



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS
NATURAIS SINTÉTICOS E BIOATIVOS



CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO FITOQUÍMICO, TOXICOLÓGICO E
FARMACOLÓGICO DE *Banisteriopsis stellaris* (MALPIGHIACEAE)

MARIANA COSTA ARAGÃO

JOÃO PESSOA – PB
2024

MARIANA COSTA ARAGÃO

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO FITOQUÍMICO, TOXICOLÓGICO E FARMACOLÓGICO DE *Banisteriopsis stellaris* (MALPIGHIACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. **Área de concentração: Farmacoquímica.**

ORIENTADOR: Prof. Dr. Harley da Silva Alves

COORIENTADOR: Prof. Dr. Yuri Manguiera do Nascimento

**JOÃO PESSOA – PB
2024**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A659c Aragão, Mariana Costa.

Contribuição ao conhecimento fitoquímico,
toxicológico e farmacológico de *Banisteriopsis*
stellaris (Malpighiaceae) / Mariana Costa Aragão. -
João Pessoa, 2024.

125 f. : il.

Orientação: Harley da Silva Alves.

Coorientação: Yuri Mangueira do Nascimento.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Farmacologia. 2. Flavonoides C-glicosilados -
Anti-inflamatório. 3. Marmelinha - Toxicidade Aguda. 4.
Triterpenos. I. Alves, Harley da Silva. II. Nascimento,
Yuri Mangueira do. III. Título.

UFPB/BC

CDU 615(043)

Ata da 488ª (quadringentésima octogésima oitava) Dissertação de Mestrado do(a) aluno(a) do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Mariana Costa Aragão**, candidato(a) ao Título de “Mestre” em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica.

Às quatorze horas e trinta minutos (14h30) do dia vinte de fevereiro do ano de dois mil e vinte e quatro (20/02/2024), no auditório do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos, da Universidade Federal da Paraíba, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar o(a) discente **Mariana Costa Aragão**, candidato(a) ao Título de “MESTRE” em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica. Foram componentes da Comissão Examinadora os pesquisadores Alisson Macário de Oliveira, Ph.D em Bioquímica e Fisiologia, Sócrates Golzio dos Santos, Ph.D em Farmacoquímica e Harley da Silva Alves, Ph.D em Farmacoquímica. Sendo o primeiro e o último, integrantes do corpo docente da Universidade Estadual da Paraíba, o segundo, integrante do corpo de docente da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o(a) Presidente da Comissão, professor Harley da Silva Alves, após declarar os objetivos da reunião, apresentou o(a) candidato(a) **Mariana Costa Aragão**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado “Contribuição ao conhecimento fitoquímico, toxicológico e farmacológico de *Banisteriopsis stellaris* (Malpighiaceae)”. Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de quarenta minutos, o(a) candidato(a) foi arguido(a) pelos examinadores na forma regimental. Em seguida, passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito APROVADO(A). Em face da aprovação, declarou o(a) Presidente achar-se o(a) examinado(a) **Mariana Costa Aragão** legalmente habilitado(a) a receber o Título de “MESTRE” em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na área de concentração Farmacoquímica, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que o(a) mesmo(a) faz jus. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da Comissão e pelo(a) discente.

Prof. Dr. Harley da Silva Alves (Orientador)

Documento assinado digitalmente
 HARLEY DA SILVA ALVES
Data: 04/03/2024 17:44:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.Dr. Alisson Macário de Oliveira (Examinador)

Documento assinado digitalmente
 ALISSON MACARIO DE OLIVEIRA
Data: 05/03/2024 08:50:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.Dr. Sócrates Golzio dos Santos (Examinador)

Documento assinado digitalmente
 SOCRATES GOLZIO DOS SANTOS
Data: 04/03/2024 19:01:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Mariana Costa Aragão (Discente)

Documento assinado digitalmente
 MARIANA COSTA ARAGAO
Data: 05/03/2024 11:00:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por sua graça e misericórdia, por me guiar em todos os meus passos e me mostrar sempre a sua vontade para minha vida. Pela sua presença que me sustentou em todos os momentos dessa jornada, por seu tão grande amor que me fortalece hoje e até a volta do Senhor Jesus. “Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida, e habitarei na casa do Senhor por longos dias” Sl 23:6.

À minha mãe, Isabel, pelo seu amor, apoio e incentivo em todos os momentos, mesmo distante sempre lhe sentia presente, sua dedicação me mostra que podemos sempre entregar o melhor de nós para os outros, com gentileza, bondade e respeito. Te agradeço por fazer o que for necessário e que estiver ao seu alcance por mim. Ao meu pai, Marcelo, por ser fonte de inspiração nos meus estudos, por vê-lo sempre batalhando em cada formação acadêmica que possuí, por me fornecer as melhores condições possíveis para que eu chegasse até aqui. Agradeço por tudo, vocês foram essenciais para esta realização.

Ao meu avô, João, por nunca ter deixado de me acolher e fornecer todo carinho, amor e apoio necessários nessa jornada. À minha avó, Terezinha (*In memoriam*), por sempre ter sido um retrato de uma mulher forte, guerreira e determinada, que sempre me incentivou a ser uma mulher independente, sou grata por ter tido o privilégio de tê-la em minha vida, sendo essencial para que eu me tornasse o que sou hoje.

Aos meus sobrinhos, Helena e Samuel, por serem minha motivação para que me vejam no futuro como um exemplo para eles, amo vocês. À minha irmã, Marcella, que me apoiou incansavelmente para que eu continuasse determinada em alcançar esta meta. Obrigada pelos ensinamentos que me auxiliaram a realizar este trabalho. Você foi essencial em cada etapa da minha vida e é a razão para que eu continue lutando para ser melhor, sendo inspiração para mim. Ao meu cunhado, Victor, pelas orações e conselhos que sempre me fornece, você também faz parte dessa jornada.

Aos irmãos da ICM - bancários pelas orações e pelo companheirismo, em especial, as amigas Thâmara, Natália, Kelly, Valéria, Luana e Débora, vocês também foram essenciais. À minha amiga Thaynara, que me acompanhou durante toda a graduação e que hoje mesmo distante fisicamente, foi imprescindível em todos os momentos dessa caminhada.

Aos Professores Harley da Silva Alves e Yuri Mangueira, pela orientação neste trabalho. Ao Professor Josean, pelo apoio fundamental durante todo o mestrado, por todas as sugestões fornecidas e pela participação no desenvolvimento deste projeto. Ao Professor Marcelo, por todas as discussões enriquecedoras sobre espectroscopia e por ser um exemplo de profissional. Aos servidores da UFPB, Marcelo, Evandro, Nonato, Gilmário, Júnior e Seu Ivan, pela contribuição profissional e pelo incentivo, suporte e ajuda.

Agradeço ainda a todos que compõem o Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA), que enfrentam diariamente os desafios acadêmicos e com quem pude compartilhar momentos e conhecimento. Em especial aos amigos, Ana Rita, Emille, Gabriela, Luiz Henrique, Natanael e Rodrigo, por terem sido essenciais na minha trajetória do mestrado, por me auxiliarem e me ensinarem tudo que sei hoje, sou grata ainda, pelo companheirismo e carinho que levarei para além do âmbito acadêmico.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pelo apoio financeiro durante os dois anos de mestrado. À Universidade Federal da Paraíba e ao Centro de Ciências da Saúde (CCS), ao Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) e ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB), pelo apoio físico e institucional. A todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a produção deste trabalho.

Muito obrigada!

MARIANA COSTA ARAGÃO

RESUMO

Aragão, M. C. **Contribuição ao conhecimento fitoquímico, toxicológico e farmacológico de *Banisteriopsis stellaris* (Malpighiaceae)**. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2024.

Banisteriopsis stellaris (Griseb.) B. Gates, conhecida popularmente como "marmelinha-da-flor-branca", pertence à família Malpighiaceae. O gênero *Banisteriopsis* é relevante na família devido a produção de importantes metabólitos secundários, incluindo alcaloides, flavonoides e terpenoides, que demonstram vários efeitos farmacológicos com resultados promissores. No entanto, ainda são poucas as evidências sobre o seu potencial fitoquímico e farmacológico. Assim, este trabalho visou contribuir para o conhecimento químico e farmacológico da espécie *B. stellaris*. O material vegetal foi coletado em abril de 2022 no Pico do Jabre (Matureia - PB) e identificado pela botânica Dra. Maria de Fátima Agra. Uma exsicata da espécie foi depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier da UFPB, sob o número JPB 37874. As partes aéreas foram secas em estufa a 40 °C, pulverizadas e extraídas com etanol a 95%, sendo concentradas em evaporador rotativo para obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB). Posteriormente, o EEB foi submetido ao processo de Cromatografia Líquida à Vácuo (CLV) utilizando diferentes proporções e polaridades de solventes, resultando em 9 frações do extrato. Uma alíquota de 5 g da fração acetato de etila-metanol (AcOEt:MeOH) (1:1) foi submetida a cromatografia em coluna utilizando Sephadex LH-20, resultando em 39 frações destas. As frações 22-27 foram reunidas totalizando 875 mg e submetidas ao processo de Cromatografia Líquida de Média Pressão (CLMP), obtendo-se 15 frações. Para as frações 08 e 10 foram desenvolvidos métodos cromatográficos, individualmente, através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) preparativa. Ainda, foi utilizado 673,0 mg da fração clorofórmica, sendo submetida a cromatografia em coluna com gel de sílica, resultando em 10 frações. Para os testes de toxicidade aguda os camundongos receberam doses de 2000 e 5000 mg kg⁻¹ de extrato de *B. stellaris* (EEB-Bs) por via oral e intraperitoneal. Quanto a avaliação do perfil genotóxico do EEB-Bs, foi utilizado o teste do micronúcleo em eritrócitos de camundongos tratados com EEB-Bs (2.000 mg kg⁻¹ v. o.) em dose única. Os testes anti-inflamatórios foram realizados com camundongos tratados com EEB-Bs (50, 100 ou 200 mg kg⁻¹ v.o.) utilizando os modelos de edema de pata e peritonite. As substâncias foram identificadas por espectroscopia de RMN (uni e bidimensionais) e comparadas com dados da literatura, confirmando o isolamento dos flavonoides C-glicosilados (orientina, vitexina, isovitexina e isovitexina-2"-O- α -L-ramnopiranosídeo) da fração AcOEt:MeOH. Da fração 04 proveniente da fase clorofórmica, foi isolada a mistura dos triterpenos α -amirina, β -amirina e lupeol, sendo todos os compostos isolados pela primeira vez na espécie em estudo. Os testes biológicos realizados com o EEB-Bs demonstraram sua segurança quando administrado via oral, visto que não houve sinais de toxicidade aguda e nem alterações micronucleares. Os resultados do estudo indicam que *B. stellaris* apresentou uma resposta anti-inflamatória significativa nos ensaios realizados nas doses observadas, reduzindo o edema e a exsudação de células inflamatórias, sendo na dose de 200 mg kg⁻¹ g do EEB uma redução de 73,29% no edema, 66,71% na migração de leucócitos e de 67,72% na migração de neutrófilos. Portanto, este trabalho destaca a *B. stellaris* como nova fonte de biomoléculas e a sua capacidade anti-inflamatória, sugerindo sua utilidade no desenvolvimento de medicamentos.

Pesquisas futuras podem explorar mecanismos específicos e outros aspectos farmacológicos dessa espécie.

Palavras-chave: Anti-inflamatório; Flavonoides C-glicosilados; Marmelinha; Toxicidade aguda; Triterpenos.

ABSTRACT

Aragão, M. C. **Contribution to the phytochemical, toxicological, and pharmacological knowledge of *Banisteriopsis stellaris* (Malpighiaceae).** Dissertation (Master's in Bioactive Natural and Synthetic Products) – Center for Health Sciences, Federal University of Paraíba. João Pessoa, 2024.

Banisteriopsis stellaris (Griseb.) B. Gates, commonly known as "marmelinha-da-flor-branca," belongs to the Malpighiaceae family. The genus *Banisteriopsis* is notable within the family due to its production of important secondary metabolites, including alkaloids, flavonoids, and terpenoids, which exhibit various pharmacological effects with promising results. However, there is still limited evidence regarding its phytochemical and pharmacological potential. Therefore, this study aimed to contribute to the chemical and pharmacological knowledge of the species *B. stellaris*. Plant material was collected in April 2022 at Pico do Jabre (Matureia - PB) and identified by botanist Dr. Maria de Fátima Agra. A voucher specimen of the species was deposited in the Prof. Lauro Pires Xavier Herbarium of UFPB, under the number JPB 37874. The aerial parts were dried in an oven at 40°C, pulverized, and extracted with 95% ethanol, which was concentrated in a rotary evaporator to obtain the Crude Ethanol Extract (CEE). Subsequently, the CEE underwent Vacuum Liquid Chromatography (VLC) using different proportions and polarities of solvents, resulting in 9 extract fractions. An aliquot of 5 g of the ethyl acetate-methanol (AcOEt:MeOH) fraction (1:1) was subjected to column chromatography using Sephadex LH-20, resulting in 39 fractions. Fractions 22-27 were combined, totaling 875 mg, and subjected to Medium Pressure Liquid Chromatography (MPLC), yielding 15 fractions. Preparative High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) methods were developed individually for fractions 08 and 10. Additionally, 673.0 mg of the chloroform fraction was subjected to column chromatography with silica gel, resulting in 10 fractions. For acute toxicity tests, mice received doses of 2000 and 5000 mg/kg of *Banisteriopsis stellaris* extract (CEE-Bs) orally and intraperitoneally. Regarding the genotoxicity assessment of CEE-Bs, the micronucleus test was conducted in mouse erythrocytes treated with CEE-Bs (2000 mg/kg p.o.) in a single dose. Anti-inflammatory tests were performed in mice treated with CEE-Bs (50, 100, or 200 mg/kg p.o.) using the paw edema and peritonitis models. The compounds were identified by NMR spectroscopy (uni and bidimensional) and compared with literature data, confirming the isolation of C-glycosylated flavonoids (orientin, vitexin, isovitexin, and isovitexin-2"-O- α -L-rhamnopyranoside) from the AcOEt:MeOH fraction. From fraction 04 of the chloroform phase, a mixture of the triterpenes α -amyrin, β -amyrin, and lupeol was isolated, all compounds being isolated for the first time in the species under study. Biological tests performed with CEE-Bs demonstrated its safety when administered orally, as there were no signs of acute toxicity or micronucleus alterations. The study results indicate that *B. stellaris* exhibited a significant anti-inflammatory response in the assays conducted at the observed doses, reducing edema and the exudation of inflammatory cells, with a reduction of 73.29% in edema, 66.71% in leukocyte migration, and 67.72% in neutrophil migration at a dose of 200 mg/kg of CEE. Therefore, this study highlights *B. stellaris* as a new source of biomolecules and its anti-inflammatory capacity, suggesting its utility in drug development. Future research can explore specific mechanisms and other pharmacological aspects of this species.

Keywords: Acute toxicity, Anti-inflammatory; C-glycosylated flavonoids; Marmelinha; Triterpenes.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de etila
ALB	Albumina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
APT	Attached Proton Test
BB	Broad band
C	Carbono
¹³C	Carbono 13
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLMP	Cromatografia líquida de média pressão
CREAT	Creatinina
CT	Colesterol Total
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
dl	Dupleto largo
DL₅₀	Dose letal média
CHCl₃	Clorofórmio
DMSO-d₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EEB	Extrato Etanólico Bruto
EEB-Bs	Extrato Etanólico Bruto – <i>Banisteriopsis stellaris</i>
EtOH	Etanol
g	Gramas
¹H	Hidrogênio
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
Hz	Hertz

J	Constante de acoplamento
kg	Quilograma
m	Multiplete
mm³	Milímetros cúbicos
MeOH	Metanol
mg	Miligramas
MHz	Megahertz
mL	Mililitros
ppm	Partes por milhão
PT	Proteínas totais
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Triplete
TG	Triglicerídeos
UR	Ureia
VCM	Volume corpuscular médio
v.o	Via oral
δ	Deslocamento químico
μm	Micrômetro

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Obtenção e fracionamento do EEB das partes aéreas de <i>B. stellaris</i>	46
Esquema 2 - Fracionamento da fração acetato:metanol (1:1).....	47
Esquema 3 - Fracionamento da fração clorofórmica.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição geográfica mundial da família Malpighiaceae.....	16
Figura 2 – Visão geral das folhas (A), flor característica de Malpighiaceae (B).....	18
Figura 3 – Estruturas da quercetina e canferol, respectivamente.....	20
Figura 4 – Estruturas (1) catequina, (2) epicatequina, (3) hiperosídeo e (4) guajarina.....	20
Figura 5 – Estrutura da Byrsonina A isolado de <i>Byrsonima crassifolia</i>	21
Figura 6 – Domínios fitogeográficos encontradas espécies de <i>Banisteriopsis</i> no Brasil.....	21
Figura 7 – Imagens da espécie <i>B. stellaris</i>	27
Figura 8 – Distribuição de <i>B. stellaris</i> no Brasil.....	28
Figura 9 – Estruturas dos esqueletos de flavonoides.....	31
Figura 10 – Biossíntese dos flavonoides.....	32
Figura 11 – Primeiros flavonoides C-glicosilados identificados.....	34
Figura 12 – Biossíntese dos terpenoides.....	37
Figura 13 – Cinco sinais da resposta inflamatória.....	41
Figura 14 – Cascata da inflamação.....	43
Figura 15 – Cromatograma da fração 08 em escala preparativa (254 nm).....	49
Figura 16 – Cromatograma da fração 10 em escala preparativa (254 nm).....	50
Figura 17 – Estrutura química da BsAM-083.....	57
Figura 18 – Espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, DMSO- d_6) de Bs-083.....	58
Figura 19 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, DMSO- d_6) de Bs-083 na região de 60 – 124 ppm.....	58
Figura 20 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-083 na região de 138 – 186 ppm.....	59
Figura 21 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-083.....	59
Figura 22 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de Bs-083.....	60
Figura 23 – Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-083.....	60
Figura 24 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-083 na região (100 – 20 ppm) x (5.1 - 2.8 ppm).....	61

Figura 25 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-083 na região de (130 – 85 ppm) x (7.8 – 6.0 ppm).....	61
Figura 26 - Estrutura química da BsAM-085.....	64
Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085.....	65
Figura 28 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085 na região de 60 – 185 ppm.....	65
Figura 29 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085.....	66
Figura 30 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085 na região de 2.8 – 5.4 ppm.....	66
Figura 31 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085 na região de 5.6 – 8.2 ppm.....	67
Figura 32 – Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC (400 e 100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085.....	67
Figura 33 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC (500 e 124 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085 na região de (190 – 80 ppm) x (7.2 – 4.6 ppm).....	68
Figura 34 – Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085.....	68
Figura 35 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (500 e 125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085 na região de (90 – 35 ppm) x (4.8 – 2.4 ppm).....	69
Figura 36 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (500 e 125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085 na região de (140 – 80 ppm) x (8.3 – 5.9 ppm).....	69
Figura 37 – Estrutura química de BsAM-086.....	72
Figura 38 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086.....	73
Figura 39 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086 na região de 55 – 130 ppm.....	73
Figura 40 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086 na região de 135 – 210 ppm.....	74
Figura 41 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086.....	74
Figura 42 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086 na região de 2.7 – 5.1 ppm.....	75
Figura 43 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086 na região de 5.9 – 8.4 ppm.....	75
Figura 44 – Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC (500 e 125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086.....	76

Figura 45 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC (500 e 125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086 na faixa de (170 – 60 ppm) x (8.2 – 4.2).....	76
Figura 46 – Estrutura química da BsAM-1014.....	79
Figura 47 – Espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-1014.....	80
Figura 48 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-1014.....	81
Figura 49 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-1014 na região de 0.0 – 3.2 ppm.....	81
Figura 50 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-1014 na região de 3.2 – 6.3 ppm.....	82
Figura 51 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-1014 na região de 6.2 – 8.2 ppm.....	82
Figura 52 – Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC (400 e 100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-1014.....	83
Figura 53 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-1014 na região de (34 – 4 ppm) x (1.05 – 0.05 ppm).....	83
Figura 54 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-1014 na região de (105 – 35 ppm) x (5.4 – 1.8 ppm).....	84
Figura 55 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-1014 na região de (145 – 75 ppm) x (8.7 – 5.7 ppm).....	84
Figura 56 – Estruturas químicas da α -amirina (1), β -amirina (2) e lupeol (3).....	86
Figura 57 – Espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3) de BsCl-04.....	89
Figura 58 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3) de BsCl-04 na região de 14 – 37 ppm.....	89
Figura 59 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3) de BsCl-04 na região de 38 – 57 ppm.....	90
Figura 60 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3) de BsCl-04 na região de 107 – 129 ppm.....	90
Figura 61 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de BsCl-04.....	91
Figura 62 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de BsCl-04 na região de 0.60 – 1.50 ppm.....	91
Figura 63 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de BsCl-04 na região de 1.55 – 2.40 ppm.....	92
Figura 64 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de BsCl-04 na região de 4.25 – 5.65 ppm.....	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Constituintes químicos encontrados nas espécies de <i>Banisteriopsis</i>	23
Tabela 2 - Classificação dos compostos fenólicos de acordo com seus esqueletos básicos.....	30
Tabela 3 - Classes dos flavonoides C-glicosídeos e suas estruturas químicas.....	35
Tabela 4 - Dados do fracionamento das frações 22-27 em CLMP.....	48
Tabela 5 - Dados do fracionamento da fase clorofórmica em CC.....	50
Tabela 6 - Dados de RMN de BsAM-083 (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C em DMSO- d_6) comparados com dados da literatura.....	57
Tabela 7 - Dados de RMN de Bs-085 (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 400 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em DMSO- d_6) comparados com dados da literatura.....	64
Tabela 8 - Dados de RMN de Bs-086 (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em DMSO- d_6) comparados com dados da literatura.....	72
Tabela 9 - Dados de RMN de Bs-1014 (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em DMSO- d_6) comparados com dados da literatura.....	79
Tabela 10 - Comparação dos dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância BsCl-04 em CDCl_3 com valores da literatura para mistura de α , β -amirina e lupeol (δ em ppm e <i>J</i> em Hz).....	87
Tabela 11 - Avaliação do consumo de alimentos e água e ganho de peso dos grupos controle e tratado com EEB de <i>B. stellaris</i> por 14 dias.....	94
Tabela 12 - Parâmetros hematológicos do sangue de camundongos tratados com extrato de <i>B. stellaris</i> por 14 dias.....	96
Tabela 13 - Parâmetros bioquímicos do sangue de camundongos tratados com extrato de <i>B. stellaris</i> por 14 dias.....	97
Tabela 14 - Avaliação do peso relativo dos órgãos (g/10 g de peso corporal do animal) de camundongos tratados com EEB de <i>B. stellaris</i> por 14 dias.....	98
Tabela 15 - Avaliação da genotoxicidade <i>in vivo</i> do EEB de <i>B. stellaris</i> (administração oral) ou controle positivo da ciclofosfamida (CPA, i.p.) pela determinação do número de eritrócitos policromáticos micronucleados (MNPCE) da medula óssea de camundongos.....	100
Tabela 16 - Análise da redução no edema da pata traseira de camundongos induzido por carragenina e tratados com EEB-Bs.....	101

Tabela 17 - Análise da migração de leucócitos e neutrófilos na exsudação peritoneal em camundongos induzidos por carragenina e tratados com EEB-Bs.....102

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVO.....	15
2.1 Objetivo geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
3.1 Família Malpighiaceae.....	16
3.2 Gênero <i>Banisteriopsis</i>	21
3.3 <i>Banisteriopsis stellaris</i> (Griseb) B. Gates.....	27
3.4 Compostos fenólicos.....	28
3.5 Flavonoides.....	30
3.5.1 Flavonoides C-glicosilados.....	34
3.6 Terpenoides.....	36
3.7 Toxicidade e Genotoxicidade.....	38
3.8 Inflamação.....	40
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
4.1 Materiais e equipamentos utilizados.....	44
4.2 Coleta do material botânico.....	45
4.3 Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB).....	45
4.4 Fracionamento da fração AcOEt:MeOH de <i>B. stellaris</i>	47
4.4.1 Análise das frações AcOEt:MeOH por cromatografia de alta eficiência.....	48
4.5 Fracionamento da fração clorofórmica de <i>B. stellaris</i>	50
4.6 Caracterização estrutural dos compostos isolados.....	52
4.7 Testes biológicos do EEB de <i>B. stellaris</i>	52
4.7.1 Toxicidade aguda.....	52
4.7.2 Genotoxicidade.....	53
4.7.3 Atividade anti-inflamatória.....	53
4.7.4 Análises estatísticas.....	54
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
5.1 Identificação dos compostos isolados.....	55
5.1.1 Determinação estrutural de BsAM-083.....	55
5.1.2 Determinação estrutural de BsAM-085.....	62
5.1.3 Determinação estrutural de BsAM-086.....	70

5.1.4 Determinação estrutural de BsAM-1014.....	77
5.1.5 Determinação estrutural de BsCI-04.....	85
5.2 Atividades biológicas do EEB de <i>B. stellaris</i>	93
5.2.1 Toxicidade aguda.....	93
5.2.2 Genotoxicidade (Teste de micronúcleo em sangue periférico).....	98
5.2.3 Anti-inflamatório.....	100
6 CONCLUSÃO.....	104
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	106

1 INTRODUÇÃO

As políticas educacionais, científicas, tecnológicas e inovadoras desempenham um papel crucial na preservação da natureza e da biodiversidade, promovendo uma abordagem sustentável na exploração de recursos naturais. Essas iniciativas visam impulsionar o avanço social e econômico, ao mesmo tempo em que se comprometem com a conservação da saúde e buscam soluções para doenças (Souza *et al.*, 2017). Esses métodos são fundamentais para o desenvolvimento sustentável de um país, contribuindo para melhorias significativas na qualidade de vida social.

Nesse sentido, a prospecção dos recursos naturais para o desenvolvimento de fármacos com uso sustentável, sem danificar o meio ambiente, estimulando socialmente recursos tecnológicos e de mão de obra capacitada para realizar tais atividades, contribui economicamente e de forma inovadora para o país sendo responsável por movimentar o mercado farmacêutico e a ciência (Fraxe *et al.*, 2020).

Segundo Lima (2022) a bioprospecção trata da investigação sistemática por recursos bioquímicos e genéticos provenientes de organismos vivos que possam levar ao desenvolvimento de produtos farmacêuticos e biotecnológicos. A química de produtos naturais é uma das subáreas mais antigas da química orgânica, com parte de seus fundamentos estabelecidos desde os tempos da alquimia. Apesar de um desenvolvimento inicial lento até os anos 1960, experimentou um avanço significativo com o surgimento das ferramentas de análise espectroscópica (Hendrickson, 1965).

O crescente uso de técnicas hífenadas possibilitou uma compreensão mais ampla do metabolismo secundário dos organismos vivos, demonstrando a importância da pesquisa multidisciplinar e o estabelecimento de redes de pesquisa envolvendo a química de produtos naturais e áreas relacionadas. Apresentando um foco ascendente na descoberta e desenvolvimento de fármacos a partir da biodiversidade brasileira, assim como na pesquisa de métodos analíticos que caracterizem de forma completa as plantas medicinais para a descoberta de biomoléculas (Berlink *et al.*, 2017).

O ciclo de vida dos organismos vivos desde o nascimento até a morte, ao longo dos anos, pode sofrer mutações e assim, surgirem novos mecanismos evolutivos e adaptativos, abrangendo uma atual diversidade morfofisiológica das plantas, bem como, da síntese de seus compostos químicos. Nesse contexto, a pesquisa científica busca a descoberta de moléculas bioativas, pois fornecem uma riqueza de

oportunidades nas áreas de desenvolvimento químico e terapêutico (Silveira; Bassam, 2021).

Os medicamentos encontrados no mercado em sua maioria são derivados de forma direta ou indireta de vegetais, micro-organismos, espécies marinhas, vertebrados e invertebrados terrestres. Observando os medicamentos em uso entre 1981 e 2019, nota-se que cerca de 23,5% desses possuem princípios ativos isolados de produtos naturais ou semissintéticos e cerca de 25,7% apesar de sintéticos apresentam grupos farmacofóricos com base nas estruturas químicas naturais e apenas 24,6% tem sua origem totalmente sintética (Newman; Cragg, 2020). Logo, a riqueza que existe na flora proporciona em larga escala a pesquisa para a obtenção de diversas moléculas ativas, que ao serem isoladas e testadas, quanto a sua atividade poderão ser disponibilizadas como protótipos para síntese (McDonald; Scheidt, 2015).

O uso de plantas medicinais vem desde o início da humanidade. Cerca de 65 - 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam como única forma de acesso aos cuidados básicos as plantas medicinais por serem mais acessíveis e econômicas (Cruz; Gonçalves, 2022). Porém, apenas cerca de 15% das espécies de plantas do mundo foram estudadas por suas atividades farmacológicas (Abbas *et al.*, 2022).

O Brasil é considerado um dos países que detém uma vasta biodiversidade, distribuída em seis domínios fitogeográficos: Amazônia, Mata Atlântica, Pampa, Pantanal, Caatinga e Cerrado. Compreende cerca de 20 a 22% do total das espécies mundiais e dessas 50 mil já foram catalogadas (Ribeiro *et al.*, 2018). A exploração da biodiversidade no território brasileiro iniciou-se com o uso de ervas medicinais pelos indígenas de forma terapêutica e em rituais religiosos. Atualmente, a sociedade faz uso de diversas plantas no tratamento de enfermidades por meio de infusões, garrafadas, decoctos e na fitoterapia (Carvalho *et al.*, 2014).

