) Triana**. Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v.8, n.2, p. 372-391, 2019.

VASCONCELOS, M. A.; ARROYO, V. A.; FERREIRA, D. S.; CROTTI M., A. E.; ANDRADE E SILVA, M. L.; CARVALHO, J. C. BASTOS, J. K.; CUNHA, W. R. *In vivo* analgesic and anti-inflammatory activities of ursolic acid and oleanolic acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae). **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, Tübingen , v. 61, n. 7-8, p. 477-82, 2006.