Assim, na pesquisa com produtos naturais em um país com uma vasta biodiversidade, em sua maioria desconhecida e potencialmente sujeita a mudanças climáticas e pressões antrópicas, a prospecção fitoquímica é de grande relevância. Descrever a natureza, suas biomoléculas, funções e mecanismos de atuação é imprescindível (Veiga Junior; Yamaguchi, 2022). Logo, este estudo busca ampliar o conhecimento sobre a espécie endêmica *Banisteriopsis stellaris*, pertencente à família Malpighiaceae.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Contribuir para o conhecimento fitoquímico, toxicológico e farmacológico da família Malpighiaceae através do estudo das partes aéreas da espécie *Banisteriopsis stellaris* (Griseb.) B. Gates.

2.2 Objetivos específicos

- Obter o extrato etanólico bruto (EEB) das partes aéreas de *B. stellaris* para o estudo da sua composição química;
- Fracionar o EEB utilizando a cromatografia líquida a vácuo (CLV) e obter frações de diferentes polaridades;
- Isolar compostos das frações do EEB por métodos cromatográficos;
- Identificar os compostos isolados das frações do EEB por técnicas espectroscópicas (RMN de ^1H e ^{13}C);
- Realizar testes de toxicidade aguda do EEB;
- Proceder com teste de genotoxicidade do EEB;
- Realizar os testes de edema de pata e peritonite para avaliação da atividade anti-inflamatória do EEB de *B. stellaris*.

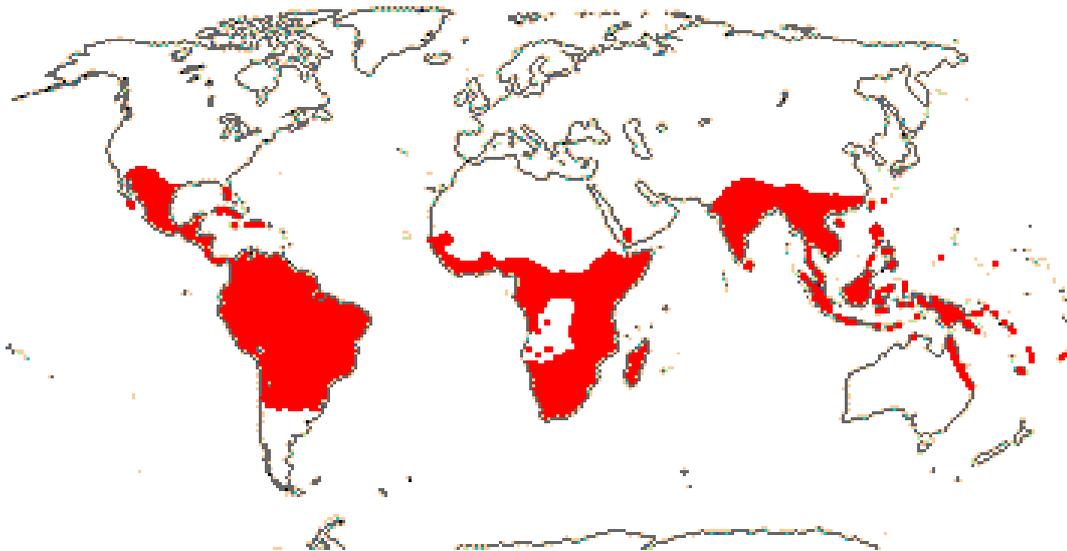
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Família Malpighiaceae

Malpighiaceae representa uma das maiores famílias de angiospermas com distribuição tropical e subtropical (Figura 1, p. 16), já foram descritos cerca de 77 gêneros e 1300 espécies com hábitos variados (espécies arbóreas, herbáceas, trepadeiras e arbustivas). Plantas dessa família adaptam-se preferencialmente a habitats que apresentem temperaturas entre 20 e 45°, em florestas estacionais e próximas aos rios (Davis; Anderson, 2010; Possobom, 2008).

Encontra-se distribuída principalmente na América do Sul e apresenta extrema relevância nas florestas e savanas dos países. No Brasil, compreende aproximadamente 45 gêneros e 570 espécies, sendo dessas 60% endêmicas. É uma das famílias botânicas mais proeminentes no Cerrado com 28 gêneros e 237 espécies, na Mata Atlântica foram reconhecidos 26 gêneros e 202 espécies, na Caatinga foram determinados 25 gêneros e 91 espécies, demonstrando a presença da família em variados domínios fitogeográficos do país (Flora do Brasil, 2020; Mamede *et al.*, 2015).

Figura 1 - Distribuição geográfica mundial da família Malpighiaceae



Fonte: <http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/orders/malpighialesweb.htm> > Acessado em jun. 2022.

Estudos sobre Malpighiaceae no Nordeste brasileiro ainda são limitados, comumente encontrados nos estados da Bahia e do Maranhão (Santos; Amorim;

Conceição *et al.*, 2018c). Nos demais estados os trabalhos sobre essa família são escassos e na Paraíba, o enfoque taxonômico se restringe as listas florísticas elaboradas, por Agra e colaboradores (2004), Cunha e colaboradores (2013), Lima e Barbosa (2014) dentre outros estudos.

O estado da Paraíba localiza-se na porção mais oriental do Nordeste Brasileiro. Constitui de uma biodiversidade notável com variadas vegetações como os campos, as matas úmidas, as restingas e as matas secas, esta conhecida como Caatinga que ocupa grande parte do território paraibano com cerca de 80% (Mendes., 2019). A flora fanerogâmica no estado da Paraíba apresenta-se distribuída em 148 famílias, 845 gêneros e 2.061 espécies de angiospermas (Flora do Brasil, 2020).

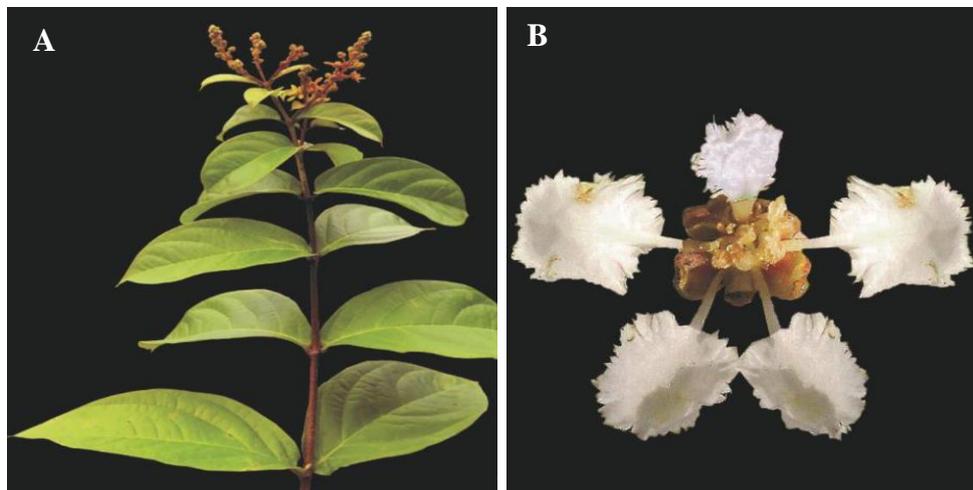
A Caatinga é um domínio fitogeográfico que apresenta uma vasta biodiversidade mundial. Porém, ainda necessita aumentar o aporte de estudos taxonômicos, florísticos e fitossociológicos. Dessa forma, se torna possível conhecer melhor a sua estrutura e seu estado de conservação. Quanto a Mata Atlântica representa cerca de 7% da formação original na Paraíba, mesmo sendo um dos ecossistemas brasileiros com maior índice de biodiversidade em florestas tropicais (Capobianco, 2017).

O planalto da Borborema apresenta-se como uma das grandes faixas de relevo que ocorrem no domínio da Mata Atlântica do Nordeste brasileiro. As regiões mais altas e dispostas ao vento, constituem ilhas que apresentam umidade superior à média local. Essas formações florestais úmidas em altitude são denominadas de brejos, localizados no leste da Borborema de clima estacional, nos topos das serras em meio a caatinga. O Pico do Jabre localizado no município de Maturéia, Serra de Teixeira, Paraíba, é considerado o ponto mais alto do Nordeste e o ponto culminante do Planalto da Borborema. A vegetação que predomina no Pico do Jabre é semidecídua e florestal, com resquícios da mata úmida envolvida pela caatinga (Agra; Barbosa; Stevens, 2004).

No estudo de Mendes (2019) que teve como objetivo realizar um compêndio taxonômico de Malpighiaceae na Paraíba, foram registrados 13 gêneros e 28 espécies, sendo 17 endêmicas do Brasil e 8 como novos registros no estado o que demonstra a riqueza e a representatividade de Malpighiaceae. Entretanto, mesmo com algumas pesquisas taxonômicas e florísticas realizadas no estado, ainda há uma grande diversidade a ser conhecida nos domínios paraibanos (Flora do Brasil, 2020).

A família Malpighiaceae está inserida na ordem Malpighiales, caracterizando-se morfologicamente pela existência de folhas simples e perenes, alternadas ou opostas com a presença de nectários extraflorais na base das folhas ou das brácteas (Figura 2 – A, p.18). Suas flores são bissexuais, as pétalas e as sépalas são separadas entre si e as pentâmeras possuem formato unguiculado que auxilia na atração e orientação de polinizadores (Figura 2 – B, p. 18). Ainda, apresentam glândulas oleíferas nas sépalas na base da face abaxial (Anderson, 1979; Vogel, 1990). Em grande parte das espécies, o androceu possui dez estames e o gineceu três carpelos uniovulados, contendo um estilete em cada. Seus frutos são esquizocárpicos, alados ou drupáceos (Alves; Sebastiani, 2015).

Figura 2 - Visão geral das folhas (A), flor característica de Malpighiaceae (B).



Fonte: adaptado de Mendes, 2019.

O estudo de Grisebach (1858) ainda é o principal quanto a taxonomia e serviu como fonte para Niendezu (1928) para realizar a primeira divisão da família. Alguns autores consideram sua classificação difícil, então foi proposto adotar termos informais para a família, ao invés de uma divisão em pequenas subfamílias monofiléticas. Cameron e colaboradores (2001) dividiram Malpighiaceae nos clados Banisterioides, sendo monofilético, Bysonimoides e Hiraeoides. Atualmente, a família encontra-se dividida em 16 clados informais: Bysoniomoides, Acmantheroides, Galphimioides, Acridocarpoides, Mcvaughnioides, Pticholaestoides, Banisterioides, Tristellateoides, Hiraeoides, Tetrapterioides, Christianelloides, Stigmaphylloides, Cordobioides, Aspiscarpoides, Malpighioides e Madagasikarioides. A dificuldade de classificação do grupo, além de resultar nessa divisão, também ocasionou a

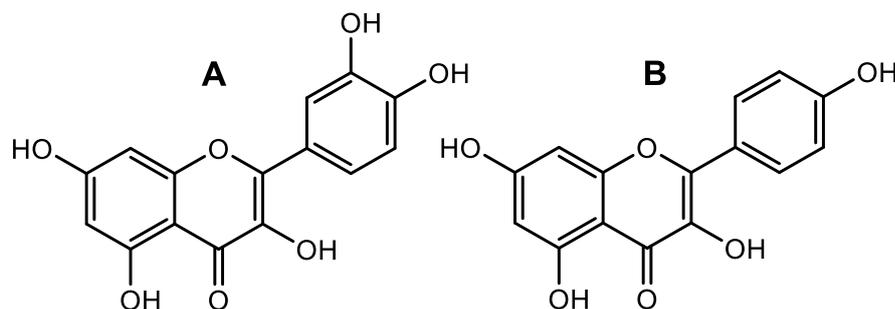
segregação de gêneros polifiléticos, *Tetrapteryx* e *Mascagnia* representativos para a família (Davis; Anderson, 2010; Francener *et al.*, 2020).

De acordo com Abbas e colaboradores (2022), diversos metabólitos secundários já foram isolados e caracterizados na família *Malpighiaceae*, apresentando efeitos medicinais. Na literatura, os metabólitos que já foram relatados na família, foram os alcaloides β -carbólicos, triterpenoides, ácidos hidroxiciâmicos, flavonoides, isoflavonoides, proantocianidinas, compostos voláteis, fitoesteróis e compostos fenólicos. No entanto, apenas algumas espécies dessa família foram pesquisadas quanto a prospecção química e atividades biológicas. Diante disso, devido à importância terapêutica dessa família, pesquisas mais aprofundadas de variados gêneros aumentam o aporte do conhecimento fitoquímico.

Os gêneros significativos da família incluem: *Acridocarpus*, *Aspidopteryx*, *Banisteriopsis*, *Bunchosia*, *Byrsonima*, *Callaeum*, *Caucanto*, *Camarea*, *Diplopteryx*, *Echinopteryx*, *Flabellaria*, *Galphimia*, *Hiptage*, *Heteropteryx*, *Hiraea*, *Malpighia*, *Stigmaphyllon*, *Tetrapteris*, *Tristellateia* e *Niedenzuella*. Quanto aos efeitos farmacológicos, pesquisas revelaram que a maioria dos gêneros possuem atividades biológicas significativas, tais como: antioxidantes, anti-inflamatórias, antidiabéticas, antimicrobianas, antidepressivas e citotóxicas (Abbas *et al.*, 2022).

As espécies arbustivas e arbóreas da família pertencem aos gêneros *Byrsonima*, *Banisteriopsis* e *Heteropteryx*, comuns em todo o Brasil. As espécies frutíferas são as mais conhecidas, como a *Malpighia glabra* (acerola), seus frutos são utilizados para consumo e produção de cosméticos, além de possuírem grande potencial farmacológico. Huber e Rodriguez-Amaya (2009) relataram em seu estudo a presença dos flavonoides quercetina (A) e canferol (B) (Figura 3, p.19) encontrados nessa fruta fresca.

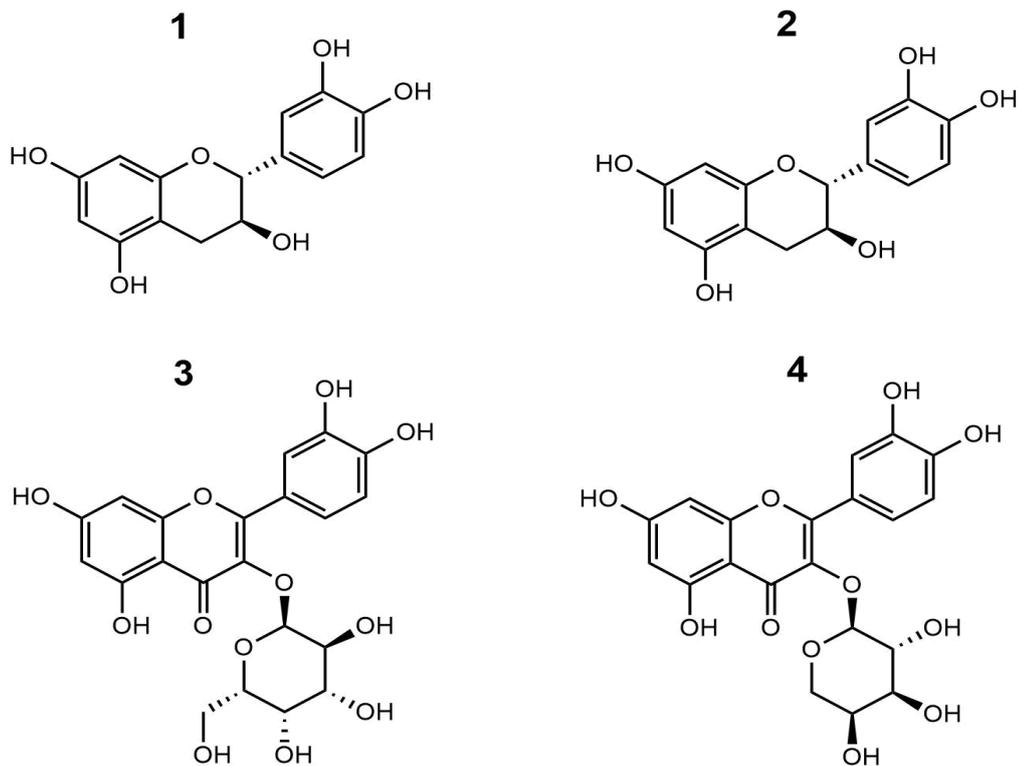
Figura 3 - Estruturas da quercetina (A) e canferol (B), respectivamente.



Fonte: própria da autora, 2024.

Byrsonima verbascifolia, o murici de flor amarela, também pertencente à família Malpighiaceae, é utilizada na indústria pela alta concentração de taninos presentes na casca. Popularmente, é empregada no tratamento de febre, úlcera, asma, infecções de pele e como diurético. Sannomiya *et al* (2005) observou em análise fitoquímica do extrato de *Byrsonima intermedia* (murici) a presença de (+) -catequina, (-) -epicatequina, hiperosídeo, guajarina (Figura 4, p. 20), que podem estar envolvidas com as possíveis atividades biológicas desse gênero.

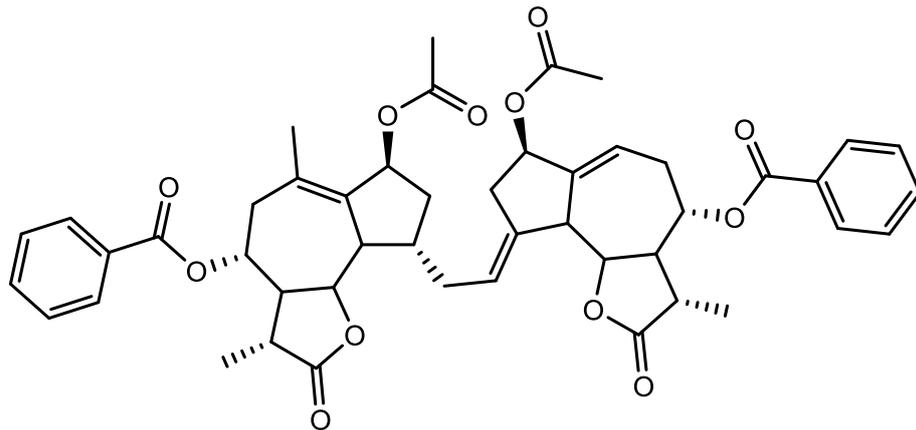
Figura 4 – Estruturas: (1) catequina, (2) epicatequina, (3) hiperosídeo e (4) guajarina



Fonte: própria da autora, 2024.

Ainda, Gutiérrez e Ramirez (2016) a partir do extrato hexânico das sementes de *Byrsonima crassifolia* isolaram os dímeros de guaianólídeos sequiterpenos lactonas (Figura 5, p. 21) com atividades antioxidantes, hipoglicemiante e hipolipidêmico. Outra espécie relatada de forma abrangente na literatura é a *Banisteriopsis caapi*, devido às suas propriedades alucinógenas. Seus ramos são utilizados para produzir uma bebida consumida em rituais desde a era pré-colombiana, conhecida como bebida de Santo Daime ou chá de ayahuasca. A partir da decocção os compostos psicoativos presentes são extraídos, sendo eles os alcaloides tipo β – carbonílicos que atuam no sistema nervoso central (Wang *et al.*, 2010).

Figura 5 - Estrutura da Byrsonina A isolado de *Byrsonima crassifolia*

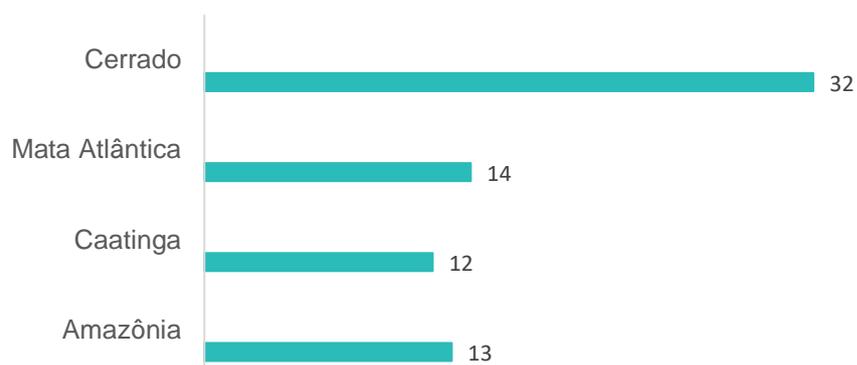


Fonte: própria da autora, 2024.

3.2 Gênero *Banisteriopsis*

O gênero *Banisteriopsis* possui aproximadamente 92 espécies no total, com prevalência na Bolívia, Equador, Colômbia, Peru e Brasil. No Cerrado, é encontrado na forma de liana, arbusto e árvores de pequeno porte (Araújo, 2014). Foi descrito pela primeira vez por Adrien de Jussie em 1832. O nome é proveniente do termo *Banisteria* L. homenagem a John Baptiste Banister, um missionário inglês e autor do primeiro catálogo de plantas da Virgínia (Gates, 1982). De acordo com Rocha (2018), possui uma alta representatividade nos estados brasileiros. Das 92 espécies relatadas, 47 têm ocorrência confirmada no Brasil, sendo 34 dessas endêmicas. Além disso, apresentam-se de forma distribuída em proporções distintas nos biomas brasileiros (Figura 6, p.21).

Figura 6 - Domínios fitogeográficos nos quais são encontradas espécies de *Banisteriopsis* no Brasil.



Fonte: alterada de Rocha, 2018.

Dentro da família Malpighiaceae é considerado um dos gêneros mais complexos, pois apresentam alguns problemas nomenclaturais. Ainda, suas espécies são difíceis de serem distinguidas através dos caracteres morfológicos geralmente empregados. Seus frutos possuem três sâmaras, contendo uma ala dorsal bem desenvolvida em cada uma, pedicelos sésseis, estípulas interpeciolares, dez estames férteis e três estiletos com estigmas terminais, ainda, tricomas em formato de T e Y (Araújo, 2008).

Quanto a sua importância dentro da família, destacam-se, pois, possuem uma série de metabólitos secundários relevantes como alcaloides, antocianinas, flavonoides, terpenoides e taninos que demonstram vários efeitos farmacológicos com resultados promissores (Huerta-Reyes; Fonseca; Aguilar, 2015). Na literatura, são encontrados vários estudos com *Banisteriopsis*, sendo a *Banisteriopsis caapi* uma das espécies mais estudadas deste gênero.

Diversos metabólitos bioativos foram isolados nas espécies de *Banisteriopsis* (Tabela 1, p. 23-26). Dentre as propriedades descritas para esses compostos estão os efeitos analgésicos; antinociceptivos; propriedades anticancerígenas; antiproliferativas; atividade antimicrobiana; forte inibição da MAO-A e atividade inibitória da acetilcolinesterase (Frias *et al.*, 2012).

Tabela 1 - Constituintes químicos encontrados nas espécies de *Banisteriopsis*

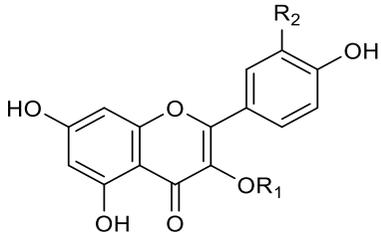
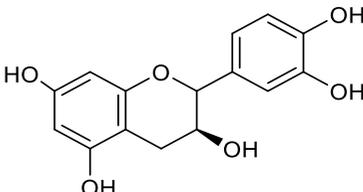
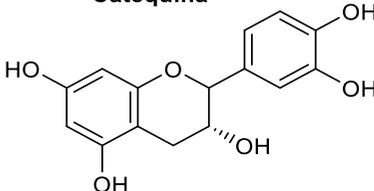
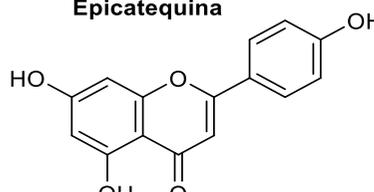
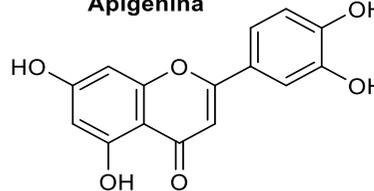
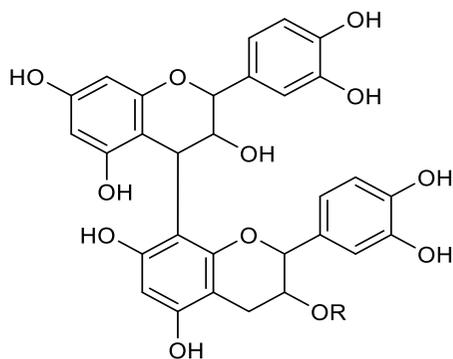
Classe	Constituintes Químicos	Espécies	Ref.	
Flavonoides	 <p> Quercetina-hexosídeo - R1=Glc ou Gal, R2 = OH Quercetina-pentosídeo - R1= Ara ou Xil Quercetina-3-O-rutinosídeo - R1=Rha-Glc, R2= OH Quercetina-3-O-α-L-Rha - R1= Rha, R2= OH Quercetina-3-O-(2"-galoil)-α-L-Rha - R1= Rha-2"-galoil, R2= OH Quercetina-3-O-(3"-galoil)-α-L-Rha- R1= Rha-3"-galoil, R2= OH Kaempferol-3-O-α-L-Rha - R1= Rha, R2= H Kaempferol-3-O-(2"-galoil)-α-L-Rha- R1= Rha-2"-galoil, R2= H </p>	 <p>Catequina</p>	<i>Banisteriopsis argyrophylla</i> (Folhas)	Quaresma <i>et al.</i> , 2020 Oliveira <i>et al.</i> , 2018
		 <p>Epicatequina</p>	<i>Banisteriopsis anisandra</i> (Folhas – Quercetina-3-O- α -L-Rha)	Freitas <i>et al.</i> , 2015
		 <p>Apigenina</p>	<i>Banisteriopsis variabilis</i> (Flores e Folhas)	Queiroz <i>et al.</i> , 2017
		 <p>Luteolina</p>	<i>Banisteriopsis campestris</i> (Folhas, Caule e Raízes)	Rocha, 2018
		 <p> Dímero procianidina - R=H Monogalato de dímero de procianidina - R = galato </p>	<i>Banisteriopsis laevifolia</i> (Flores e Folhas)	Alexandre <i>et al.</i> , 2022
			<i>Banisteriopsis malifolia</i> (Folhas)	Martins, 2019

Tabela 1 (Cont.) - Constituintes químicos encontrados nas espécies de *Banisteriopsis*

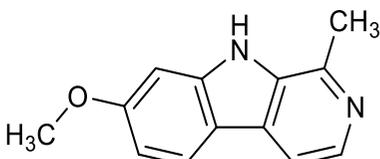
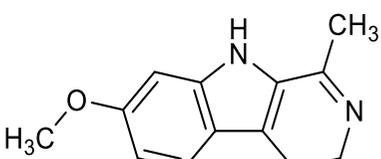
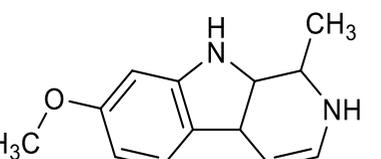
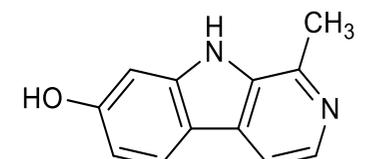
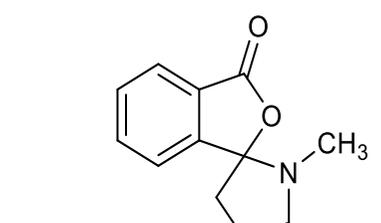
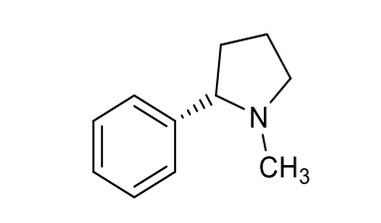
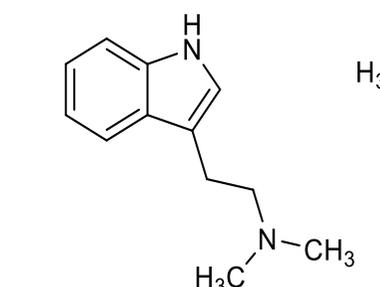
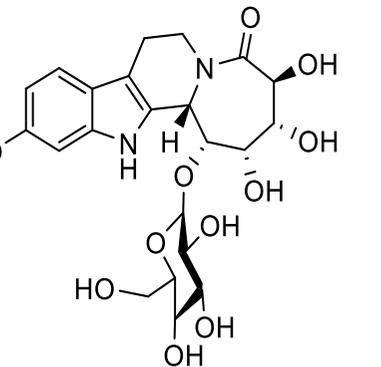
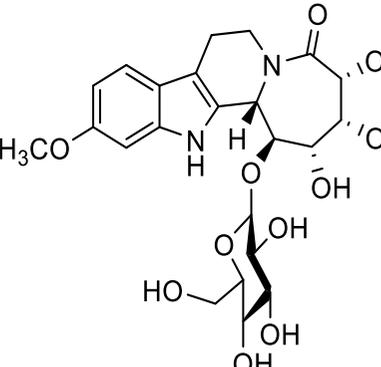
Classe	Constituintes Químicos			Espécies	Ref.
Alcaloides					
	Harmina	Harmalina	Tetrahydroharmina		
				<i>Banisteriopsis argetea</i> (Folhas)	Ghosal; Mazumder, 1971
	Harmol	Shihunina	Dihidroshihunina		
				<i>Banisteriopsis caapi</i> (Partes aéreas e cascas)	Samoylanko <i>et al</i> , 2010
	N, N-dimetiltriptamina	Banistenosídeo A	Banistenosídeo B		

Tabela 1 (Cont.) - Constituintes químicos encontrados nas espécies de *Banisteriopsis*

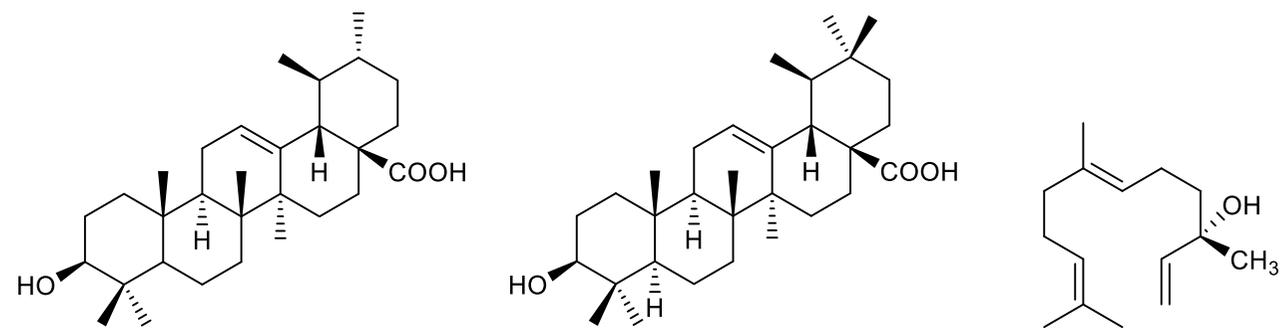
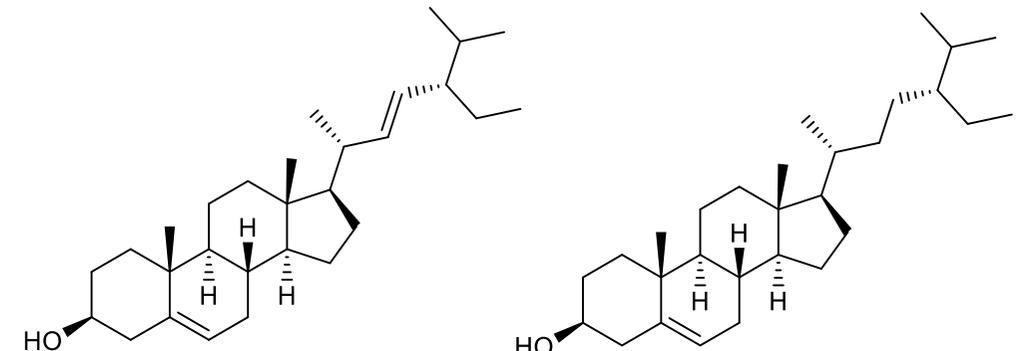
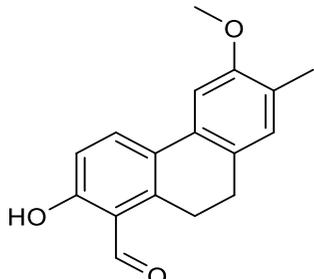
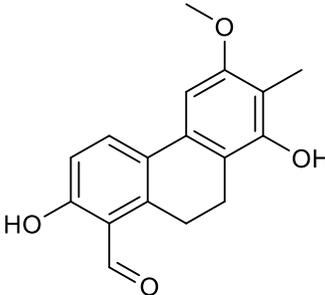
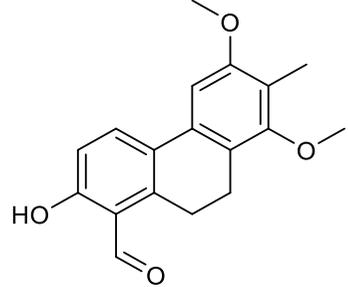
Classe	Constituintes Químicos	Espécies	Ref.
Terpenoides	 <p> <chem>CC12CCC3C(C1)C(=C)C4C(C)C(=O)O[C@H]4[C@@H]3[C@H]2O</chem> Ácido ursólico </p> <p> <chem>CC12CCC3C(C1)C(=C)C4C(C)C(=O)O[C@H]4[C@@H]3[C@H]2O</chem> Ácido Oleanólico </p> <p> <chem>CC(C)C=CC(O)C=C</chem> Nerolidol </p>	<i>Banisteriopsis caapi</i>	Aquino, 1991
Esteroides	 <p> <chem>CC(C)C=CC(O)C=C</chem> Estigmasterol </p> <p> <chem>CC(C)C=CC(O)C=C</chem> β - sitosterol </p>	<i>Banisteriopsis anisandra</i> (Folhas e Raízes)	Freitas <i>et al.</i> , 2015

Tabela 1 (Cont.) - Constituintes químicos encontrados nas espécies de *Banisteriopsis*

Classe	Constituintes Químicos	Espécies	Ref.
Diidrofenantrenos	 <p data-bbox="571 654 1366 686">2-hidroxi-6-metoxi-7-metil-9,10-diidrofenantreno-1-carbaldeído</p>	<i>Banisteriopsis anisandra</i> (Raízes)	Freitas <i>et al.</i> , 2015
	 <p data-bbox="560 1045 1377 1077">2,8-dihidroxi-6-metoxi-7-metil-9,10-diidrofenantreno-1-carbaldeído</p>		
	 <p data-bbox="571 1388 1366 1420">2-hidroxi-6,8-dimetoxi-7-metil-9,10-diidrofenantreno-1-carbaldeído</p>		

3.3 *Banisteriopsis stellaris* (Griseb.) B. Gates

Banisteriopsis stellaris (Griseb.) B. Gates é uma espécie do subgênero Hemiramma, com sinonímia de *Banisteria comans* e *Banisteria minarum* (Figura 7, p.27). Apresenta em sua estrutura botânica folhas simples, pecioladas, glabras, opostas, com 2-5 mm, lanceolada, base cordada, ápice agudo, margem inteira. O caule com córtex marrom externamente, com estrutura interna regular e lenticelado. Liana com caule volúvel dextroso. Flores brancas hermafroditas, pentâmeras, actinomorfas, 2 mm, corola alva, fimbriada, dialipétala, gineceu sincárpico. Frutos esquizocárpicos, samarídios de ala rósea e sementes subglobosas (Weiser, 2001).

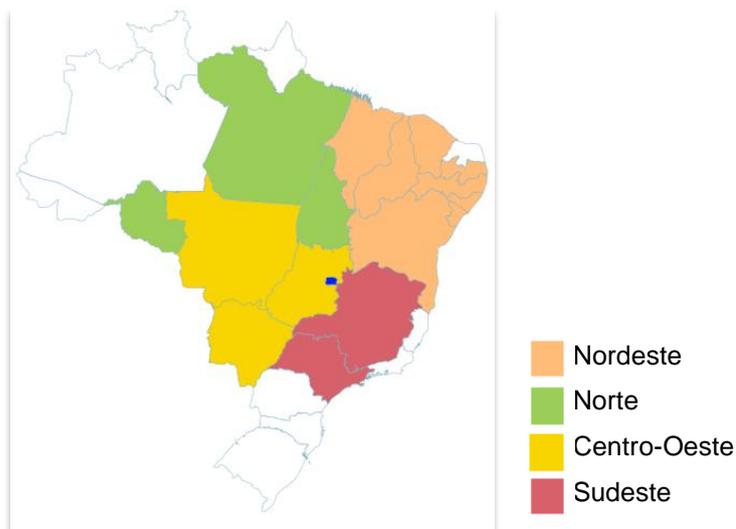
Figura 7 - Imagens da espécie *B. stellaris*



Fonte: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:29280-2>> Acessado em jun. 2022; Almeida, 2020.

Ocorre em terrenos secos com fisionomias campestres e savânicas, floresce de dezembro a outubro, frutificando de janeiro a outubro (Gates 1982). *Banisteriopsis stellaris* também é conhecida popularmente como marmelinha-da-flor-branca, uma espécie nativa brasileira, encontrada principalmente na Amazônia, Cerrado e na Caatinga (Figura 8, p. 28) (Francener; Almeida, 2023).

Figura 8 – Distribuição de *B. stellaris* no Brasil



Fonte: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB19411> > Acessado em nov. 2023.

No estudo de Oki (2005) que observava a interação de larvas com espécies de Malpighiaceae, um dos objetivos foi analisar a presença dos principais constituintes de defesa presentes nas espécies. Assim, *Banisteriopsis stellaris* foi coletada na região do Cerrado no estado de São Paulo para serem realizadas análises qualitativas de taninos, glicosídeos cianogênicos e alcaloides, com intuito de obter uma avaliação preliminar da presença desses compostos na espécie. Como resultado dos testes realizados, confirmou-se a ausência de glicosídeos cianogênicos e a presença de taninos condensados e alcaloides β -carbolínicos. Porém, não há estudos de isolamento e caracterização estrutural de nenhum metabólito secundário na espécie *B. stellaris* até o momento.

3.4 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos, também conhecidos como polifenóis, constituem uma classe de metabólitos secundários distribuídos amplamente nas plantas. Apresentam uma grande diversidade estrutural sendo conhecidas mais de 8 mil estruturas químicas, desde compostos simples como os ácidos fenólicos até compostos com alto grau de polimerização como os taninos. São de extrema importância para o desenvolvimento morfológico, fisiológico e reprodutor das plantas, como também, na defesa contra patógenos, herbívoros e estresses ambientais (Dai; Mumper, 2010; Taiz; Zeiger, 2013).

O interesse em polifenóis é crescente, sendo alvo de diversos estudos por suas propriedades benéficas a saúde. Apresentam algumas atividades biológicas, sendo elas: antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antitumoral, antiviral, anticoagulante, contra doenças de pele, doenças neurodegenerativas, doenças cardiovasculares, obesidade, fotoprotetora, entre outras (Almeida; Dos Santos; Ventura, 2018).

Sua origem biossintética ocorre 60% através da via do ácido chiquímico e 40% da via do acetato-polimalato. Diferem em suas estruturas, comportamento químico e características físico-químicas. Caracterizam-se pela presença de pelo menos um anel aromático ligado a um grupo hidroxila (Quan *et al.*, 2019). Para originar os compostos derivados do acetato ocorre o processo de condensação do acetil-CoA com o malonil-CoA, este fornece a unidade C₂ para a síntese de ácidos graxos, prostaglandinas e os polifenóis. O padrão de substituição dos polifenóis é determinado pela sua origem biogenética. Nesse sentido, por meio da via do acetato-polimalato é possível obter compostos hidroxilados na posição *meta*. Já pela via do ácido chiquímico a partir dos carboidratos, os compostos são hidroxilados em posição *orto* por se formarem a partir do ácido cinâmico (Bruneton, 1991; Simões, 2007)

A biossíntese dos polifenóis geralmente ocorre durante o crescimento ou na fase de diferenciação celular da planta. Ainda, é importante salientar que os vegetais têm capacidade de produzir um determinado composto a partir de diferentes intermediários, bem como, sintetizar substâncias distintas por meio de um mesmo intermediário. Isso, demonstra as variadas possibilidades de rotas biogenéticas para os diversos metabólitos secundários (Simões, 2007).

Os compostos fenólicos possuem diversos esqueletos básicos (Tabela 2, p. 30) na sua forma livre, mas também podem estar presentes nos vegetais na forma de ésteres, amidas ou ligados a açúcares (glicosídeos) (Bravo, 1998). Assim, de acordo com as características estruturais dos polifenóis, por apresentarem uma grande presença de grupos funcionais, que os tornam solúveis em água e em solventes orgânicos polares, as frações acetato de etila, n-butanol e metanol, são promissoras para o estudo de isolamento por serem capazes de extrair esses compostos mais facilmente do material vegetal (Nunes, 2016).

Tabela 2 – Classificação dos compostos fenólicos de acordo com seus esqueletos básicos

Classificação	Esqueleto básico
Fenóis simples, benzoquinonas	C ₆
Ácidos fenólicos	C ₆ -C ₁
Acetofenonas e ácidos fenilacéticos	C ₆ -C ₂
Fenilpropanoides: ácidos cinâmicos e análogos, fenilpropenos, cumarinas, isocumarinas e cromonas	C ₆ -C ₃
Naftoquinonas	C ₆ -C ₄
Xantonas	C ₆ -C ₁ -C ₆
Estilbenos, antraquinonas	C ₆ -C ₂ -C ₆
Flavonoides e isoflavonoides	C ₆ -C ₃ -C ₆
Lignanás	(C ₆ -C ₃) ₂
Diflavonoides	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂
Melaninas vegetais	(C ₆) _n
Ligninas	(C ₆ -C ₃) _n
Taninos hidrolisáveis	(C ₆ -C ₁) _n
Taninos condensados	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n

Fonte: Simões *et al.*, 2007.

3.5 Flavonoides

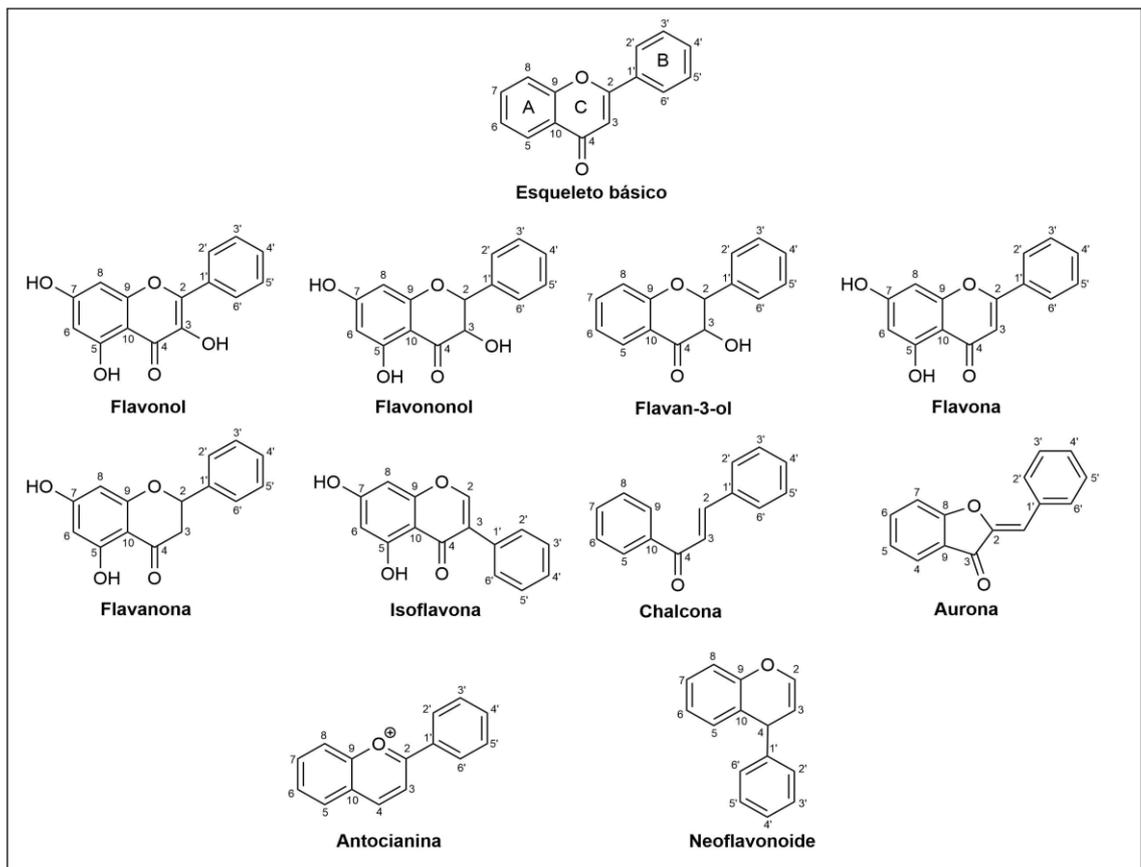
Os flavonoides são compostos amplamente distribuídos no reino vegetal e abundantes em angiospermas. Possuem uma grande diversidade estrutural, especificidade em algumas espécies, relativa facilidade de identificação e concentração vegetal, o que proporciona a sua utilização como marcadores taxonômicos (Zuanazzi; Montanha, 2011).

Por serem representantes da classe de compostos fenólicos são biossintetizados (Figura 10, p.32) a partir da via dos fenilpropanoides (acetato e ácido chiquímico), que ao passarem por uma série de reações de condensação entre o ácido hidroxicinâmico e resíduos de malonil-CoA, resultam no seu esqueleto básico composto por 15 átomos de carbono do tipo C₆-C₃-C₆, em que os anéis C₆ são necessariamente aromáticos (anéis A e B) e unidos por um anel pirano heterocíclico (anel C) (Figura 9, p. 31) (Rice-Evans, 2004).

Os flavonoides podem ser divididos em grupos variados (Figura 9, p. 31), levando em consideração o grau de ciclização, insaturação e oxidação dos anéis. Sendo esses grupos: flavonóis, flavononois, flavanonas, flavonas, isoflavonas, biflavonoides, neoflavonoides, chalconas, flavan-3-óis, antocianinas, auronas, catequinas e pterocarpanos (Kumar; Pandey, 2013; Faggio *et al.*, 2017). Ainda, podem ocorrer na forma de agliconas (livre), glicosilados e como derivados metilados (Havsteen, 2002).

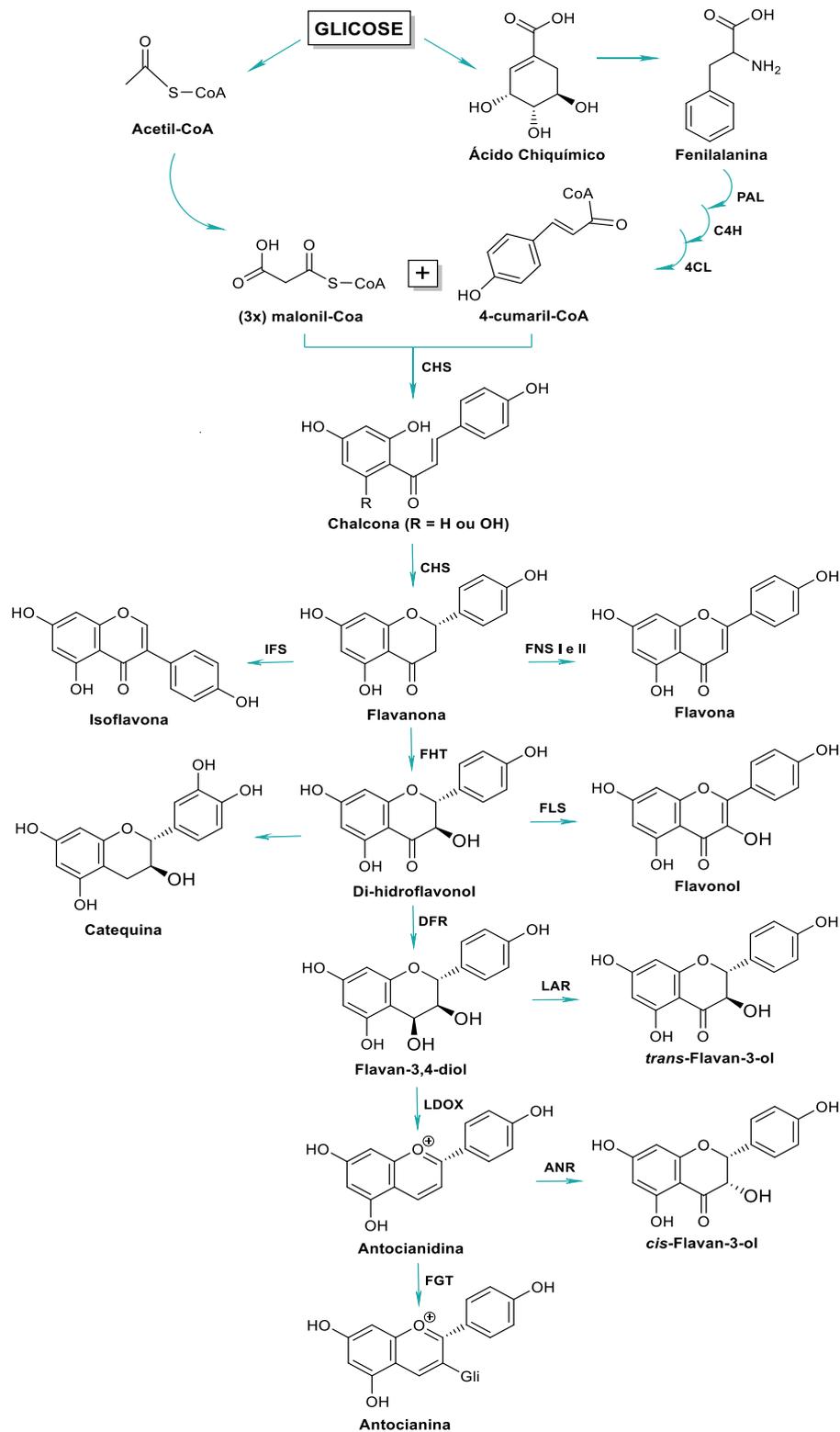
Por serem frequentemente hidroxilados nas posições 3, 5, 7, 3', 4' e 5' apresentam a tendência de os grupos hidroxilas serem metilados, acetilados ou sulfatados. As prenilações normalmente ocorrem de forma direta no átomo de carbono no anel aromático, no entanto, O-prenilações também já foram relatadas (Oldoni, 2007). Nas espécies vegetais, as formas O-glicosiladas e C-glicosiladas estão bem presentes, a primeira possui o açúcar substituído em um grupo hidroxila (-OH) da aglicona, principalmente nas posições C3 ou C7. Os C-glicosídeos, entretanto, apresentam o açúcar ligados diretamente a um carbono da aglicona, geralmente no C6 ou C8 (Sandhar *et al.*, 2011).

Figura 9 – Estruturas dos esqueletos de flavonoides



Fonte: adaptado de Lima, 2020; Panche *et al.*, 2016.

Figura 10 – Biossíntese dos flavonoides.



Legenda:

PAL - fenilalanina amônia-liase
C4H - cinamato 4-hidroxilase
4CL - 4-cumaril-CoA sintase
CHS - chalcona sintase
CHI - chalcona isomerase

IFS - isoflavona sintase
FNS - flavona sintase
FHT - flavanona-3-β-hidroxilase
FLS - flavonol sintase
DFR - di-hidroflavonol-4-redutase

LDOX - leucoantocianidina dioxigenase
LAR - leucoantocianidina redutase
ANR - antocianidina redutase
FGT - flavonoide glicosiltransferase

Fonte: adaptado de Lima, 2020; Dewick, 2009.

As diferentes moléculas de flavonoides desempenham diversas funções biológicas para as plantas que as produzem. Dessas, pode-se citar a coloração das flores para atração de polinizadores, transporte do hormônio celular vegetal (auxina), proteção contra radiação ultravioleta (UV), proteção contra patógenos e insetos, entre outras atividades (Agati *et al.*, 2012). Ademais, os flavonoides também possuem função de proteção antioxidante no vegetal, muitos genes que controlam a síntese desses compostos são induzidos em condições de estresse, assim, a quantidade produzida dessas moléculas durante a exposição a fatores como seca, privação nutricional, danos mecânicos, intoxicação por metais pesados, microrganismos e parasitas tendem a aumentar. Espécies que passam por tais problemas acumulam flavonoides dihidroxi substituídos no anel B, pois elevam a efetividade na neutralização de espécies reativas de oxigênio (Hernández *et al.*, 2009; Agati *et al.*, 2012).

De acordo com Ullah e colaboradores (2020) o esforço crescente para o isolamento de flavonoides de variadas plantas é mediado pelos efeitos positivos que esses compostos proporcionam na saúde humana. São relatados na literatura como agentes anticancerígenos e inibidores do crescimento celular. Vários análogos da auroa apresentam mecanismos diferentes contra as células cancerígenas por atuarem em muitos alvos possíveis. Esses alvos incluem quinase dependente de ciclina, receptor de adenosina, telomerase, microtúbulos, etc (Alsayari *et al.*, 2019). Segundo Yang *et al.* (2019) a luteolina apresenta atividade pró-apoptótica nas células do carcinoma hepatocelular (HCC), interrompendo o ciclo celular do câncer no estágio G2/M.

Quanto ao potencial antioxidante dos flavonoides está associado à estrutura molecular e, mais precisamente, à localização e número total dos grupos –OH, aos efeitos de conjugação e ressonância, ao ambiente circundante que modifica o sítio antioxidante termodinamicamente favorecido e ao mecanismo antioxidante específico (Zheng *et al.*, 2019). Vários estudos demonstraram que os flavonoides têm ações cardioprotetoras e neuroprotetoras e habilidades quimioprotetoras (Xie *et al.*, 2018; Williams *et al.*, 2004).

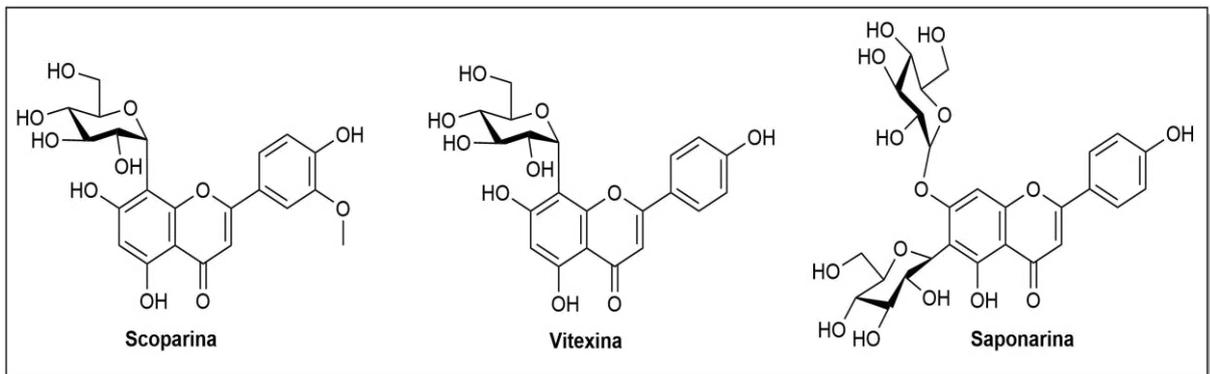
Os flavonoides previnem doenças neurodegenerativas relacionadas a idade e, em particular, demência, Parkinson e doença de Alzheimer (Orhan *et al.*, 2015; Magalingam *et al.*, 2015; Bursal *et al.*, 2019). Ainda, segundo Ullah e colaboradores (2020) vários ensaios clínicos mostraram que os flavonoides têm propriedades anti-

inflamatórias e bloqueiam várias enzimas envolvidas nas vias de inflamação. Como Wang e colaboradores (2018) que demonstraram a atividade anti-inflamatória do canferol e seus glicosídeos. Além dessas propriedades relatadas, os flavonoides também estão dispostos na literatura com efeitos antivirais, antibacterianos, antifúngicos, antidiabéticos, antimaláricos, antiateroscleróticos e hepatoprotetores (Ullah *et al.*, 2020; Santos; Rodrigues, 2017).

3.5.1 Flavonoides C-glicosilados

Os flavonoides C-glicosilados foram descobertos, historicamente, no século XIX com a scoparina em 1851, a vitexina em 1898 e a saponarina em 1906 (Figura 11, p. 34). São amplamente distribuídos no reino vegetal, com aproximadamente 362 espécies ricas em tais compostos. Geralmente, os flavonoides C-glicosilados e os O-glicosilados coexistem, sendo necessária a utilização de técnicas cromatográficas e espectroscópicas específicas para auxiliar no isolamento e caracterização dessas estruturas (Talhi; Silva, 2012).

Figura 11 – Primeiros flavonoides C-glicosilados identificados.

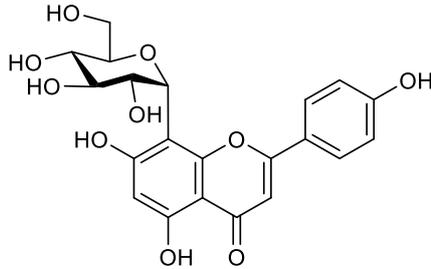
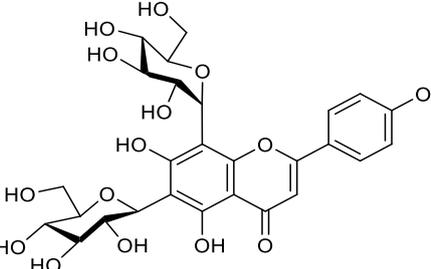
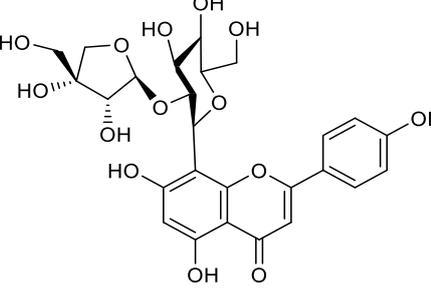
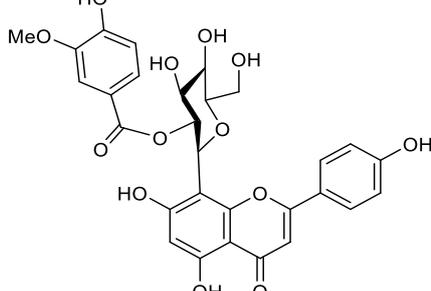


Fonte: própria da autora, 2024.

Apresentam como característica principal a estabilidade frente à hidrólise ácida, que decorre da ligação carbono-carbono entre a molécula do açúcar e o núcleo fundamental. Os flavonoides C-glicosilados podem ser divididos em agliconas não-hidrolisáveis (mono e di-C-glicosilflavonoides) e nos seus derivados hidrolisáveis (O-glicosídeos e O-acil derivados), sendo eles, os mono-C-glicosilflavonoides, di-C-glicosilflavonoides, O-glicosil-C-glicosilflavonoides e O-acil-C-glicosilflavonoides (Tabela 3, p. 35) (Harborne; Mabry, 1982).

No entanto, os compostos 5-hidroxi-C-glicosilflavonas podem sofrer o rearranjo de Wessely-Moser. Esse rearranjo isomérico ácido ocorre devido à abertura hidrolítica do anel pirano (anel C) seguido do fechamento deste anel com uma das hidroxilas em posição orto quanto ao grupo carbonila (Markham, 1982; Ortmann, 2013).

Tabela 3 – Classes dos flavonoides C-glicosídeos e suas estruturas químicas

Classificação	Estrutura químicas
<p>Mono-C-glicosilflavonoides</p> <p>Possui uma única molécula de açúcar ligada a aglicona, nas posições C-6 ou C-8, principalmente. Faz parte de uma das classes mais abundantes em plantas.</p>	 <p>Vitexina</p>
<p>Di-C-glicosilflavonoides</p> <p>Caracteriza-se por possuir duas moléculas de açúcar ligadas a aglicona.</p>	 <p>Vicenina-2</p>
<p>O-glicosil-C-glicosilflavonoides</p> <p>Caracteriza-se por substituição O-glicosídica através de uma OH fenólica pertencente ao esqueleto do flavonoide e/ou através de uma OH do fragmento C-glicosídico</p>	 <p>Ficuflavosideo</p>
<p>O-acil-C-glicosilflavonoides</p> <p>Caracteriza-se por pelo menos um grupamento acila conjugado a molécula do flavonoide C-glicosídeo em qualquer posição</p>	 <p>Vitexina-2''-O-vaniloila</p>

3.6 Terpenoides

Com mais de 40 mil compostos, os terpenoides são considerados uma das classes mais abundantes de metabólitos secundários na natureza, destacam-se por sua ampla aplicação na área farmacêutica e pela sua complexidade estrutural. Ainda, apresentam diversas propriedades medicinais, incluindo efeitos anti-inflamatórios, analgésicos, cardiovasculares e antitumorais (Tetali, 2018).

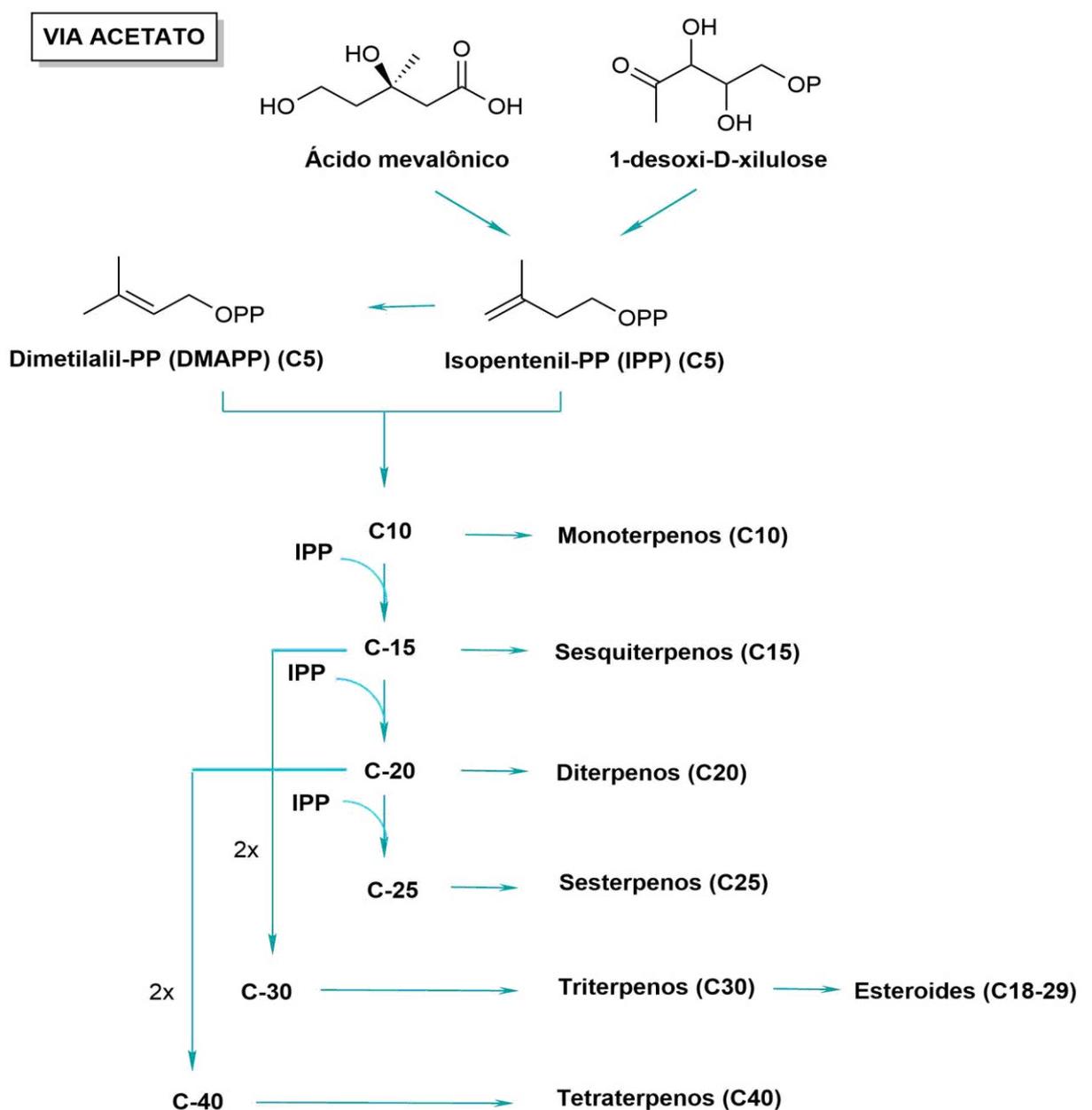
A biossíntese dos terpenoides (Figura 12, p. 37) pode ser dividida em duas rotas principais: a via do ácido mevalônico, um produto do metabolismo do acetato, e a rota do metileritritol fosfato (MEP), na qual são sintetizados a partir dos intermediários glicolíticos 1-desoxi-D-xilulose e metileritritol fosfato (Simões *et al.*, 2017). São formados e classificados através da união e quantidade de unidades isoprênicas, sendo esta uma cadeia acíclica que apresentam cinco átomos de carbonos em sua estrutura (C5), considerada a base para a formação dos terpenoides (Dewick, 2009)

As unidades isoprênicas ativas bioquimicamente, difosfato dimetilalila (DMAPP) e difosfato isopentila (IPP), são essenciais para as reações de formação desses metabólitos. A adição sucessiva de unidades isoprênicas gera classes distintas de terpenoides, incluindo monoterpênos (C10), sesquiterpênos (C15), diterpênos (C20), sesterterpênos (C25), triterpênos (C30), e tetraterpênos (C40). Existem também monoterpênos irregulares e iridoides. Dentre eles, os triterpênos constituem o grupo com maior diversidade, contando com mais de 4 mil tipos diferentes relatados em vários esqueletos (Ignea *et al.*, 2018; Simões *et al.*, 2017).

Os triterpenoides são compostos com estrutura do tipo C30, geralmente policíclica e frequentemente hidroxilada na posição C-3. Esses compostos têm sua origem no hidrocarboneto esqualeno, ou, no caso dos 3- β -hidroxiterpenoides, no isômero 3-S do 2,3-epóxido-esqualeno. A conformação adotada pelo trans-2,3-epóxido-esqualeno no início da ciclização determina a estereoquímica da junção do anel no triterpeno resultante. Os esqueletos carbônicos dos triterpênos podem ser tetracíclicos, incluindo damaranos, cicloartanos, tirucalanos ou pentacíclicos. As estruturas pentacíclicas podem se dispor em cinco anéis fundidos de seis membros, quatro anéis de seis membros ou cinco anéis de seis membros, como nas famílias oleanano, ursano, friedelano e lupano (Chung, 2019).

O esqueleto lupano sofre um rearranjo 1,2-alkil, expandindo o anel de cinco membros para seis, originando o precursor dos oleananos conhecido como β -amirina. Uma migração 1,2 de metila resulta nos derivados ursanos, comumente chamados de α -amirina. Devido à semelhança estrutural, esses isômeros muitas vezes são isolados como misturas, devido ao grande número de sinais provenientes de hidrogênios diastereotópicos (Dewick, 2009; Xiao *et al.*, 2018).

Figura 12 – Biossíntese dos terpenoides.



Fonte: adaptada de Silva, 2020.

Devido à grande diversidade deste grupo de metabólitos e por possuírem uma grande variedade de esqueletos, pesquisas realizadas mostram que muitos triterpenos apresentam diferentes atividades farmacológicas, como por exemplo: atividade antitumoral, antiviral e atuação na diminuição do colesterol (Xiao *et al.*, 2018; Yousef *et al.*, 2018). Destacam-se ainda as atividades anticancerígena e anti-inflamatória que têm sido descritas para alguns triterpenos pentacíclicos (Salvador *et al.*, 2017).

3.7 Toxicidade e Genotoxicidade

O estudo das consequências prejudiciais ao organismo, ou efeitos tóxicos, é uma preocupação central da Toxicologia, cujo princípio reside no entendimento dos riscos da exposição humana a diferentes produtos, substâncias químicas e efeitos físicos, visando estabelecer condições seguras de exposição a esses agentes (Ramalho, 2016).

No contexto das plantas medicinais, a toxicidade de seus produtos muitas vezes é subestimada, e a ocorrência de reações adversas geralmente é menor do que a dos medicamentos sintéticos (Ferreira-Machado *et al.*, 2004). No entanto, pesquisas têm demonstrado que algumas espécies vegetais contêm substâncias com potencial tóxico elevado, sendo necessária a observação dos riscos toxicológicos ao utilizá-las (Veiga Junior; Pinto; Maciel, 2005).

De acordo com Silva e colaboradores (2023) para que uma planta possua efeito tóxico, é necessário que algum produto de seu metabolismo, ao ser inalado, ingerido ou entrar em contato com seres humanos, provoque alterações na homeostasia, podendo levar o mesmo a óbito. Diante dessa realidade, as investigações toxicológicas de plantas medicinais utilizadas pela população visam garantir a segurança humana, contribuindo para uma melhor compreensão de seu consumo e eficácia frente aos possíveis efeitos adversos e estabelecer limites de segurança para a aplicação de novas substâncias, facilitando assim o desenvolvimento de novos medicamentos (Hodgson, 2003).

Segundo Silveira (2007) a toxicidade e a segurança de uma substância química possuem relação com diversas situações, tais como: concentração e tempo de exposição. O que torna essencial a realização de testes de toxicidade de forma padronizada e em condições replicáveis.

Diante disso, a avaliação da toxicidade busca determinar o potencial das substâncias em condições testadas causar danos à saúde humana. Testes de toxicidade sistêmica aguda são utilizados para classificar e rotular devidamente compostos com base em seu potencial de letalidade, conforme exigido pela legislação. Além da letalidade, esses estudos investigam outros parâmetros, como o potencial tóxico em órgãos específicos, e a relação entre a dose administrada e a resposta observada. Essas informações obtidas incluem o estabelecimento de doses para estudos adicionais (Prieto, *et al.*, 2006; Coecke, *et al.*, 2006).

Testes de toxicidade aguda avaliam a toxicidade de uma substância quando administrada em uma ou mais doses durante um período não superior a 24 horas (Brasil, 2014). Esses estudos envolvem a observação diária da substância-teste por um período de 14 dias, durante o qual são avaliados diversos parâmetros, como alterações comportamentais, evolução ponderal, consumo de água e ração, glicemia e temperatura. Ao final do período de tratamento, são realizadas análises hematológicas e bioquímicas do sangue, além de análises histopatológicas dos órgãos (Carvalho, 2006). Dentre os métodos empregados para avaliar os efeitos toxicológicos *in vivo*, o teste de toxicidade aguda permite definir o grau de toxicidade intrínseca do composto, identificar órgãos que podem ser alvos de efeitos indesejados e selecionar doses para estudos de longa duração (Oliveira, 2019).

A Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD; www.oecd.org) estabelece o protocolo que orienta a avaliação da toxicidade aguda de drogas. O teste envolve a administração dos produtos em doses de 2000 mg kg⁻¹ e classifica o nível de toxicidade com base na mortalidade observada em diferentes doses. Além da mortalidade, a análise toxicológica pode incluir a avaliação de alterações em órgãos e parâmetros bioquímicos e fisiológicos. Adicionalmente, a triagem comportamental permite avaliar se uma determinada droga modifica a atividade cerebral, registrando sinais ou alterações de comportamento apresentados pelos animais (Oliveira, 2019).

No teste de genotoxicidade, busca-se verificar a presença de substâncias genotóxicas que possam afetar negativamente a integridade do material genético das células, danificando o DNA. Embora a capacidade de uma substância de danificar o DNA não a torne automaticamente um perigo para a saúde, há preocupação de que o acúmulo dessas alterações possa ser potencialmente mutagênico e/ou carcinogênico (Smith, 1996).

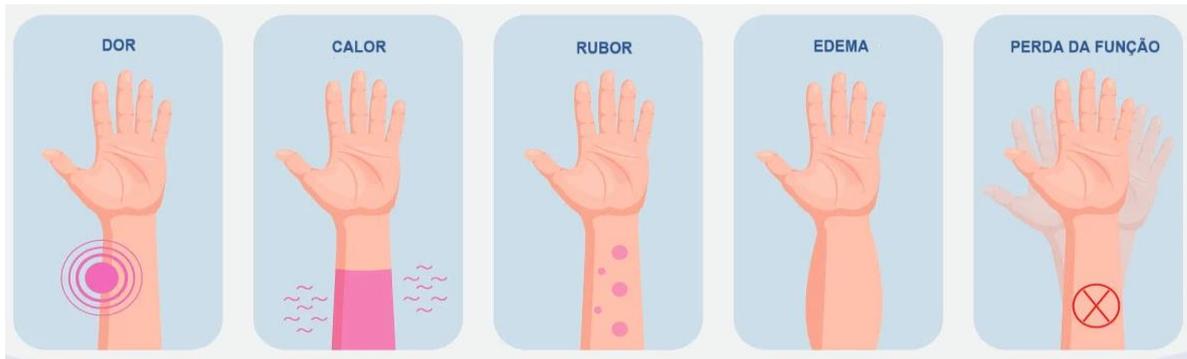
Quando as anormalidades genéticas são evidentes, são chamadas de instabilidade cromossômica e podem ser observadas por meio de estudos citogenéticos, incluindo a análise de micronúcleos (Duesberg *et al.*, 1998). Os micronúcleos são estruturas visualizadas ao microscópio óptico como pequenos corpos de DNA, encontrados no citoplasma de células em divisão. Essas estruturas são formadas a partir de fragmentos cromossômicos e/ou cromossomos inteiros que não foram incluídos nos núcleos filhos durante a divisão celular (Nervsesyan e Adamyan, 2004). Também podem originar-se de fragmentos acêntricos, cromossomos cêntricos ou de quebras de cromossomos multicêntricos (Lohman, 1995), apresentando características cromatínicas semelhantes às do núcleo principal da célula (Carvalho *et al.*, 2002). Essas estruturas são usadas como biomarcadores de danos genéticos em indivíduos expostos a agentes genotóxicos (Cao, 2003).

A análise de células sanguíneas micronucleadas de camundongos, através da coloração de lâminas pré-coradas com acridine Orange, é uma técnica que permite a caracterização citoplasmática de eritrócitos jovens ricos em RNA ribossômico (policromócitos) e reticulócitos, além de micronúcleos. Essa técnica é utilizada para avaliar micronúcleos no diagnóstico de doenças do sangue e no monitoramento do potencial mutagênico e antimutagênico de diferentes amostras (Silva; Erdtmann; Heneiques, 2003).

3.8 Inflamação

A inflamação é uma resposta não específica a lesões teciduais causadas por estímulos físicos, químicos ou biológicos (Morgan, 2007). Os processos inflamatórios envolvem alterações bioquímicas e celulares reguladas pela liberação sequencial de mediadores, como produtos da degranulação de mastócitos, fator ativador de plaquetas (PAF), bradicinina, componentes do sistema complemento, citocinas e eicosanoides. Esses mediadores são responsáveis pelos cinco sinais (Figura 13, p. 41) característicos da resposta inflamatória: dor, calor, rubor, edema, podendo vir acompanhados ou não da perda de função do tecido ou órgão afetado (Burke *et al.*, 2006; Janeway Junior *et al.*, 2007).

Figura 13 - Cinco sinais da resposta inflamatória



Fonte: adaptado de <https://www.anahana.com/pt/physical-health/inflammation> > Acessado em fev. 2024.

O processo inflamatório agudo acontece nas células residentes, a liberação de mediadores pré-formados, a vasodilatação e o crescimento da permeabilidade endotelial permitindo a saída de um líquido rico em proteínas, isto acontece devido a variação da pressão hidrostática. O resultado deste fenômeno é uma elevada concentração de hemácias, fazendo com que os leucócitos migrem em direção a região periférica da corrente sanguínea iniciando, portanto, o processo de marginalização leucocitária, depois a diapedese e migração, etapa esta que as moléculas de adesão e a quimiocinas desempenham um papel essencial (Francischetti *et al.*, 2010).

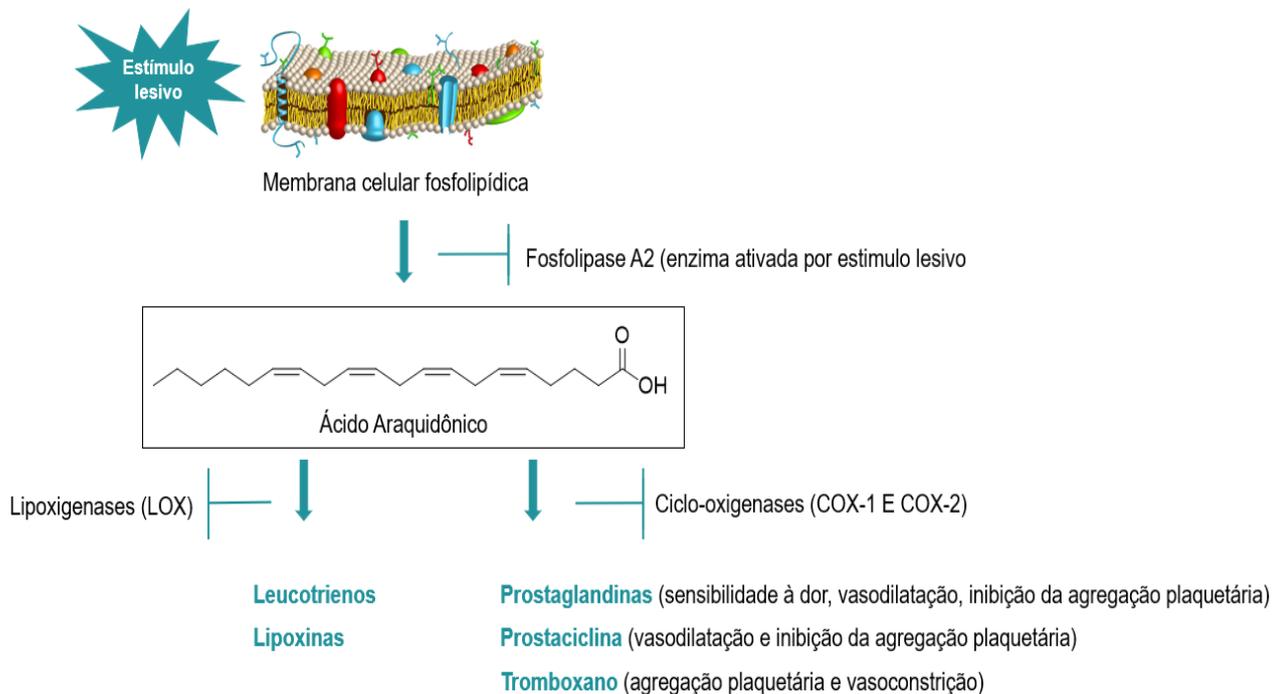
Uma parte das moléculas de ácido araquidônico (AA) é metabolizada pela ação das enzimas lipo-oxigenases (5-, 12- e 15-LOX), resultando na formação de leucotrienos (Figura 14, p. 42). Entre os leucotrienos, os leucotrienos B₄ são particularmente relevantes, sendo descritos como importantes mediadores de doenças inflamatórias crônicas. Eles estimulam os leucócitos polimorfonucleares, ativam a produção de outros leucotrienos e atuam como moléculas sinalizadoras. Devido a essas ações patogênicas, os leucotrienos são considerados alvos farmacológicos para ações anti-inflamatórias e analgésicas (Bitencourt *et al.*, 2013).

A resposta inflamatória induzida pela carragenina é dividida em duas fases. A primeira fase ocorre dentro da primeira hora após a injeção do polissacarídeo e está principalmente relacionada à liberação de histamina, serotonina, bradicinina, fator ativador de plaquetas e leucotrienos causando um rápido crescimento do edema nos primeiros 60 minutos. A segunda fase ocorre entre a primeira e a terceira hora (pico da resposta inflamatória) e é devida à liberação de prostanoídes (Figura 14, p. 42),

especialmente prostaglandinas e prostaciclina, pela ação das ciclo-oxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2) (Vinegar *et al.*, 1969; Muniappan; Sundararaj, 2003; Pereira, 2005). Durante qualquer resposta inflamatória, estímulos geralmente inócuos produzem dor, causada pela estimulação de fibras nervosas aferentes pela ação de cininas, serotonina, histamina, prostanoídes, prótons e espécies reativas de oxigênio (ROS) liberadas durante a inflamação (Scholz; Woolf, 2002).

Devido à importância da inflamação como alvo terapêutico, existem vários medicamentos anti-inflamatórios de origem sintética disponíveis no mercado, sendo a maioria inibidores da síntese de eicosanóides, principalmente por inativação da enzima ciclo-oxigenase. Esses medicamentos, classificados como anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), figuram entre os mais consumidos no mundo, dada sua ampla aplicação (Steinmeyer, 2000).

Figura 14 - Cascata da inflamação



Fonte: adaptada de Katzung, 2017 e Muri *et al.*, 2009.

Dada a relevância da pesquisa por novos fármacos que possam modular a resposta inflamatória, com menos efeitos colaterais ou por meio de diferentes mecanismos, estudos voltados para determinação da atividade anti-inflamatória são crescentes. Um método bastante utilizado para avaliar esse efeito em novos ativos é

o "Edema de pata induzido por carragenina". Nesse método, a injeção intra-plantar do polissacarídeo em ratos ou camundongos leva a um aumento gradual do volume na pata injetada, proporcional à intensidade da resposta inflamatória. A progressão do edema é calculada pela diferença entre a medida basal e aquelas realizadas a cada 60 minutos após a injeção da carragenina. A análise da interferência da substância nessa progressão pode ser feita administrando a droga, seja pela via oral ou intraperitoneal, uma hora antes da injeção da carragenina (Lapa *et al.*, 2008).

Um teste de migração de leucócitos para a cavidade peritoneal é a inflamação induzida pela carragenina. Esse agente flogístico, quando aplicado na cavidade peritoneal, induz uma resposta inflamatória caracterizada por intensa exsudação plasmática e migração de células, principalmente leucócitos (Zhang *et al.*, 2011; Damas *et al.*, 1990). Essa migração ocorre devido a um grande estímulo na liberação de mediadores inflamatórios, como prostaglandinas, histamina, bradicinina, neuropeptídeos e óxido nítrico. Substâncias com atividade anti-inflamatória podem reduzir a migração de leucócitos, inibindo a síntese e/ou liberação de mediadores quimiotáticos ou bloqueando alguma etapa do processo de migração dos leucócitos (Paulino *et al.*, 2008).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais e equipamentos utilizados

As etapas de análise, fracionamento, isolamento e purificação dos constituintes químicos foram conduzidas através de diversas técnicas, incluindo Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), Cromatografia em Coluna (CC) por Exclusão de Tamanho, Cromatografia Líquida de Média Pressão (CLMP) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Na CCDA, placas de sílica gel 60 (PF254 ART 7749) da Merck® foram empregadas, com uma espessura de 0,25 mm, e solventes orgânicos como hexano (Hex), clorofórmio (CHCl₃), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), puros e/ou em misturas, foram utilizados como eluentes. A revelação das substâncias nas placas de sílica gel foi realizada através da exposição à radiação ultravioleta (UV) em comprimentos de onda de 254 nm e 365 nm.

A cromatografia em coluna por exclusão de tamanho foi conduzida com Sephadex LH-20 da Merck® como fase fixa e metanol P.A. como fase móvel (FM). A CLMP foi realizada em um cromatógrafo BUCHI®, usando sílica gel (SiliaFlash®) com dimensões de partículas entre 0,060-0,200 mm, 70-230 mesh) como fase estacionária e como eluentes puros e em misturas o hexano, acetato de etila e metanol. O fluxo para todas as análises foi mantido a 10 mL/min.

Na CLAE em escala analítica foi usado um cromatógrafo Shimadzu Prominence® modelo 100-5-C18 conectada a uma pré-coluna C18, controlador de sistema modelo CBM-20A, bomba LC-20AT, injetor automático SIL-20AHT e detector de arranjo de díodos (DAD) SPD-M20A. O aparelho estava equipado com uma coluna de fase reversa C-18 YMC® e a fase móvel utilizada foi composta por água ultrapura acidificada com ácido fórmico (0,1%) e metanol grau HPLC. O fluxo empregado foi de 0,6 mL/min, com um volume de injeção de 20 µL e amostras preparadas a uma concentração de 1 mg mL⁻¹.

Para a CLAE em escala preparativa, um sistema Shimadzu Prominence® composto por controlador de sistema SLC-10A vp, duas bombas LC-6AD, injetor manual e detector DAD SPD-M10A. foi utilizado, com uma coluna de fase reversa C18 YMC®. A fase móvel consistiu em água ultrapura acidificada com ácido fórmico (0,1%) e metanol grau HPLC, com um fluxo de 8,0 mL/min e volumes de injeção de 100 e 200 µL.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , ^{13}C e bidimensionais foram obtidos em espectrômetro BRUKER®, operando a 500 e 400 MHz, no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) da UFPB.

4.2 Coleta do material botânico

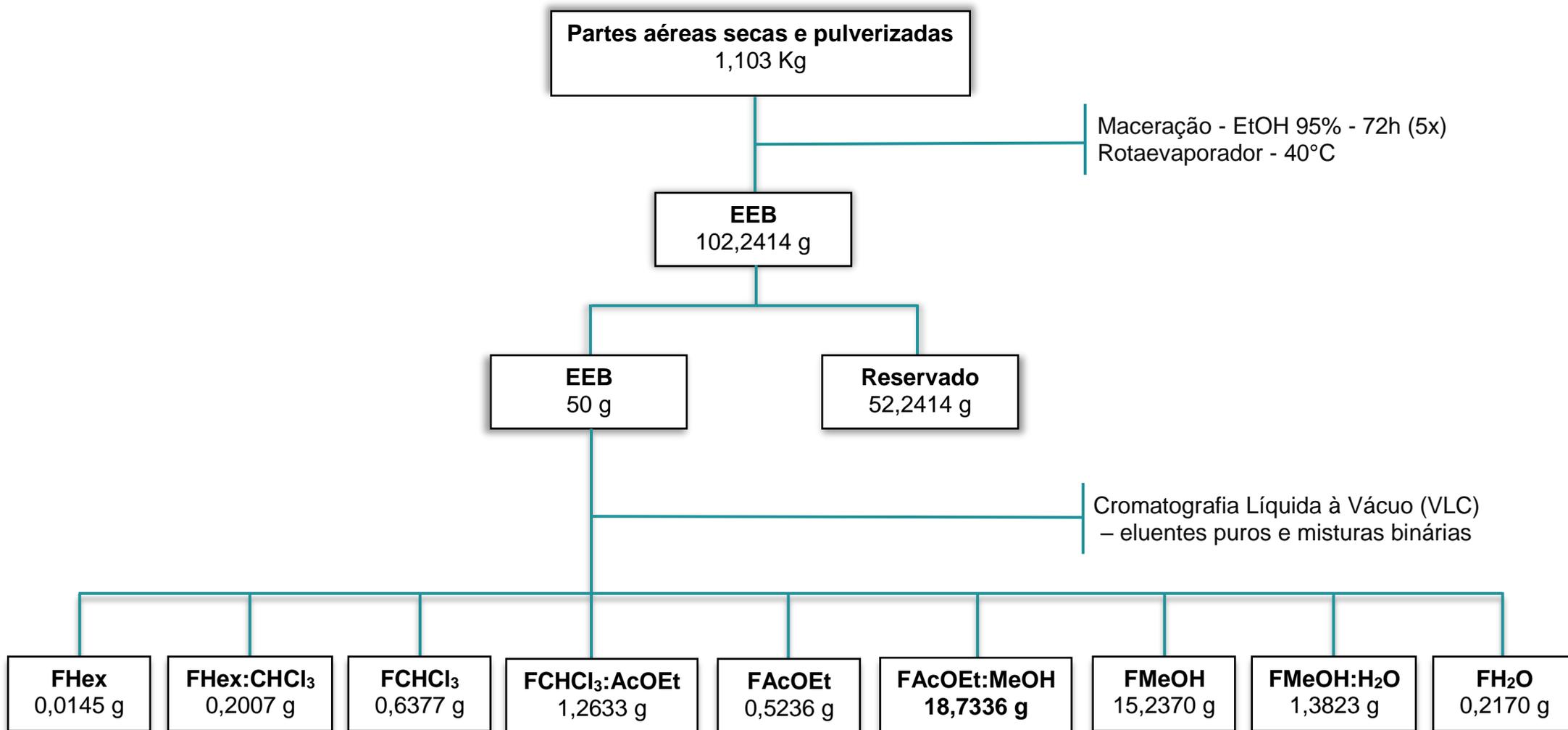
O material vegetal de *Banisteriopsis stellaris* foi coletado em abril de 2022 e a coleta foi realizada no Pico do Jabre (Município de Matureia - Paraíba). A identificação botânica foi feita pela Prof^a. Dra. Maria de Fátima Agra do Setor de Botânica do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Uma exsicata da espécie se encontra depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier da UFPB, sob o número JPB 37874.

O estudo está registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o número A404120.

4.3 Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB)

As partes aéreas de *B. stellaris* coletadas foram desidratadas em estufa de ar circulante, à uma temperatura média de 40° por 72 horas e em seguida, foram submetidas a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se 1,103 kg do pó da planta. Este, posteriormente, foi submetido à maceração com etanol (EtOH) a 95% em um recipiente de aço inoxidável, durante 72 horas resultando em 12L de solução extrativa. Tal processo foi repetido por cinco vezes, quando houve clareamento da solução extrativa. A solução extrativa foi filtrada e concentrada sob pressão reduzida em um evaporador rotativo a uma temperatura de 40°C, obtendo-se 102,2414 g de extrato etanólico bruto (EEB) conforme o esquema 1.

O EEB (50 g) das partes aéreas da espécie em estudo foi submetido ao processo de Cromatografia Líquida à Vácuo (CLV), seguindo a metodologia descrita por Coll e Bowden (1986), utilizando diferentes proporções e polaridades de solventes e suas respectivas frações: hexano (100%); hexano:CHCl₃ (1:1); clorofórmio (100%); CHCl₃:AcOEt (1:1); AcOEt (100%), AcOEt:MeOH (1:1); MeOH (100%); MeOH: H₂O (1:1); H₂O (100%) (Esquema 1, p. 46).

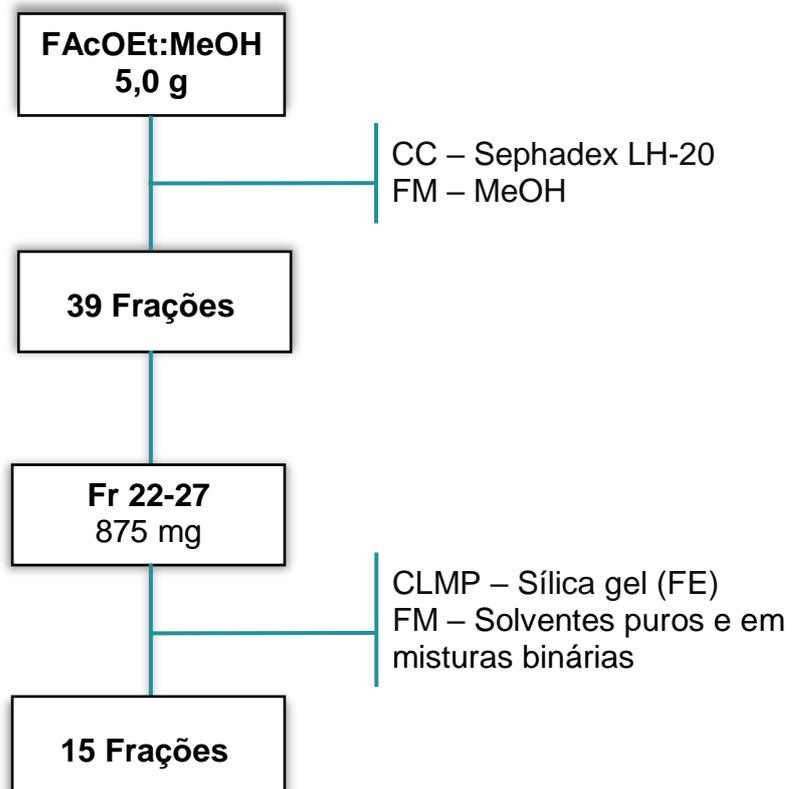
Esquema 1 - Obtenção e fracionamento do EEB das partes aéreas de *B. stellaris*.

Fonte: própria da autora.

4.4 Fracionamento da fase AcOEt:MeOH (1:1) de *B. stellaris*

A fase acetato:metanol obteve maior rendimento e dessa forma foi escolhida para análise por CLAE e RMN, em que, apresentou perfil de interesse químico para compostos fenólicos. Uma alíquota de 5,0 g foi submetida ao procedimento de Cromatografia em Coluna aberta com Sephadex LH-20 utilizando como fase móvel metanol (Esquema 2, p. 47). Foram obtidas 39 frações, ao serem analisadas por CCDA as frações 22-27 apresentaram semelhanças em seus constituintes e foram reunidas totalizando em 875 mg, posteriormente foi submetida ao processo de Cromatografia Líquida de Média Pressão (CLMP), como mostra o esquema 2, utilizando cromatógrafo da BUCHI® e como fase estacionária sílica gel (SiliaFlash® 70-230 mesh) em uma coluna de vidro cilíndrica de tamanho compatível com a quantidade de amostra utilizada e o fluxo foi mantido a 10 mL/min. Como fase móvel utilizou-se solventes puros e em misturas binárias (Tabela 4, p. 48). Foram obtidas 15 frações de 125 mL cada, essas foram concentradas em rotaevaporador sob pressão reduzida a temperatura média de 40°C.

Esquema 2 - Fracionamento da fase acetato:metanol (1:1)



Fonte: própria da autora.

Tabela 4 - Dados do fracionamento das frações 22-27 em CLMP

Sistema eluente	Frações
Hex:AcOEt (7:3)	01-03
Hex AcOEt (1:1)	04
Hex:AcOEt (3:7)	05
AcOEt 100%	06-07
AcOEt:MeOH (9:1)	08
AcOEt:MeOH (7:3)	09
AcOEt:MeOH (1:1)	10
AcOEt:MeOH (3:7)	11-12
MeOH 100%	13
MeOH:H ₂ O (1:1)	14
H ₂ O 100%	15

Fonte: própria da autora.

4.4.1 Análise das frações da fase AcOEt:MeOH por Cromatografia de Alta Eficiência

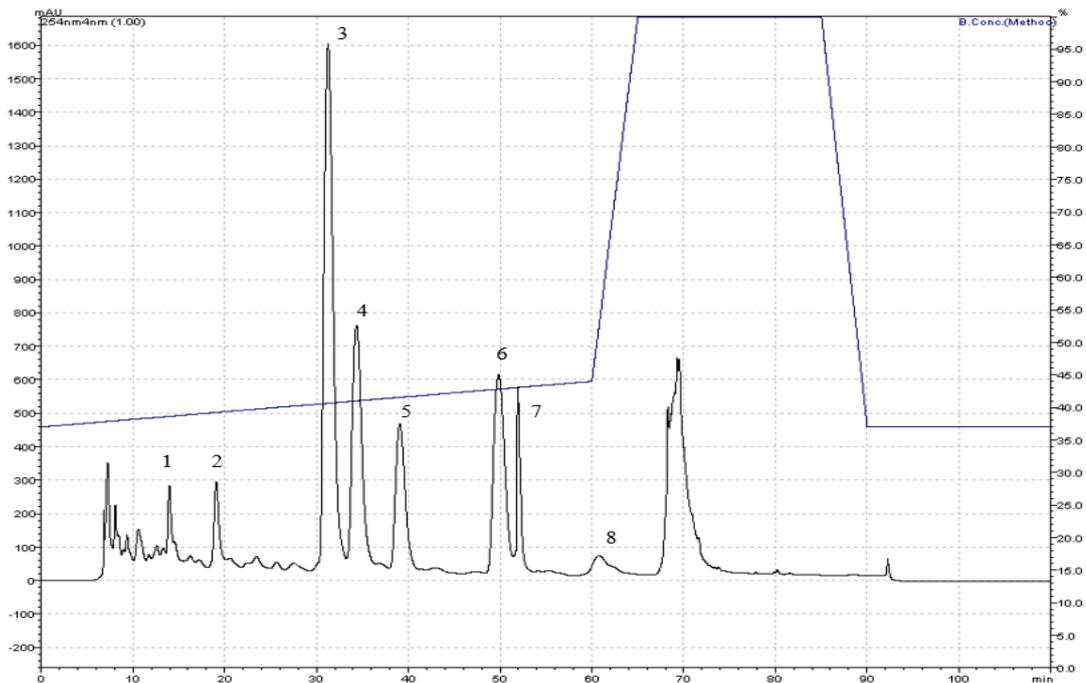
As frações da fase AcOEt:MeOH foram individualmente examinadas através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em escala analítica. Esse procedimento visou o desenvolvimento de métodos eficazes, os quais foram posteriormente transferidos para CLAE em escala preparativa, possibilitando o isolamento dos compostos presentes nas referidas frações. Inicialmente, as amostras foram preparadas na concentração de 1 mg mL⁻¹, sendo solubilizadas em metanol grau HPLC. O método analítico empregado para análise consistiu em um gradiente exploratório partindo de 5% até 100% de metanol em 60 minutos, em um fluxo de 0,6 mL/min e volume de injeção 20 µL.

Para as frações 08 e 10 submetidas a CLAE em escala analítica o método desenvolvido após o exploratório, consistiu em um sistema gradiente com água ultrapura acidificada (0,1% ácido fórmico) (bomba A) e MeOH (bomba B), conforme o seguinte sistema de eluição: Fr 08 = gradiente de 37 – 44% de B (MeOH) em 60 min, Fr 10 = gradiente de 25 – 45% em 20 min e sistema isocrático de 45 % em 30 min de B (MeOH). Os métodos foram transpostos para escala preparativa alterando apenas o volume de injeção (200 µL) de forma manual e fluxo da fase móvel (8,0 mL/min).

Para isso, as frações foram solubilizadas individualmente em MeOH grau HPLC, centrifugadas a 15.000 rpm durante 5 min a 20°C e posteriormente filtradas em filtro

de seringa PTFE (13 mm x 0,22 μm). Em seguida, a Fr 08 foi submetida à CLAE em escala preparativa, sendo realizadas 10 injeções de 100 μL de uma solução com 70 mg da amostra em 1000 μL de metanol, resultando na separação de 8 picos principais, que foram coletados e concentrados em evaporador rotativo sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C, representados pelos seus respectivos tempos de retenção, podendo ser observados na figura 15 (p. 49). Desses os picos 3 (30,20 min), 5 (38,27 min) e 6 (48,83 min) foram codificados como BsAM-083 (3,2 mg), BsAM-085 (3 mg), BsAM-086 (2,0 mg), respectivamente e submetidos à análise por RMN.

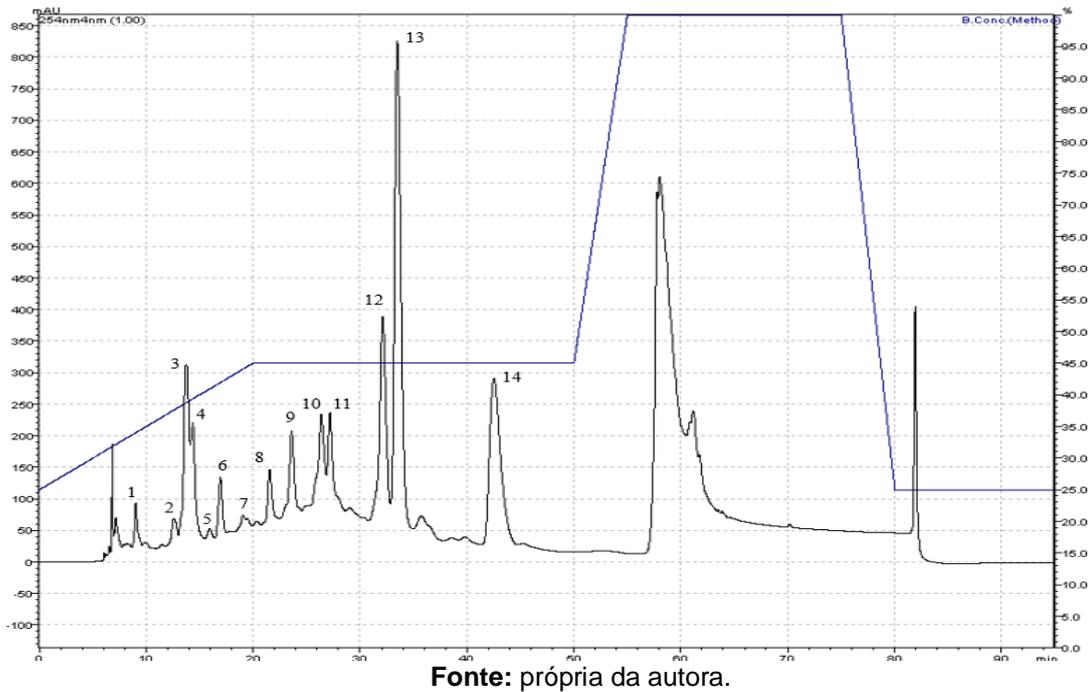
Figura 15 – Cromatograma da fração 08 em escala preparativa (254 nm)



Fonte: própria da autora.

Para a Fr 10 submetida também à CLAE em escala preparativa, foram realizadas 10 injeções de 200 μL de uma solução com 163,7 mg da amostra em 2000 μL de metanol. Como resultado foram separados 14 picos que foram coletados e concentrados em rotaevaporador sob pressão reduzida e temperatura média de 40°C. Estes estão representados na figura 16 (p. 50) pelos seus respectivos tempos de retenção, sendo que, o pico 14 (41 min) foi codificado como BsAM-1014 e submetido à análise por RMN.

Figura 16 - Cromatograma da fração 10 em escala preparativa (254 nm)



4.5 Fracionamento da fase clorofórmica de *B. stellaris*

A espécie *B. stellaris* não possui estudos fitoquímicos até o momento, logo, com intuito de abranger a polaridade das substâncias a serem determinadas, a fase clorofórmica foi submetida ao fracionamento (673 mg) (Esquema 3, p. 51) realizado por Cromatografia em Coluna com sílica gel (SiliaFlash® 70-230 mesh) e como fase móvel utilizou-se solventes puros e/ou mistura binária (Tabela 5, p. 50). Assim, resultou em 10 frações de 125 mL que foram concentradas em rotaevaporador sob pressão reduzida a temperatura média de 40°C.

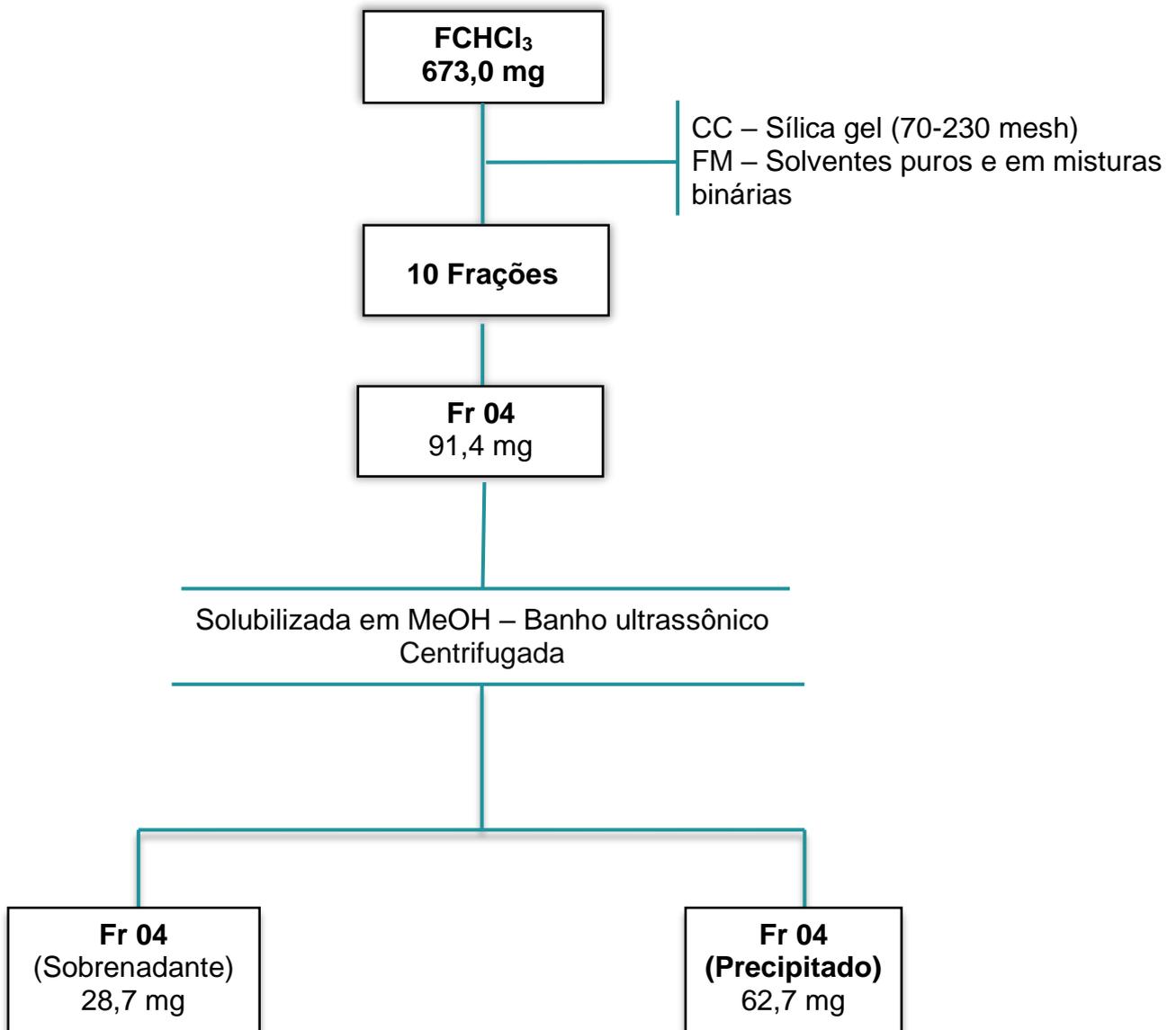
Tabela 5 - Dados do fracionamento da fase clorofórmica em CC

Sistema eluente	Frações
Hex:AcOEt (9:1)	01 - 03
Hex:AcOEt (8:2)	04 - 05
Hex:AcOEt (7:3)	06 - 07
AcOEt 100%	08 - 09
MeOH 100%	10

Fonte: própria da autora.

A fração 04 apresentou um precipitado branco que foi purificado com metanol, ou seja, a amostra foi homogeneizada utilizando um banho ultrassônico. Após essa etapa, passou pelo processo de centrifugação a 15.000 rpm durante 5 min a 20°C e o precipitado resultante foi reservado. O processo foi repetido até que o sobrenadante se apresentasse incolor. Em seguida, o sobrenadante foi concentrado em um evaporador rotativo a 40°C, resultando na fração desengordurada e o precipitado separado, que foi submetido a análise de RMN.

Esquema 3 - Fracionamento da fase clorofórmica.



Fonte: própria da autora.

4.6 Caracterização estrutural dos compostos isolados

A identificação ou esclarecimento estrutural das substâncias isoladas foi conduzida por meio da análise dos espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , utilizando técnicas uni e bidimensionais (HMBC e HSQC). As amostras para análise foram preparadas utilizando os solventes dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6) e o clorofórmio deuterado (CDCl_3) da Cambridge Isotope Laboratories. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm), e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz), referenciados para os sinais característicos de ^1H e ^{13}C dos solventes utilizados. Para os espectros de RMN de ^1H em DMSO- d_6 (δ_{H} 2,50 ppm) e CDCl_3 (δ_{H} 7,24 ppm). Para os espectros de RMN de ^{13}C , os deslocamentos químicos foram referenciados em DMSO- d_6 (δ_{C} 39,520 ppm) e CDCl_3 (δ_{C} 77,160 ppm).

4.7 Testes biológicos do EEB de *B. stellaris*

Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE, registrado sob o número 144/2023.

4.7.1 Toxicidade aguda

Os camundongos fêmeas foram separados em oito grupos ($n = 3$), de acordo com as instruções do protocolo 423 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2001): grupo controle (solução salina 0,9% via oral e intraperitoneal), e os grupos experimentais receberam 2000 mg kg^{-1} e 5000 mg kg^{-1} de extrato de *Banisteriopsis stellaris* por via oral e intraperitoneal. Os camundongos foram observados inicialmente por 6 horas e diariamente por 14 dias, quanto aos sinais do estado de consciência e disposição, atividade e coordenação do sistema motor, reflexos e atividades sobre o sistema nervoso central.

- **Análise bioquímica e hematológica**

No final de ensaios de toxicidade, o sangue dos animais foi colhido e os seguintes parâmetros bioquímicos foram avaliados: proteína total, albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), ureia, creatinina, colesterol total e triglicerídeos usando kits específicos (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Brasil) e um analisador COBAS Mira Plus (Roche Diagnostics Systems, Basel,

Suíça). Análise hematológica foi realizada utilizando um analisador automático (Sangue de animal Counter-ABC Vet, Montpellier, França) e microscopia óptica; os parâmetros avaliados foram: eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e análise total e diferenciada dos leucócitos.

4.7.2 Genotoxicidade

- **Micronúcleo**

Para avaliar o perfil genotóxico do EEB de *B. stellaris*, foi utilizado o teste do micronúcleo em eritrócitos de camundongos baseado no método descrito por Oliveira *et al.* (2020) com pequenas modificações. Brevemente, grupos de camundongos machos (n=5) foram tratados com salina a 0,9% v.o (controle negativo), ciclofosfamida (25 mg kg⁻¹ i.p) ou EEB de *B. stellaris* (2.000 mg kg⁻¹ v.o) em dose única. 48h após os tratamentos alíquotas (10 µL) de sangue periférico (cauda) foram aplicadas em lâminas previamente coradas com laranja de acridina e analisadas em microscópio de fluorescência. Um total de três lâminas por animal foram preparadas e a frequência de micronúcleo foi determinada após a contagem de 2.000 eritrócitos por lâmina.

4.7.3 Atividade anti-inflamatória

- **Edema de pata induzido por carragenina**

Camundongos machos foram agrupados em cinco grupos (n = 6) e foram tratados com EEB de *B. stellaris* (50, 100 ou 200 mg kg⁻¹ v.o.), solução salina (0,9% v.o) e dexametasona (10 mg kg⁻¹ i.p.) 30 minutos antes do início dos testes. Os animais tiveram o volume das patas traseiras medido utilizando um paquímetro digital. Posteriormente, os animais foram tratados e o edema da pata foi induzido com carragenina a 2% (15 µL) que foi injetada na região subplantar da pata direita. Os tamanhos das patas nos tempos 1, 2, 3 e 4 h foram determinados (Winter *et al.* 1962).

- **Peritonite**

Camundongos machos foram agrupados em cinco grupos (n = 6) e foram tratados com EEB de *B. stellaris* (50, 100 ou 200 mg kg⁻¹ v.o.), solução salina (0,9% v.o.) ou

dexametasona (10 mg kg^{-1} i.p.) 30 minutos antes do início do ensaio. Os animais receberam uma injeção intraperitoneal de 1% de carragenina. Após 4 h, os animais foram sacrificados e 2 mL de PBS heparinizado foram injetados na cavidade peritoneal, e logo em seguida o exsudato foi removido. A contagem de leucócitos da lavagem peritoneal foi realizada e expressa em porcentagem (Lapa, 2008).

4.7.4 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram analisados no GraphPad Prism® versão 8.0 e expressos em valores médios com desvio padrão (\pm DP). As diferenças estatisticamente significantes foram calculadas usando a análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni ou Dunnett's (quando necessário). Os valores foram considerados significativamente diferentes em $p < 0,05$ para avaliação da toxicidade e $p < 0,001$ para os testes anti-inflamatórios.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação dos compostos isolados

5.1.1 Determinação estrutural de BsAM-083

A substância codificada como BsAM-083 foi isolada na forma de um pó amorfo amarelo, pesando 3,2 mg. No espectro de RMN de ^{13}C – técnica BB (100 MHz, DMSO- d_6) (Figuras 18 – 21, p. 58 e 59), observou-se a presença de 21 sinais correspondentes a 21 átomos de carbono. Desses, dez foram referentes a carbonos não hidrogenados (δ_c 164,08; 181,96; 160,45; 163,13; 104,57; 156,02; 103,82; 121,81; 145,94 e 149,98), um referente a carbono metilênico (δ_c 61,71) e dez para carbonos metínicos (δ_c 102,34; 98,28; 113,94; 115,73; 119,37; 73,47; 70,86; 78,81; 70,76 e 82,00). Estão presentes na estrutura 15 sinais para carbonos sp^2 dentre eles os deslocamentos químicos em δ_c 164,08 (CH), δ_c 102,34 (CH) e δ_c 181,96 (C) que foram atribuídos a C-2, C-3 e C-4, respectivamente, o que sugere um esqueleto carbônico de uma flavona para BsAM-083 (Huang *et al.*, 2015). Pôde-se observar sinais para carbono não hidrogenado em δ_c 160,45 (C-5), δ_c 163,13 (C-7) e δ_c 104,57 (C-8) que permitiram sugerir a presença do anel A com oxigenação nas posições 5 e 7. Ainda, sinais para carbono metínicos sp^2 em δ_c 98,28 (C-6), assim como, para δ_c 113,94 (C-2'), δ_c 145,94 (C-3'), δ_c 149,98 (C-4'), revelando mais duas oxigenações na estrutura. Diante disso, o anel A apresenta-se penta-substituído e o anel B representado pelo sistema ABX (tri-substituído) (Nguyen *et al.*, 2023).

Também foi possível observar sinais compatíveis para a presença de uma unidade osídica na molécula, como um sinal em δ_c 73,47 atribuído ao carbono anomérico C-1". Esse deslocamento é característico de ligação do tipo carbono-carbono (C-C) do esqueleto flavonoídico com a unidade osídica, já as absorções na região entre δ_c 70,76 e 82,0 são indicativas de carbonos carbinólicos. Quanto ao sinal em δ_c 61,71 condiz ao carbono metilênico oxigenado, o que confirma a presença da glicose como unidade osídica (Huang *et al.*, 2015).

O espectro de RMN de ^1H de BsAM-083 (400 MHz, DMSO- d_6) (Figura 21 e 22, p. 59 e 60) e suas expansões demonstraram deslocamentos químicos que reforçam a proposta do espectro de RMN de ^{13}C . Mostrou a presença de dois simpletos em δ_H 6,62 e δ_H 6,24, ambos com integral para um hidrogênio cada, atribuídos as posições H-3 e H-6, respectivamente, evidenciando a existência de um esqueleto flavonoídico

do tipo flavona e demonstrando a inserção da unidade osídica na posição 8 (Cuong *et al.*, 2015).

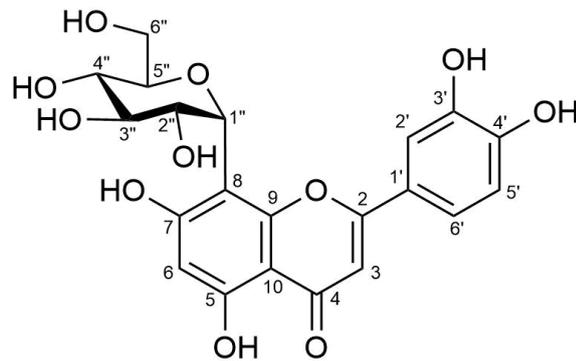
Para esse esqueleto de flavona o padrão de substituição é confirmado com os seguintes deslocamentos: um simpleto largo em δ_H 7,48 (*meta*) e um duplete em δ_H 6,86 ($J = 8,0$ Hz) acoplado orto com δ_H 7,53 (*dl*, $J = 8,0$ Hz), que condizem com os hidrogênios H-2', H-5' e H-6', respectivamente, contribuindo para afirmar a tri-substituição existente no anel B, visto que representa o padrão de hidrogenação do tipo ABX, sugestão vista no espectro de RMN de ^{13}C (Nguyen *et al.*, 2023).

Concomitantemente, visualizou-se um conjunto de absorções na região de hidrogênios alifáticos entre δ_H 3,25 e 3,84, que ao serem associados à presença de um duplete em δ_H 4,69 ($J = 10$ Hz), característico de hidrogênio anomérico, permitiu enfatizar que a unidade osídica estaria ligada ao esqueleto da flavona por uma ligação do tipo C-C e que esta era a β -glicose (Çalis *et al.*, 2006).

No mapa de contorno HSQC (Figuras 23 – 25, p. 60 e 61) observou-se as correlações diretas entre H-3 em δ_H 6,62 com δ_C 102,34 (C-3), do H-6 em δ_H 6,24 com δ_C 98,28 (C-6) do anel A. Ainda, as correlações do H-2' em δ_H 7,46 com δ_C 113,94 (C-2'), do H-5' em δ_H 6,86 com δ_C 119,37 (C-5') e do H-6' em δ_H 7,51 com δ_C 119,37 (C-6') relacionados ao anel B. Analisou-se também a correlação do hidrogênio anomérico em δ_H 4,69 com δ_C 73,47 (C-1''), do H-2'' em δ_H 3,84 com δ_C 70,86 (C-2''), do H-3'' em δ_H 3,26 com δ_C 78,81 (C-3''), do H-4'' em δ_H 3,36 com δ_C 70,76 (C-4''), do H-5'' em δ_H 3,25 com δ_C 82,00 (C-5'') e os hidrogênios da posição 6'' em δ_H 3,54 e 3,78 com δ_C 61,71 (C-6''), correlações estas referentes ao fragmento de açúcar.

Após analisar todos os dados (Tabela 6, p. 57) de RMN de 1H e ^{13}C e as correlações no HSQC foi possível identificar BsAM-083 como sendo a orientina (Luteolina-8-C- β -glicopiranosídeo) (Figura 17, p. 57) (Cuong *et al.*, 2015). Esse composto já foi referido na literatura para outras espécies, a *Hiraea reclinata* e a *Malpighia glabra* L pertencentes a família Malpighiaceae. No entanto, está sendo relatado pela primeira vez no gênero e na espécie *Banisteriopsis stellaris* (Abbas *et al.*, 2022)

Figura 17 - Estrutura química da BsAM-083



Luteolina-8-C- β -glicopiranosídeo (Orientina)

Tabela 6 – Dados de RMN de BsAM-083 (δ em ppm e J em Hz e, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C em DMSO-d_6) comparados com dados da literatura (Cuong *et al.*, 2015)

BsAM-083 (HSQC)			Cuong <i>et al.</i> , 2015	
Posição	δ_c	δ_H	δ_c	δ_H
2	164,08	-	164,05	-
3	102,34	6,62 (s, 1H)	102,34	6,63 (s, 1H)
4	181,96	-	181,95	-
5	160,45	13,16 (s, 1H) - OH	160,35	-
6	98,28	6,24 (s, 1H)	98,11	6,26 (s, 1H)
7	163,13	-	162,69	-
8	104,57	-	104,52	-
9	156,02	-	155,97	-
10	103,82	-	103,94	-
1'	121,81	-	121,93	-
2'	113,94	7,46 (sl, 1H)	113,99	7,48 (sl, 1H)
3'	145,94	-	145,79	-
4'	149,98	-	149,66	-
5'	115,73	6,86 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H)	115,62	6,86 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H)
6'	119,37	7,51(1H, dl)	119,33	7,53 (dl, $J = 8,0$ Hz, 1H)
1''	73,47	4,69 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H)	73,37	4,69 (d, $J = 10$ Hz, 1H)
2''	70,86	3,84	70,76	3,84 (dd, $J = 9,0$ e 10 Hz, 1H)
3''	78,81	3,26	78,74	3,30
4''	70,76	3,36	70,68	3,37
5''	82,00	3,25	81,95	3,27
6''	61,71	3,54 3,78	61,62	3,52 (dd, $J = 5,5$ e 11 Hz, 1H) 3,76 (br, d, $J = 11$ Hz, 1H)

Fonte: própria da autora.

Figura 18 – Espectro de RMN de ^{13}C – BB (100 MHz, DMSO- d_6) de Bs-083

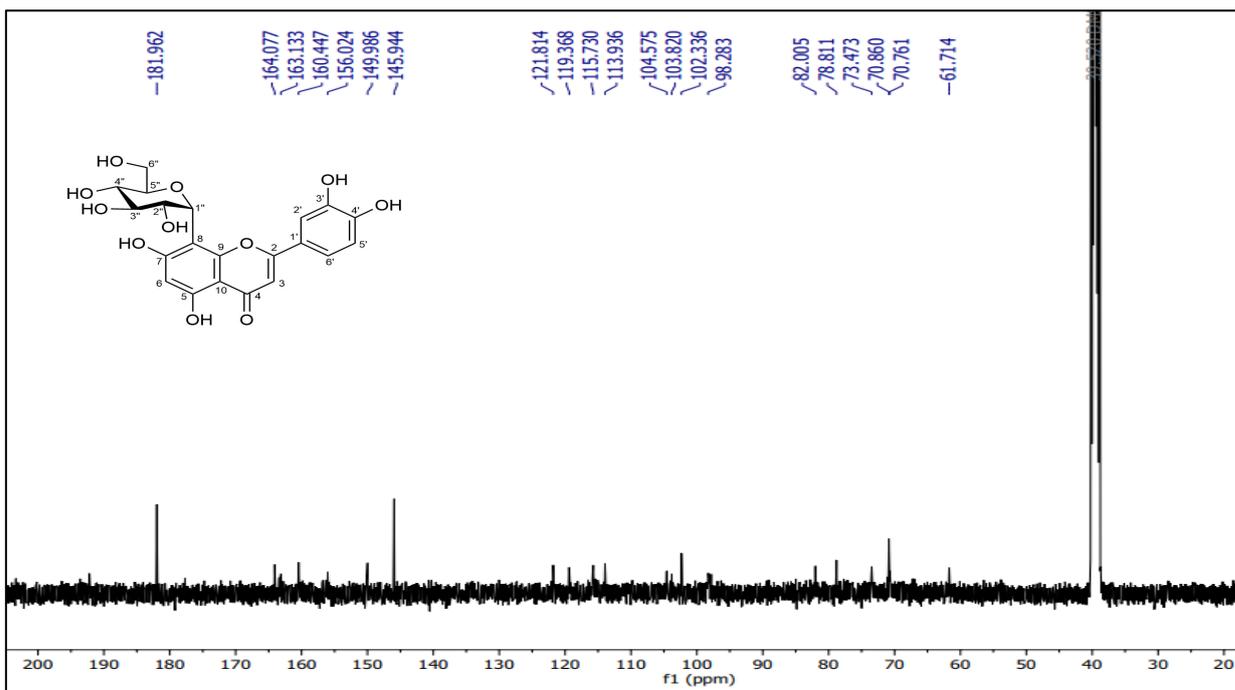


Figura 19 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – BB (100 MHz, DMSO- d_6) de Bs-083 na região de 60 – 124 ppm

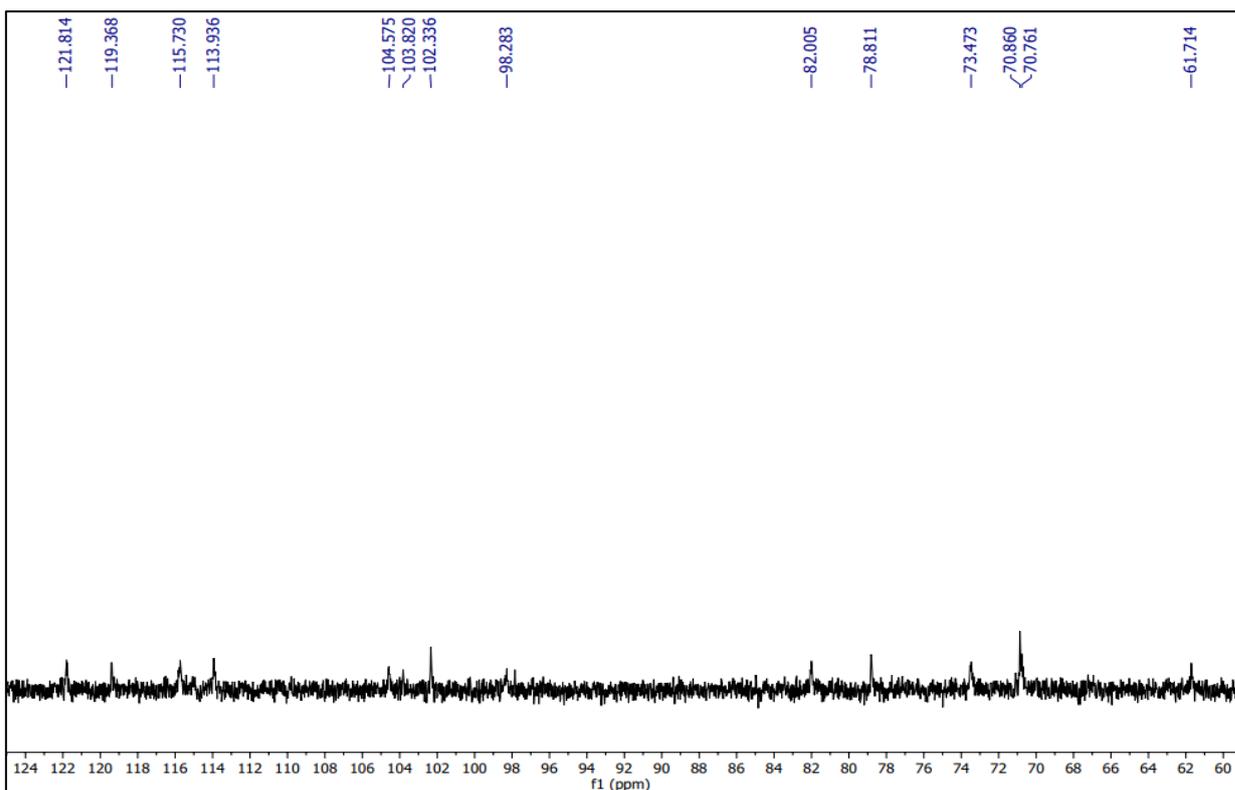


Figura 20 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – BB (100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-083 na região de 138 – 186 ppm

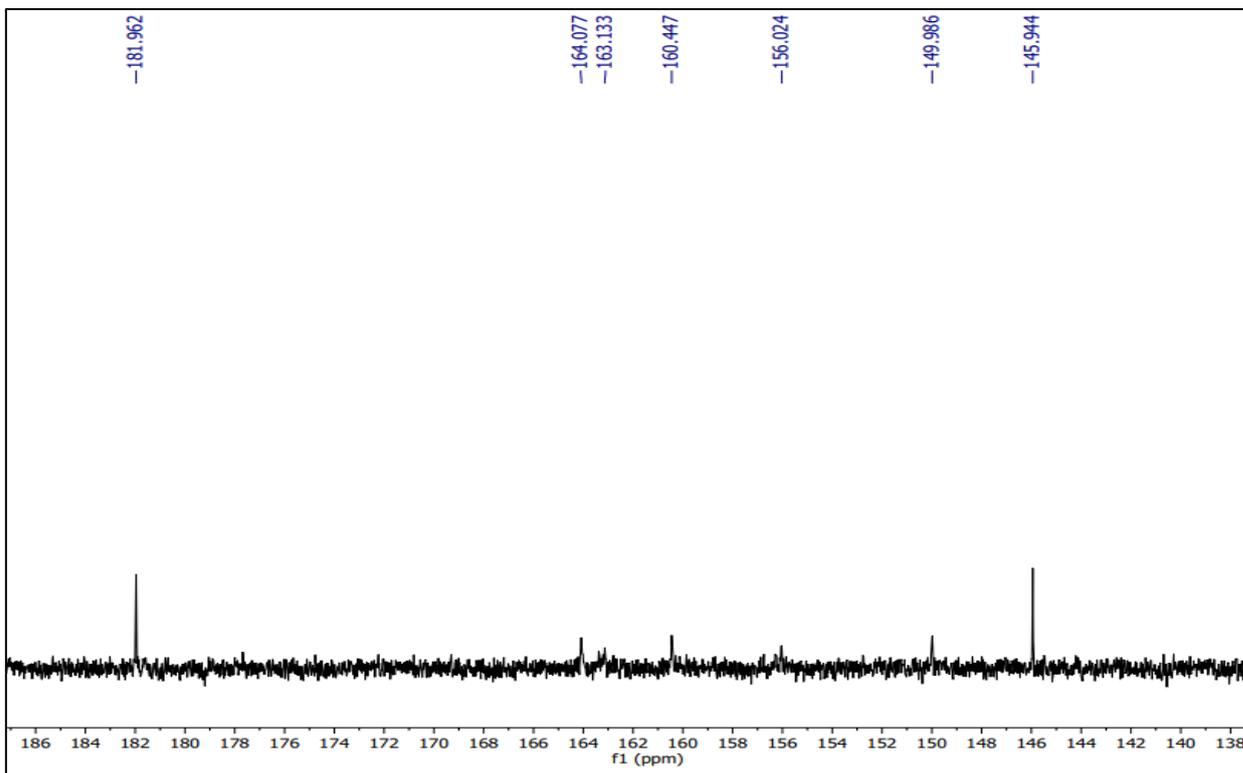


Figura 21 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-083

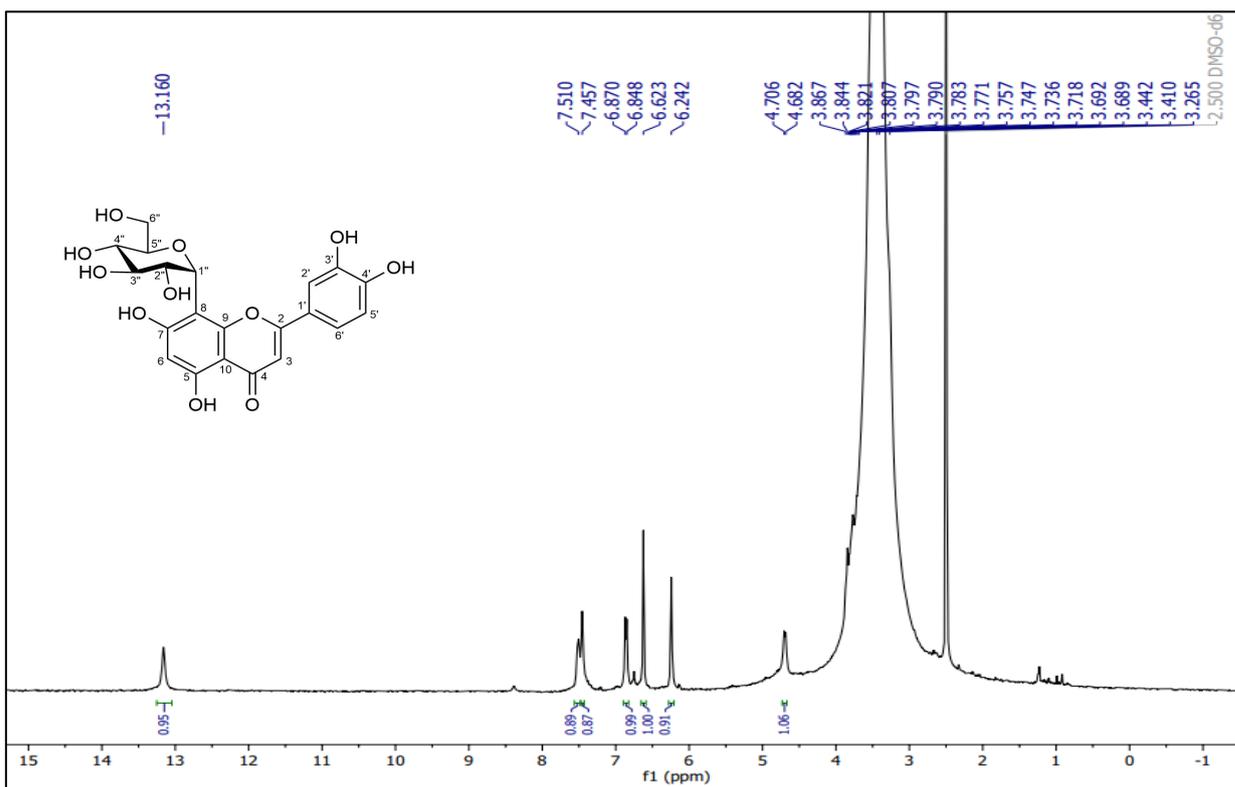


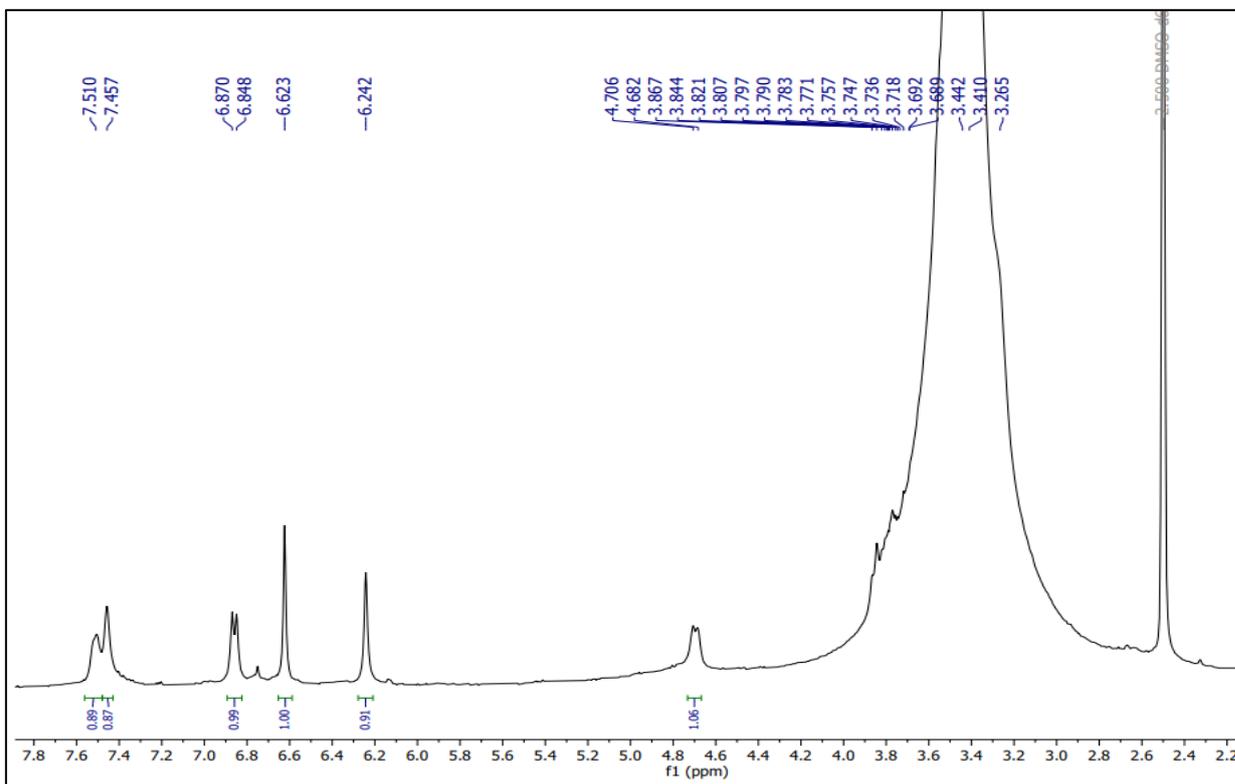
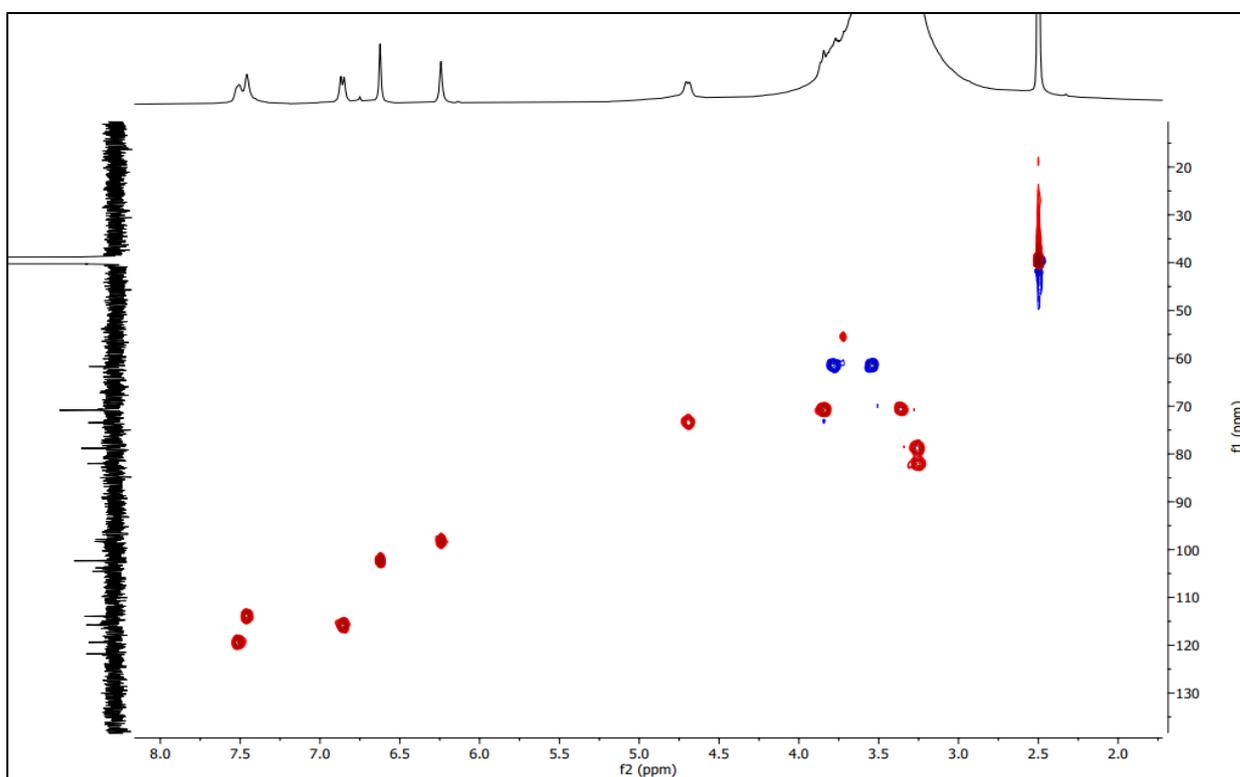
Figura 22 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de Bs-083**Figura 23** – Mapa de contorno ^1H x ^{13}C - (HSQC) (400 e 100 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-083

Figura 24 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-083 na região (100 – 20 ppm) x (5.1 - 2.8 ppm)

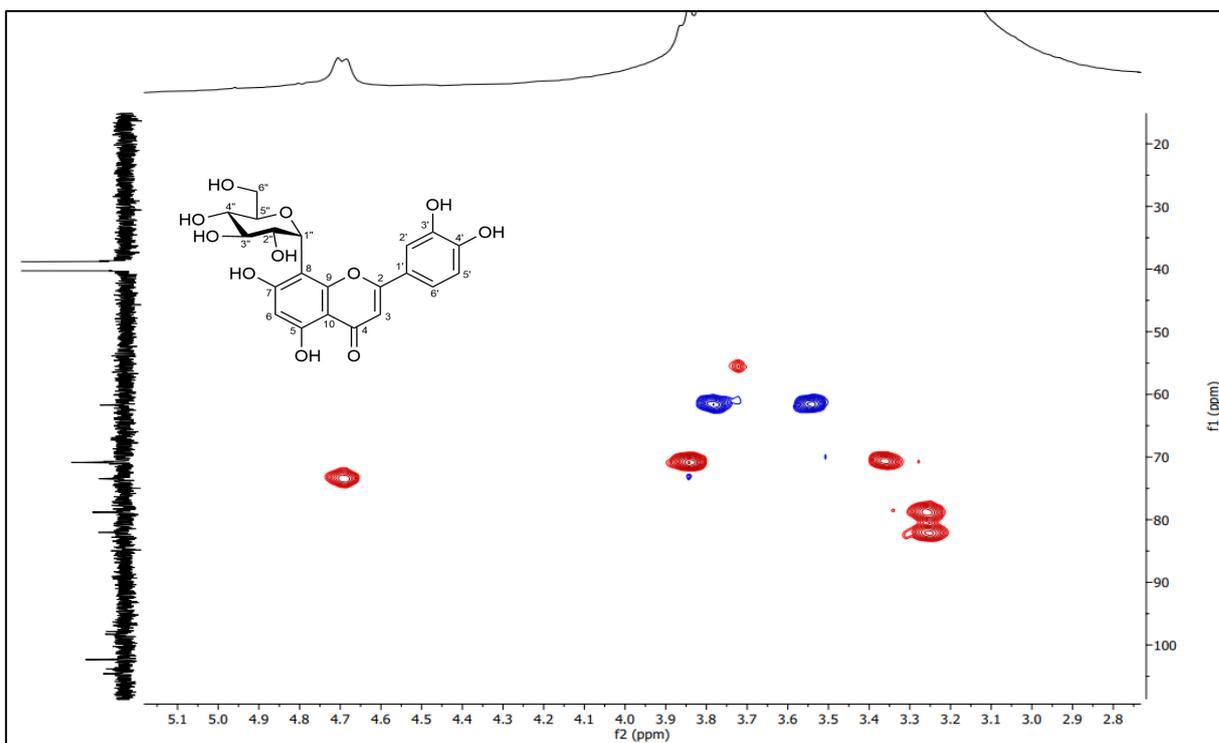
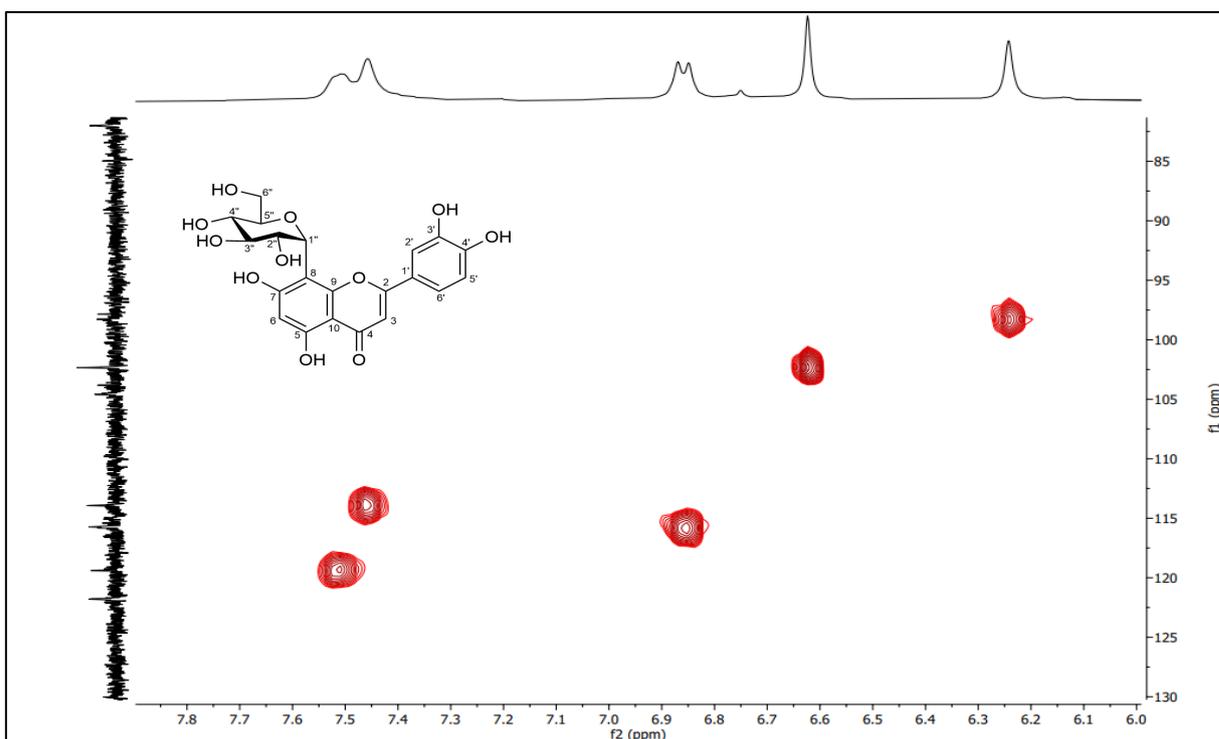


Figura 25 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC (400 e 100 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-083 na região de (130 – 85 ppm) x (7.8 – 6.0 ppm)



5.1.2 Determinação estrutural de BsAM-085

A substância codificada como BsAM-085 foi isolada na forma de um pó amorfo amarelo, pesando 3,0 mg. No espectro RMN de ^{13}C – técnica BB (125 MHz, DMSO- d_6) e suas expansões (Figuras 27 e 28, p. 65) foram observados 19 sinais, referentes a 21 carbonos, sendo nove não hidrogenados (δ_{C} 163,80; 181,87; 162,63; 105,32; 160,45; 156,10; 105,29; 121,69 e 161,28), nove sinais correspondente a onze carbonos metínicos (δ_{C} 102,38; 98,68; 128,89; 115,92; 73,47; 71,00; 78,78; 70,58 e 81,83) e um sinal para carbono metilênico (δ_{C} 61,37). Os sinais em δ_{C} 163,80, 102,38, 181,87, assim como, na estrutura BsAM-083, corroboram com a presença do esqueleto de flavona e foram atribuídos a C-2, C-3 e C-4, respectivamente.

Na região de 60 a 80 ppm os sinais são condizentes com a presença de unidade osídica, apresentando o deslocamento em δ_{C} 73,47 característico de C-glicosídeo, associado ao sinal em δ_{H} 4,73, através da correlação observada na expansão do espectro HMBC (Figura 32 e 33, p. 67 e 68). O sinal em δ_{C} 61,37 foi atribuído ao carbono metilênico oxigenado da glicose, o que confirmou o esqueleto semelhante a substância BsAM-083.

No espectro de RMN de ^1H de BsAM-085 e suas expansões (400 MHz, DMSO- d_6) (Figuras 29-31, p. 66 e 67) foram detectados sinais característicos de flavonoide, sendo estes, um duplete em δ_{H} 7,99 ($J = 8,4$ Hz, 2H) referente aos hidrogênios H-2' e H-6', outro duplete em δ_{H} 6,89 ($J = 8,6$ Hz, 2H) condizentes aos hidrogênios H-3' e H-5', evidenciando um sistema AA'BB', ou seja, o anel B sendo para substituído, diferindo da estrutura BsAM-083. Já o anel A foi caracterizado como trissubstituído, pela presença de simpleto em δ_{H} 6,20, referente ao H-6. A classe pertencente de flavonoide foi determinada pela presença de um simpleto em δ_{H} 6,72 (1H), característico de flavonas, resultado que corrobora com os dados de carbono para C-2, C-3 e C-4.

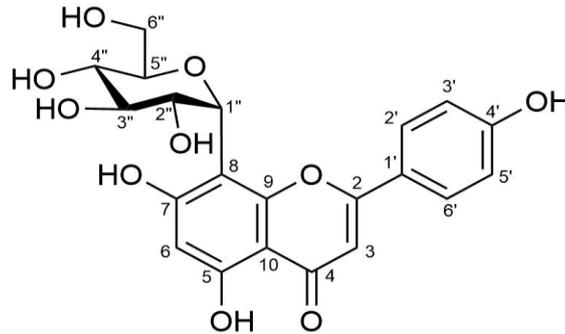
No mapa de contorno HSQC (Figuras 34-36, p.68 e 69) observou-se as correlações diretas entre H-3 em δ_{H} 6,72 com δ_{C} 102,38 (C-3), do H-6 em δ_{H} 6,20 com δ_{C} 98,68 (C-6) do anel A. Ainda, as correlações dos H-2'/6' em δ_{H} 7,99 com δ_{C} 128,89 (C-2'/6') e dos H-3'/5' em δ_{H} 6,89 com δ_{C} 115,92 (C-3'/5') relacionados ao anel B. Analisou-se também a correlação do hidrogênio anomérico em δ_{H} 4,71 com δ_{C} 73,47 (C-1''), do H-2'' em δ_{H} 3,84 com δ_{C} 71,00 (C-2''), do H-3'' em δ_{H} 3,26 com δ_{C} 78,78 (C-3''), do H-4'' em δ_{H} 3,34 com δ_{C} 70,58 (C-4''), do H-5'' em δ_{H} 3,24 com δ_{C} 81,83 (C-5'')

e os hidrogênios da posição 6" em δ_H 3,52 e 3,75 com δ_C 61,37 (C-6"), correlações estas referentes ao fragmento de açúcar.

Assim, BsAM-085 apresentou estrutura semelhante a BsAM-083 por ser uma flavona C-glicosilada na posição 8, diferindo apenas no anel B, sendo os sinais norteadores de carbono δ_C 128,89 (C-2'/C-6'), δ_C 115,92 (C-3'/C-5') e δ_C 161,28 (C-4' hidroxilado). Outro sinal em δ_H 13,14 (s, 1H) foi correspondente a hidroxila na posição 5 queladada com a carbonila em 4 (Cuong *et al.*, 2015).

Após analisar todos os dados (Tabela 7, p. 64) de RMN de 1H e ^{13}C e as correlações no HSQC foi possível identificar a BsAM-085 como sendo a vitexina (Apigenina-8-C- β -glicopiranosídeo) (Figura 26, p. 64) (Cuong *et al.*, 2015). Esse composto já foi referido na literatura para outras espécies da família Malpighiaceae (*Hiraea reclinata*, *Bunchosia glandulifera*, *Malpighia glabra* L e *Malpighia emarginata* DC). Entretanto, está sendo relatado pela primeira vez no gênero e na espécie *Banisteriopsis stellaris* (Abbas *et al.*, 2022)

Figura 26 - Estrutura química da BsAM-085.



Apigenina-8-C- β -glicopiranosídeo (Vitexina)

Tabela 7 – Dados de RMN de BsAM-085 (δ em ppm e J em Hz, 400 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em DMSO- d_6) comparados com dados da literatura (Cuong *et al.*, 2015)

BsAM-085 (HSQC)			Cuong <i>et al.</i> , 2015	
Posição	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
2	163,80	-	163,91	-
3	102,38	6,72 (s, 1H)	102,41	6,77 (s, 1H)
4	181,87	-	182,04	-
5	160,45	13,14 (s, 1H) - OH	160,38	-
6	98,68	6,20 (s, 1H)	98,14	6,27 (s, 1H)
7	162,63	-	162,68	-
8	105,32	-	104,59	-
9	156,10	-	155,98	-
10	105,29	-	104,00	-
1'	121,69	-	121,59	-
2'/6'	128,89	7,99 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H)	128,92	8,02 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H)
3'/5'	115,92	6,89 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H)	115,80	6,89 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H)
4'	161,28	-	161,12	-
1''	73,47	4,71 (d, $J = 10$ Hz, 1H)	73,36	4,69 (d, $J = 10$ Hz, 1H)
2''	71,00	3,84 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H)	70,84	3,84 (dd, $J = 9,0$ e 10 Hz, 1H)
3''	78,78	3,26	78,65	3,29
4''	70,58	3,34	70,54	3,34
5''	81,83	3,24	81,80	3,26
6''	61,37	3,52 (dd, $J = 5,6$ e 11,6 Hz, 1H) 3,75 (dl, $J = 10,4$ Hz, 1H)	61,28	3,52 (dd, $J = 5,5$ e 11 Hz, 1H) 3,76 (dl, $J = 11$ Hz, 1H)

Fonte: própria da autora

Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C – BB (125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085

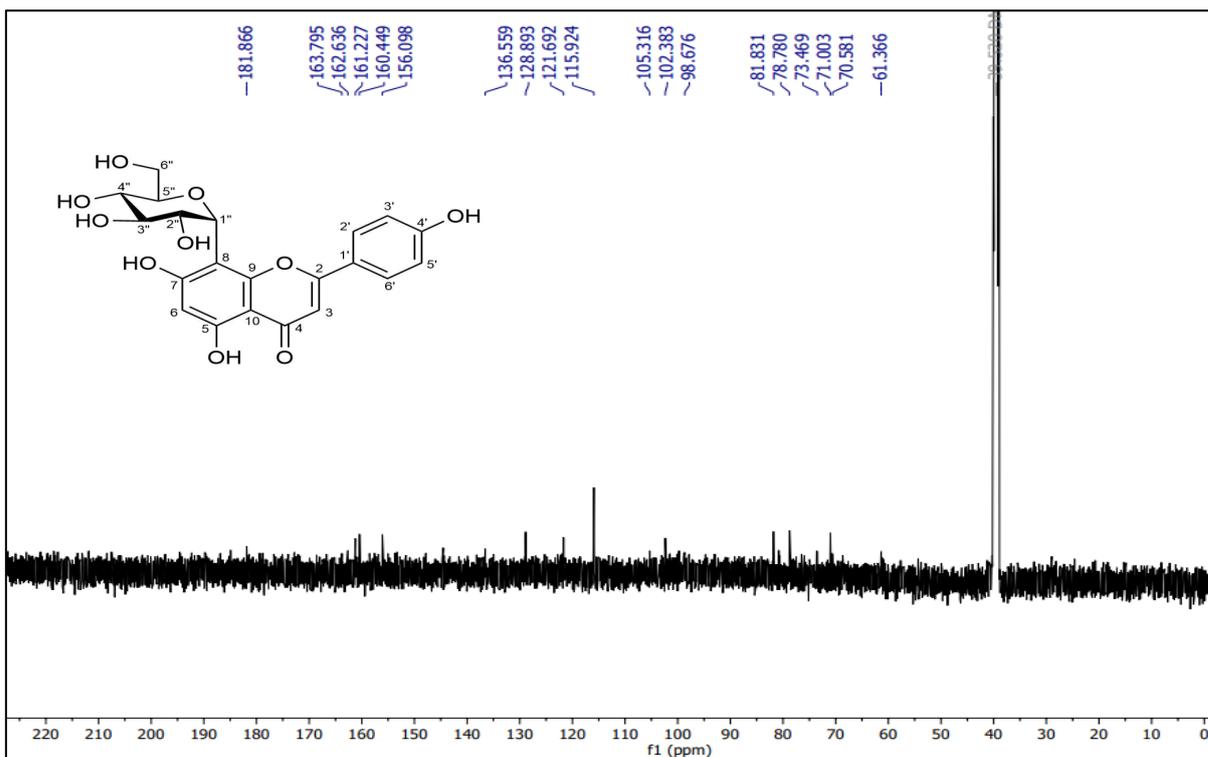


Figura 28 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085 na região de 60 – 185 ppm

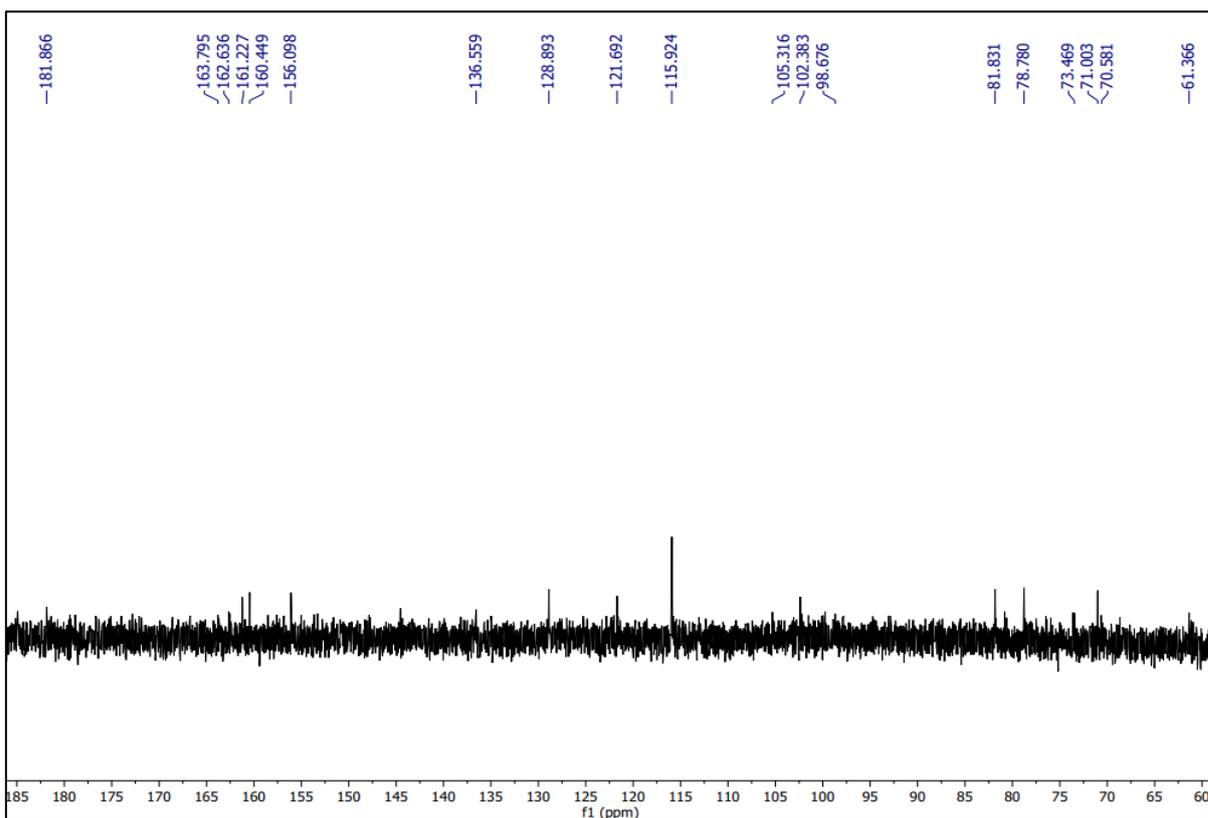


Figura 29 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-085

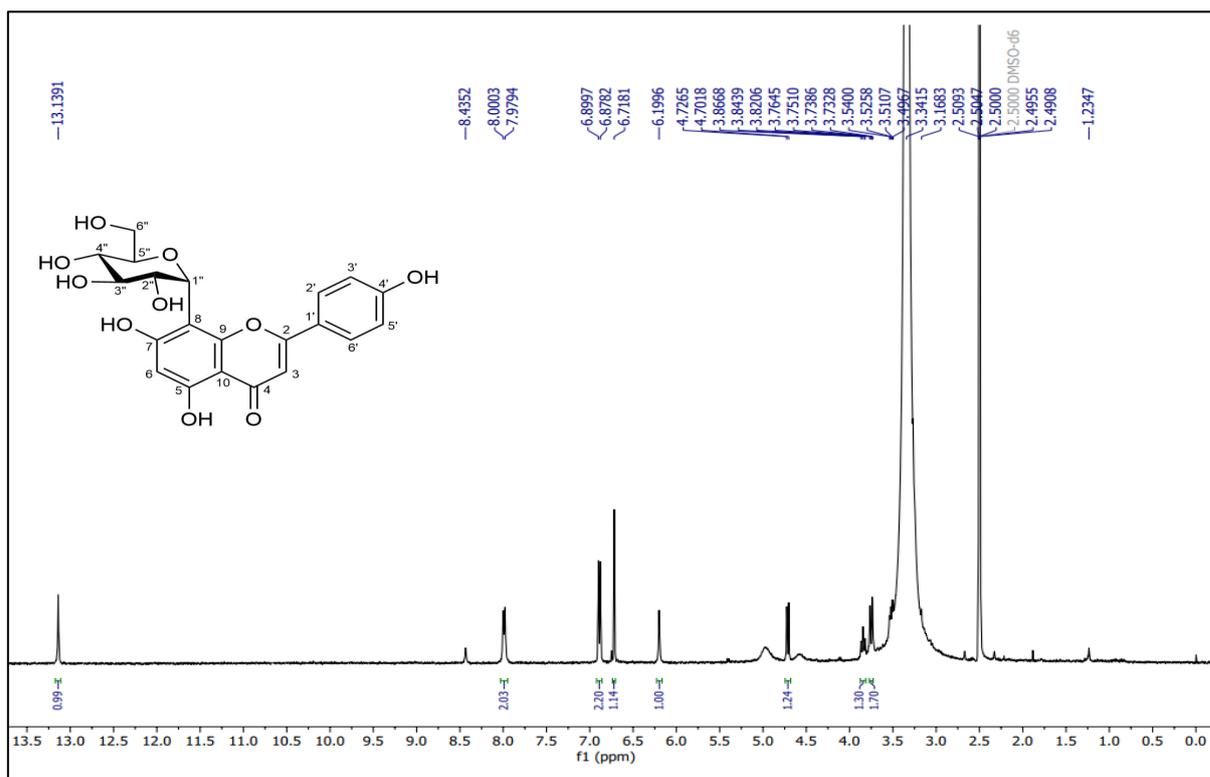


Figura 30 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-085 na região de 2.8 – 5.4 ppm

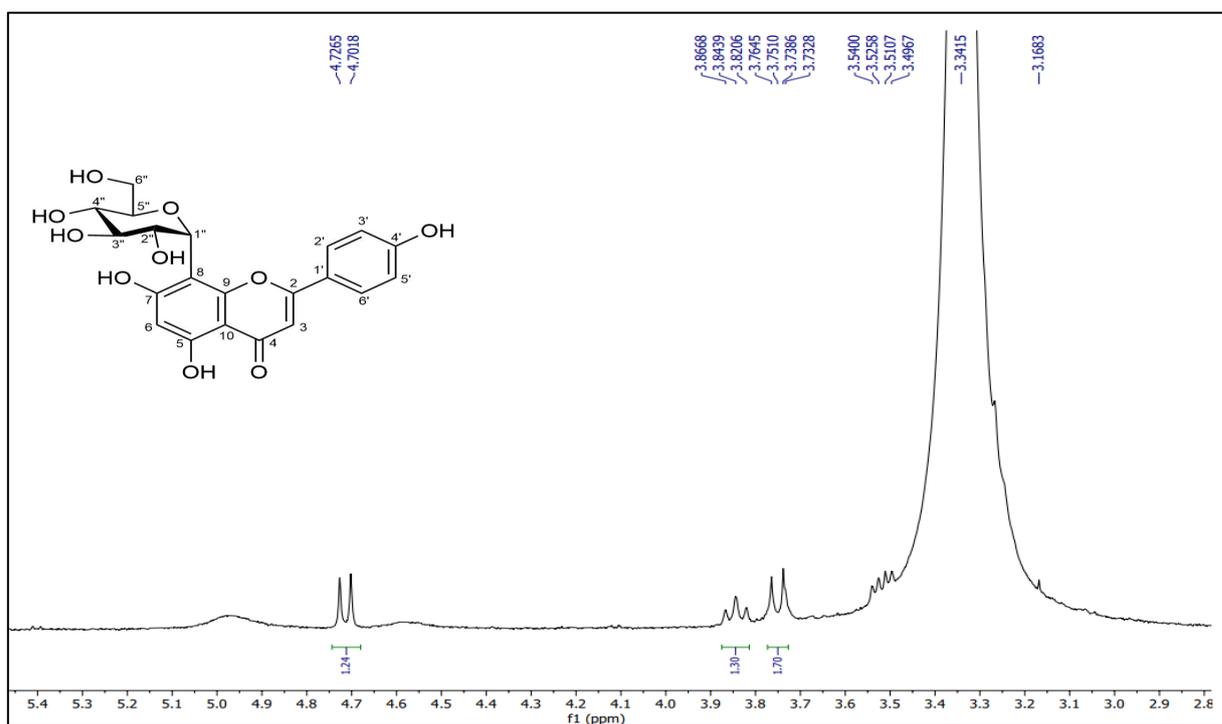


Figura 31 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-085 na região de 5.6 – 8.2 ppm

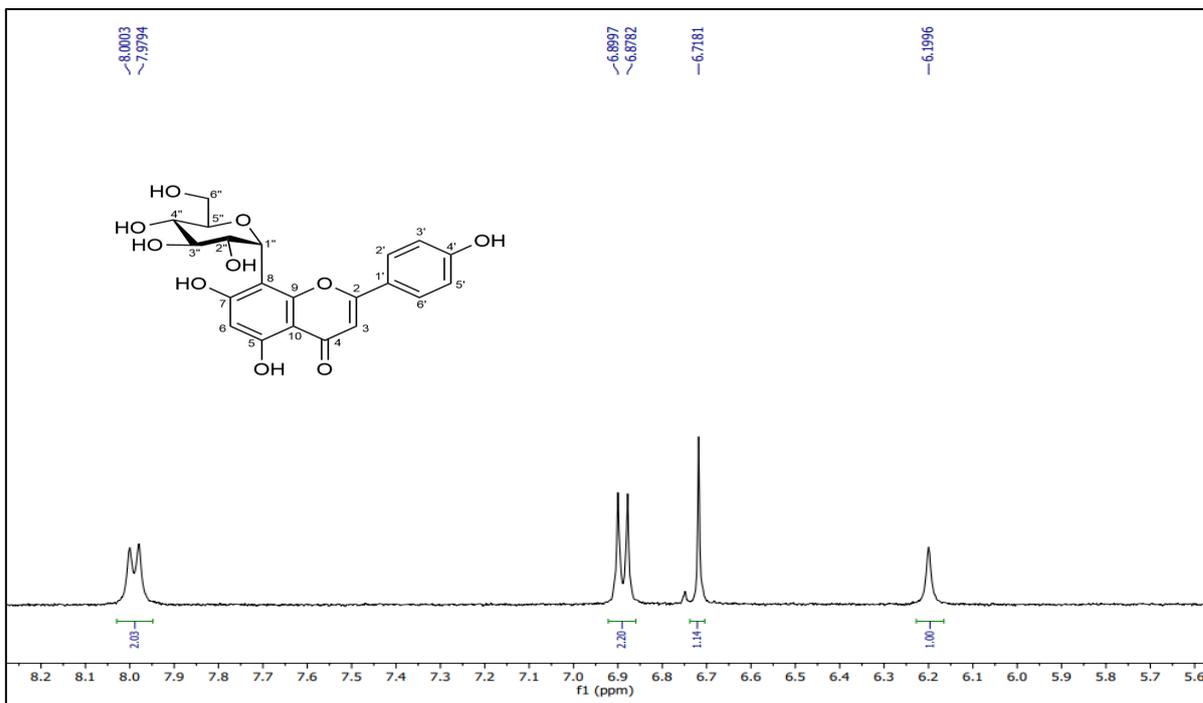


Figura 32 – Mapa de contorno ^1H x ^{13}C - HMBC (400 e 100 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-085

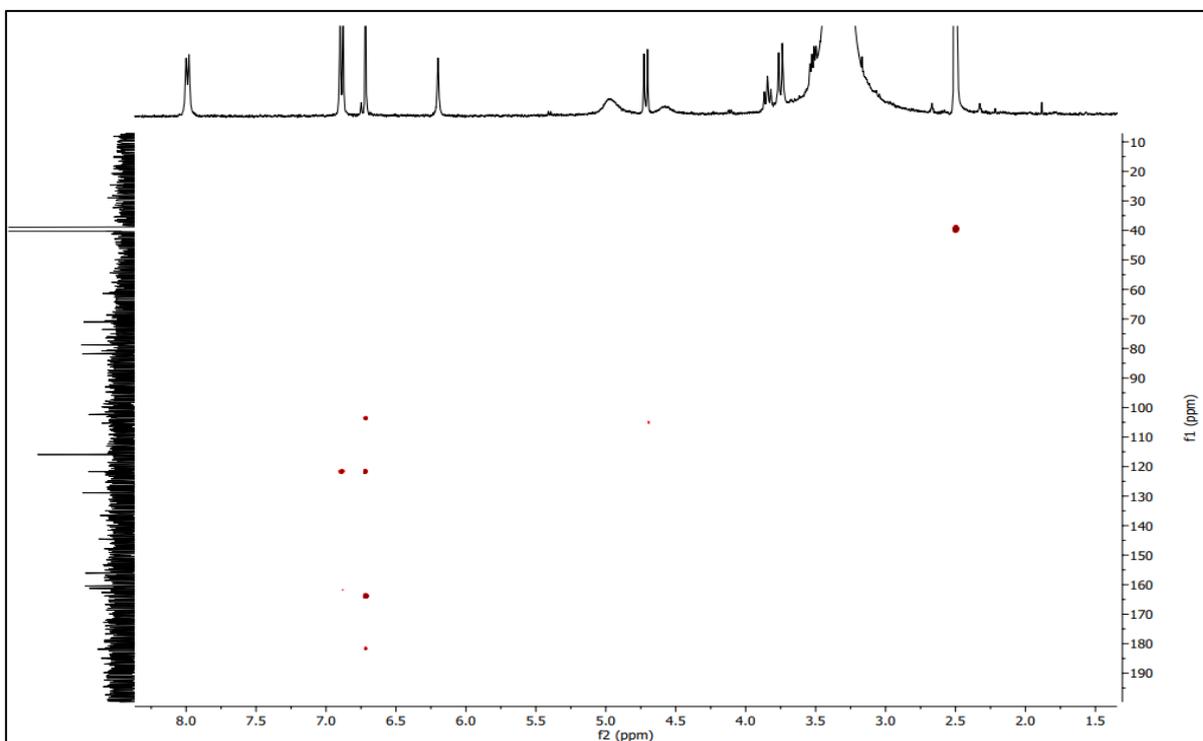


Figura 33 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC (500 e 124 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-085 na região de (190 – 80 ppm) x (7.2 – 4.6 ppm)

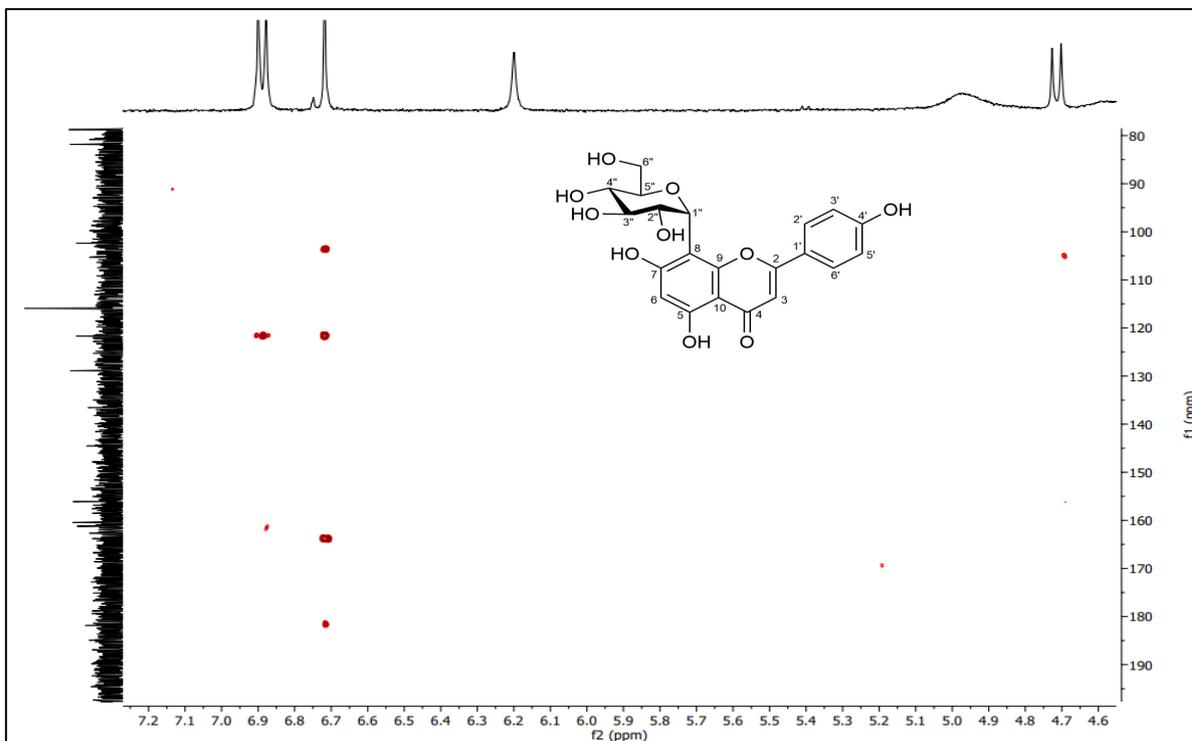


Figura 34 – Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-085

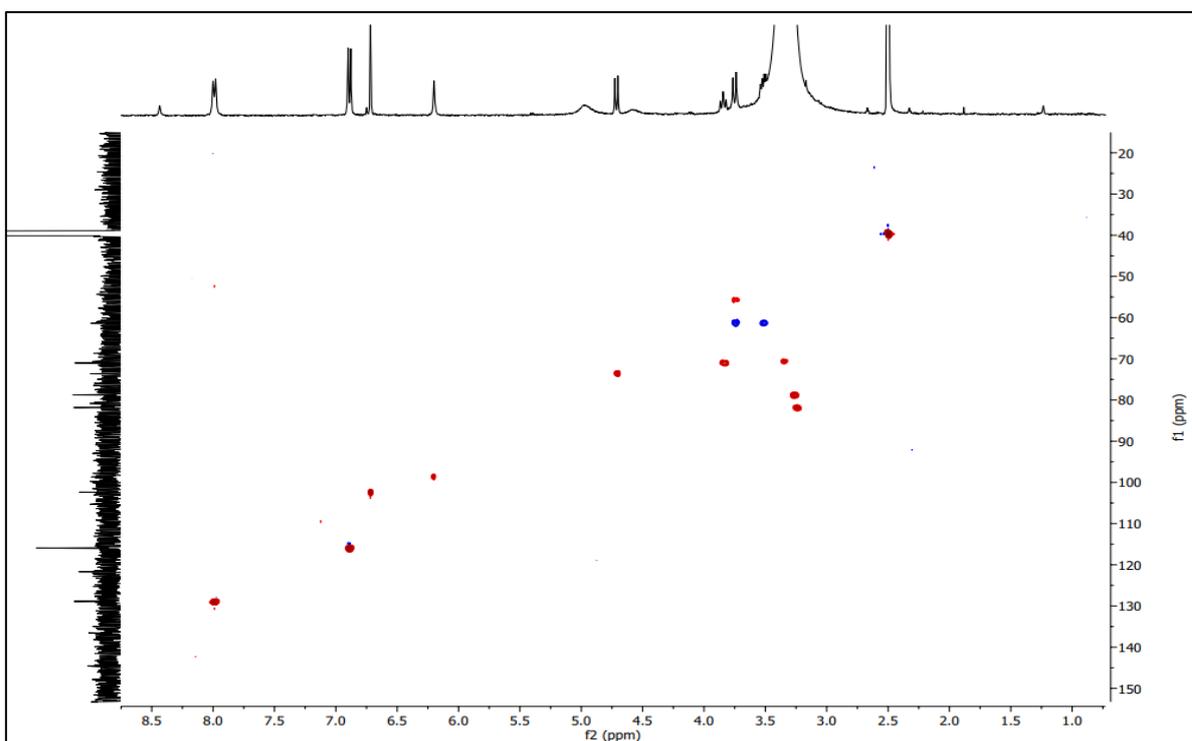


Figura 35 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (500 e 125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085 na região de (90 – 35 ppm) x (4.8 – 2.4 ppm)

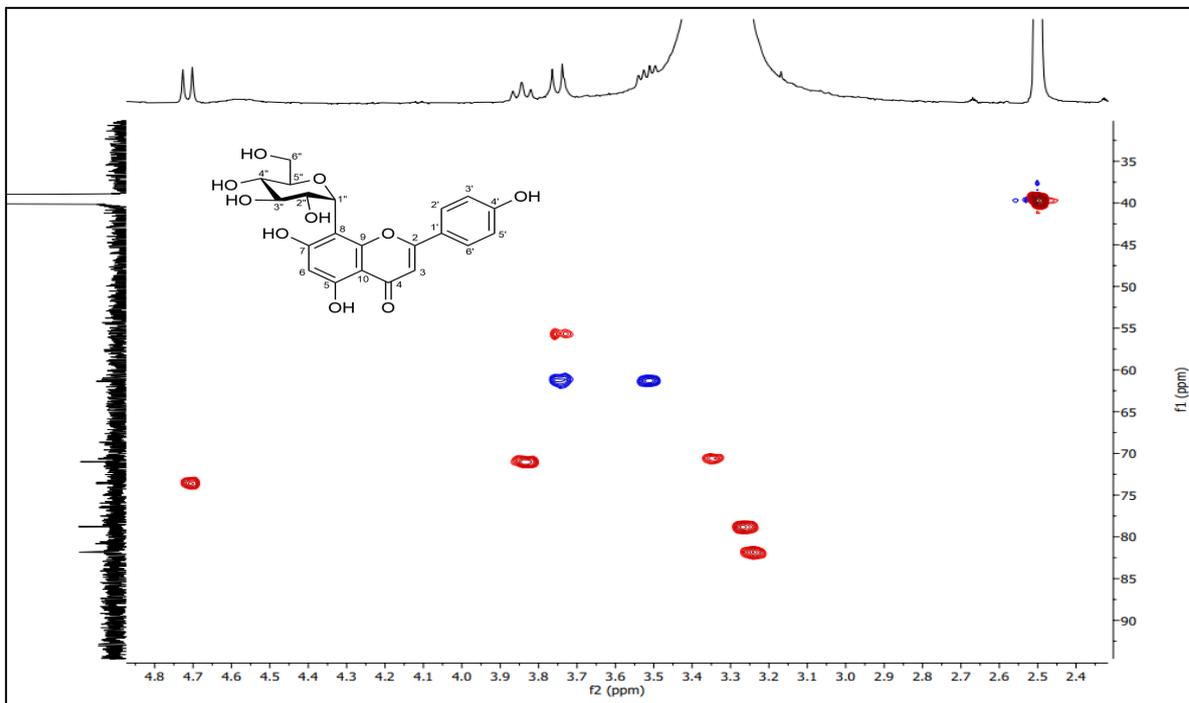
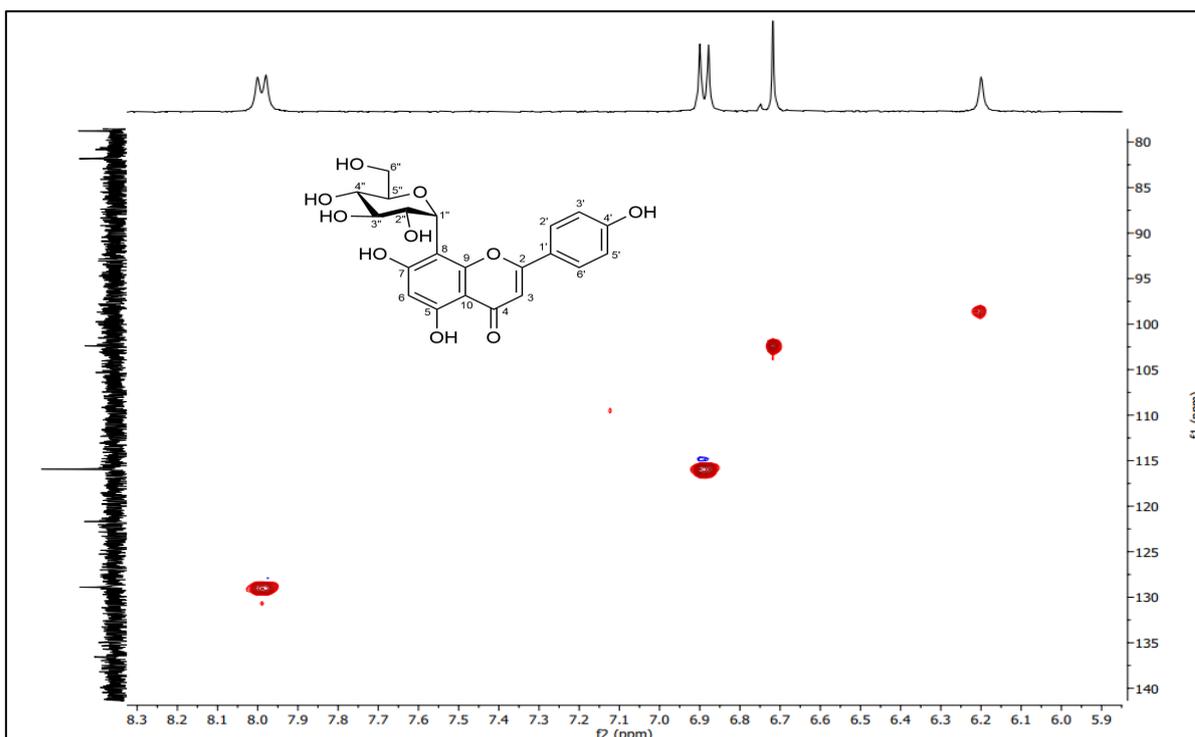


Figura 36 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (500 e 125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-085 na região de (140 – 80 ppm) x (8.3 – 5.9 ppm)



5.1.3 Determinação estrutural de BsAM-086

A substância codificada como BsAM-086 foi isolada na forma de um pó amorfo amarelo, pesando 3,0 mg. No espectro RMN de ^{13}C – técnica BB (125 MHz, DMSO-d_6) e suas expansões (Figuras 38-40, p. 73 e 74) foram observados 17 sinais, referentes a 21 carbonos, sendo nove não hidrogenados (δ_{C} 163,3; 181,45; 160,79; 109,31; 163,03; 156,69; 102,60 e 121,29), nove sinais correspondente a onze carbonos metínicos (δ_{C} 102,60; 94,39; 128,41; 116,19; 73,50; 70,68; 79,21; 70,33 e 81,51) e um sinal para carbono metilênico (δ_{C} 61,54). Os sinais em δ_{C} 163,03, 102,60, 181,45 foram atribuídos a C-2, C-3 e C-4, respectivamente, assim como, nas estruturas anteriores, indicando a presença do esqueleto de flavona.

Na região entre δ_{C} 60 e 80 ppm os sinais foram condizentes com a presença de unidade osídica, sendo o deslocamento em δ_{C} 73,50 sugestivo para o carbono anomérico de um flavonoide C-glicosídico. Os sinais norteadores para o anel B foram δ_{C} 128,41 (C-2'/C-6') e δ_{C} 116,19 (C-3'/C-5') condizentes com o padrão AA'BB', assim como, a substância BsAM-085.

No entanto, alguns sinais de carbono diferiram nesta estrutura. No BsAM-085 o C-6 livre apresentou um δ_{C} em 98,68 ppm e o C-8 estava ocupado pela glicose (δ_{C} 105,32; Tabela 7, p. 64); já na molécula codificada por BsAM-086 observou-se uma mudança nesses deslocamentos sendo o C-6 ocupado pela glicose com δ_{C} em 109,31 ppm e o C-8 livre com δ_{C} 94,39 ppm. Assim, essas diferenças nos deslocamentos de carbono indicam que as substâncias BsAM-085 e 086 são isômeras de posição pela unidade osídica (He *et al.*, 2016).

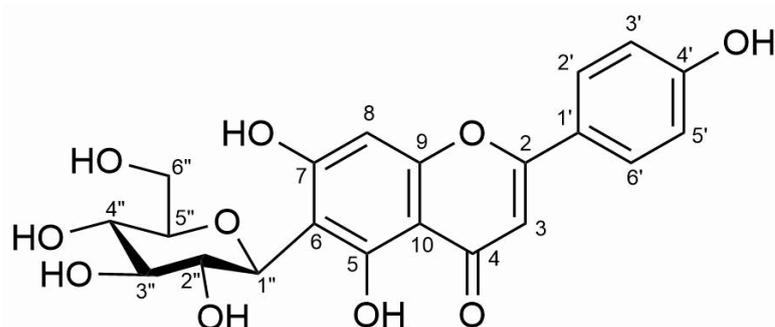
No espectro de RMN de ^1H de BsAM-086 e suas expansões (500 MHz, DMSO-d_6) (Figuras 41-43, p. 74 e 75) foram detectados sinais característicos de flavonoide, sendo estes, um duplete em δ_{H} 6,90 ($J = 8,5$ Hz, 2H) sugestivos para os hidrogênios H-2' e H-6', outro duplete em δ_{H} 7,87 ($J = 8,5$ Hz, 2H) condizentes aos hidrogênios H-3' e H-5', confirmando o sistema AA'BB', como visto no espectro de carbono. Já o anel A foi caracterizado como trissubstituído pela presença de um simpleto em δ_{H} 6,35, referente ao H-8. A classe pertencente de flavonoide foi determinada pela presença de um simpleto em δ_{H} 6,66 (1H), característico de flavonas, resultado que corrobora com os dados de carbono para C-2, C-3 e C-4. Outro sinal em δ_{H} 13,50 (s) foi atribuído a hidroxila quelada da posição 5. Esses dados foram reforçados a partir da

comparação com os dados de Peng e colaboradores (2005), sendo observados na tabela 8 (p. 72).

A análise do espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 44, p. 76) e em sua expansão (Figura 45, p. 76) permitiu identificar a correlação entre os hidrogênios H-2'/6' de BsAM-086 (δ_H 6,90) a duas ligações (2 J) com C-1' (δ_C 121,29) e os hidrogênios H-3'/5' (δ_H 7,87) a duas ligações (2 J) com C-2'/6' (δ_C 128,41) e também a duas ligações com C-4' (δ_C 161,36). Tais correlações confirmam o anel B da flavona com um sistema do tipo AA'BB'. Ainda, as correlações encontradas para o H-8 (δ_H 6,35) a três ligações (3 J) com o C-6 (δ_C 109,31), bem como, do hidrogênio H-1" correlacionando a duas ligações (2 J) com os carbonos C-2" (δ_C 70,68), C-6 (δ_C 109,31) e a três ligações (3 J) com o carbono C-5 (δ_C 160,79), confirmam que o carbono 8 não é substituído e o C-6 ocupado pela unidade osídica.

Logo, foi possível identificar BsAM-086 como sendo a isovitexina (Apigenina-6-C- β -glicopiranosídeo) (Figura 37, p. 72). Esse composto já foi referido na literatura para outra espécie da família Malpighiaceae (*Malpighia emarginata* DC). Porém, está sendo relatado pela primeira vez no gênero e na espécie *Banisteriopsis stellaris* (Abbas *et al.*, 2022).

Figura 37 - Estrutura química da BsAM-086.



Apigenina-6-C- β -glicopiranosídeo (Isovitexina)

Tabela 8 – Dados de RMN da BsAM-086 (δ em ppm e J em Hz, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em DMSO-d_6) comparados com dados da literatura (Peng *et al.*, 2005)

BsAM-086			Peng <i>et al.</i> , 2005	
Posição	δ C	δ H	δ C	δ H
2	163,03	-	163,32	-
3	102,60	6,66 (s, 1H)	102,60	6,71 (s, 1H)
4	181,45	-	181,73	-
5	160,79	13,50 (s) - OH	160,64	13,46 (s) - OH
6	109,31	-	108,95	-
7	163,03	-	163,32	-
8	94,39	6,35 (s, 1H)	93,79	6,42 (s, 1H)
9	156,69	-	156,31	-
10	102,60	-	102,95	-
1'	121,29	-	121,00	-
2'/6'	128,41	6,90 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H)	128,35	6,94 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H)
3'/5'	116,19	7,87 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H)	116,01	7,85 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H)
4'	161,36	-	161,32	-
1''	73,50	4,58 (d, $J = 10,0$, 1H)	73,13	4,56 (d, $J = 9,8$ Hz)
2''	70,68	4,07 (t, $J = 9,0$, 1H)	70,52	4,0
3''	79,21	3,7-3,1	78,93	3,7-3,1 (m)
4''	70,33	3,7-3,1	70,20	3,7-3,1 (m)
5''	81,51	3,7-3,1	81,38	3,7-3,1 (m)
6''	61,54	3,7-3,1	61,37	3,7-3,1 (m)

Fonte: própria da autora

Figura 38 – Espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086

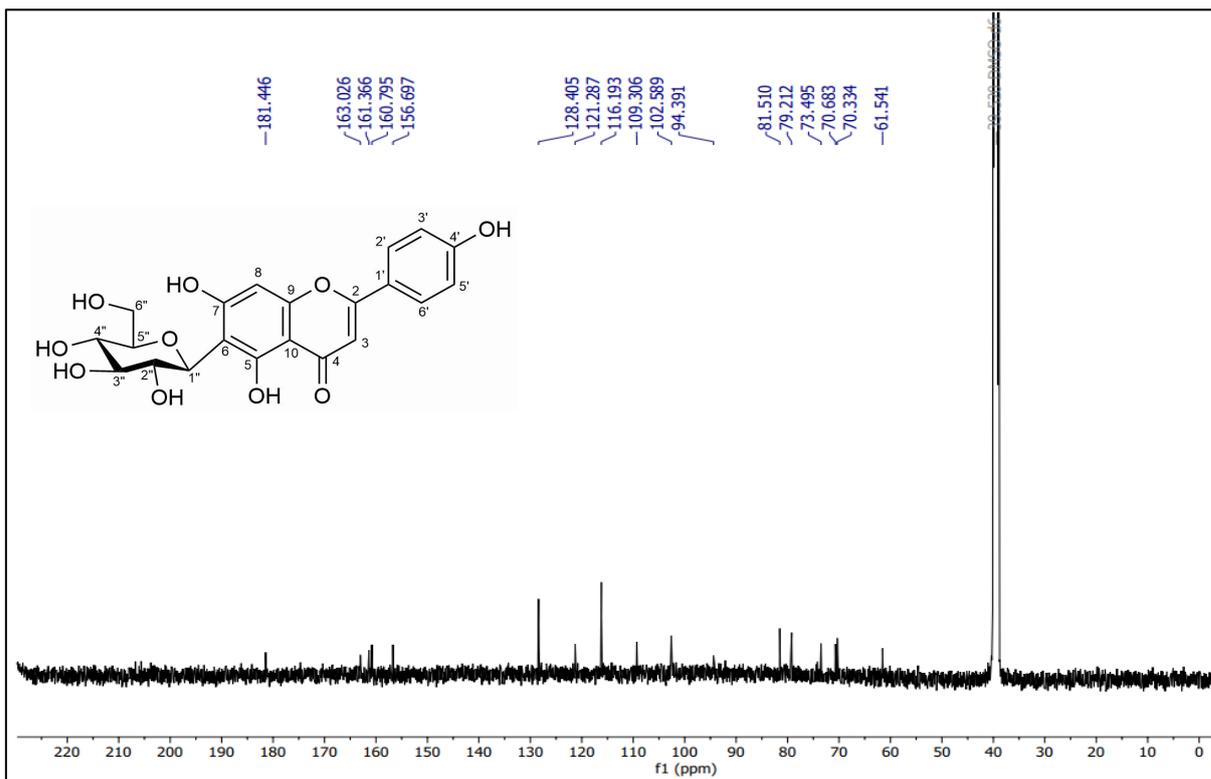


Figura 39 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – BB (125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086 na região de 55 – 130 ppm

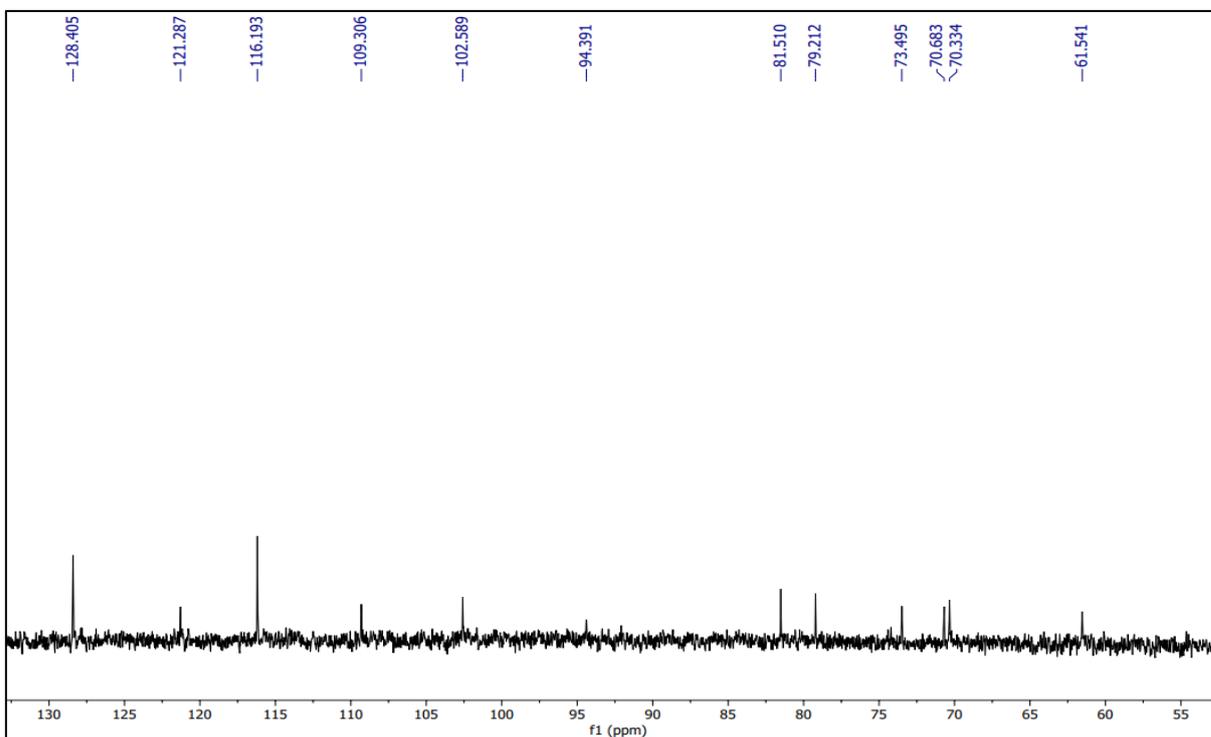


Figura 40 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086 na região de 135 – 210 ppm

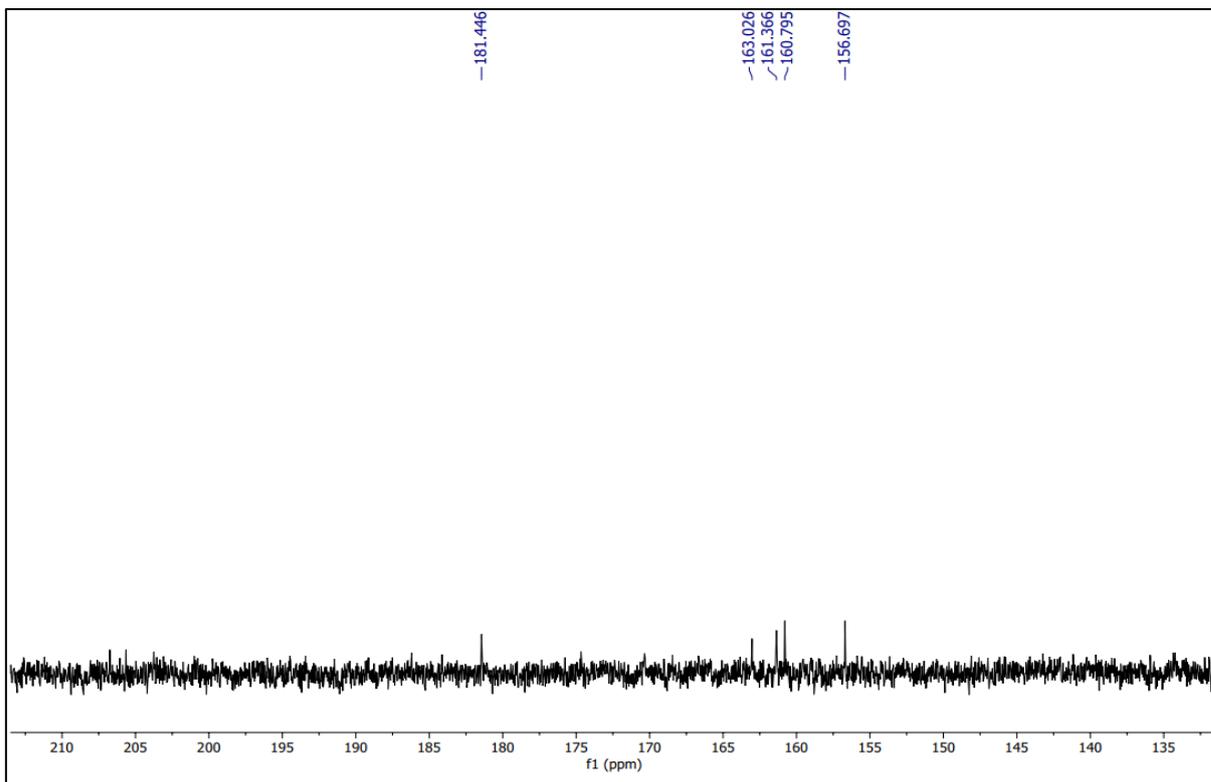


Figura 41 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) de BsAM-086.

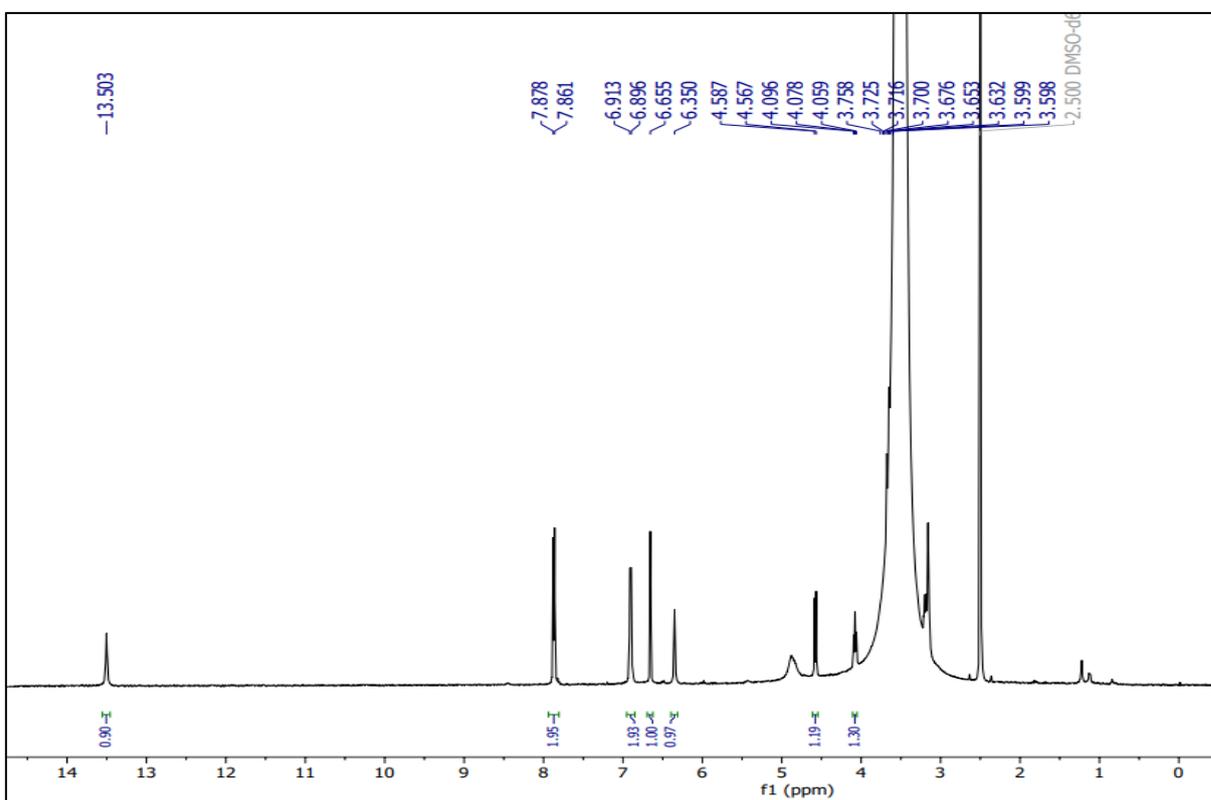


Figura 42 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-086 na região de 2.7 – 5.1 ppm

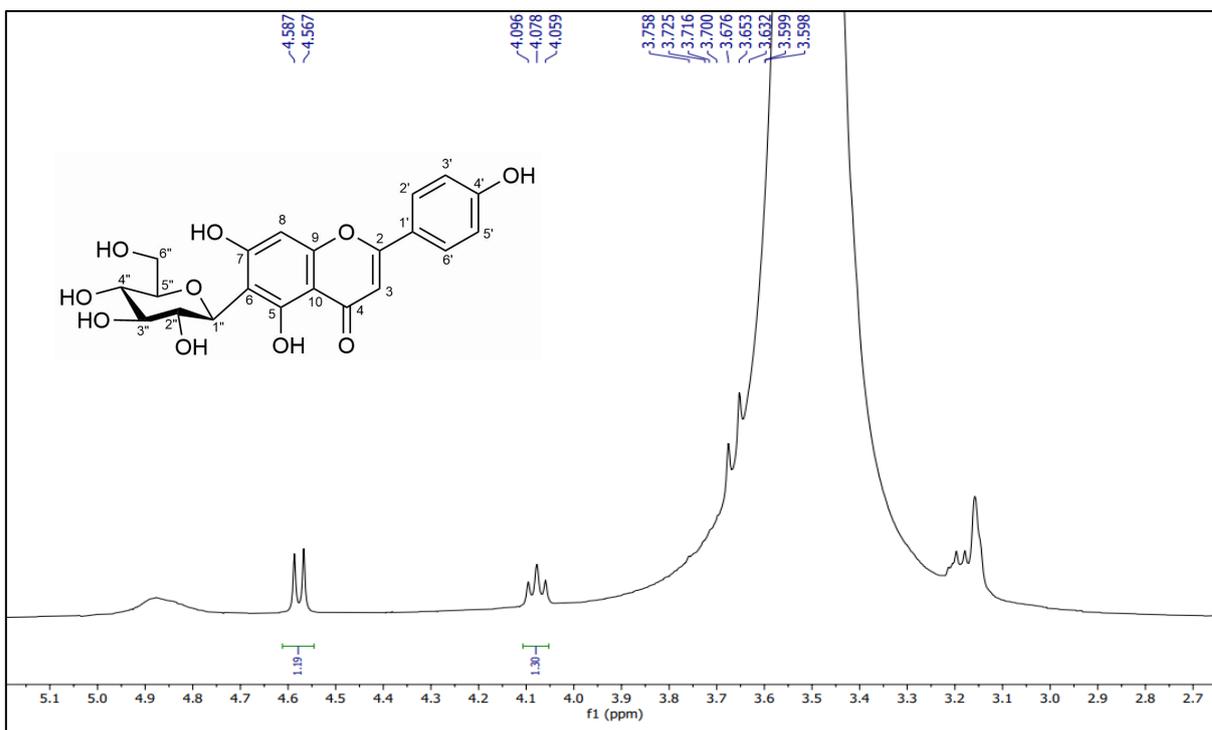


Figura 43 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-086 na região de 5.9 – 8.4 ppm

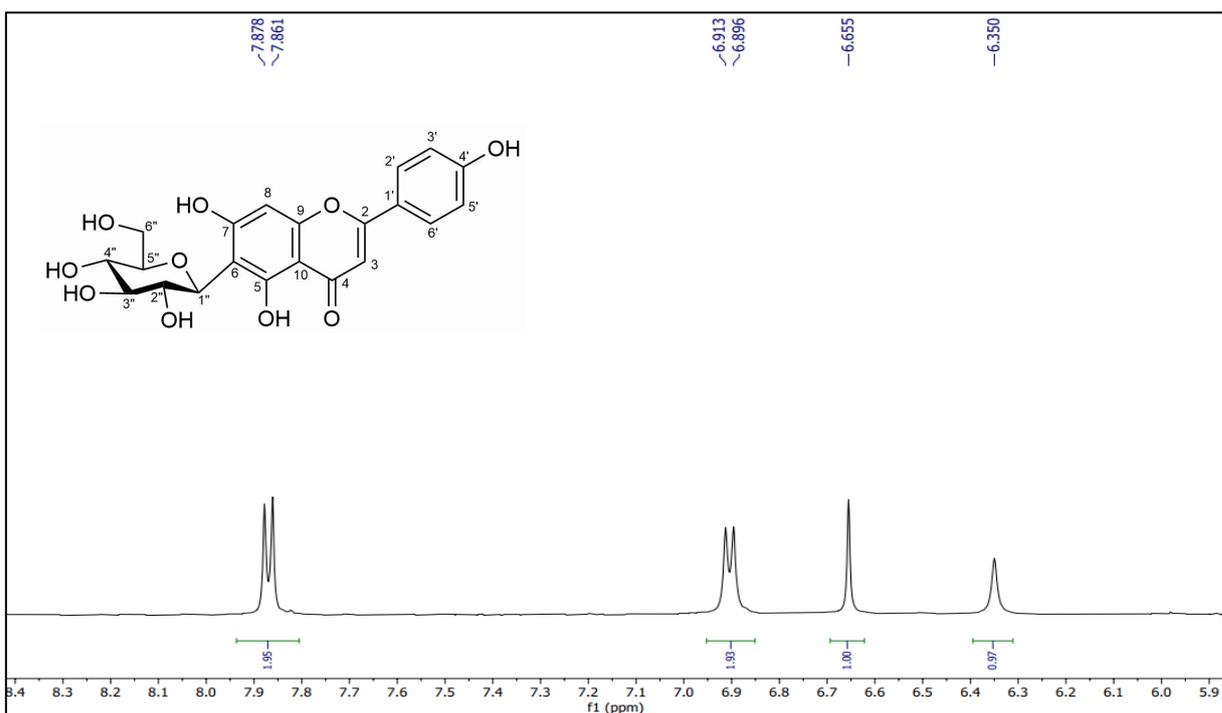


Figura 44 – Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC (500 e 125 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-086

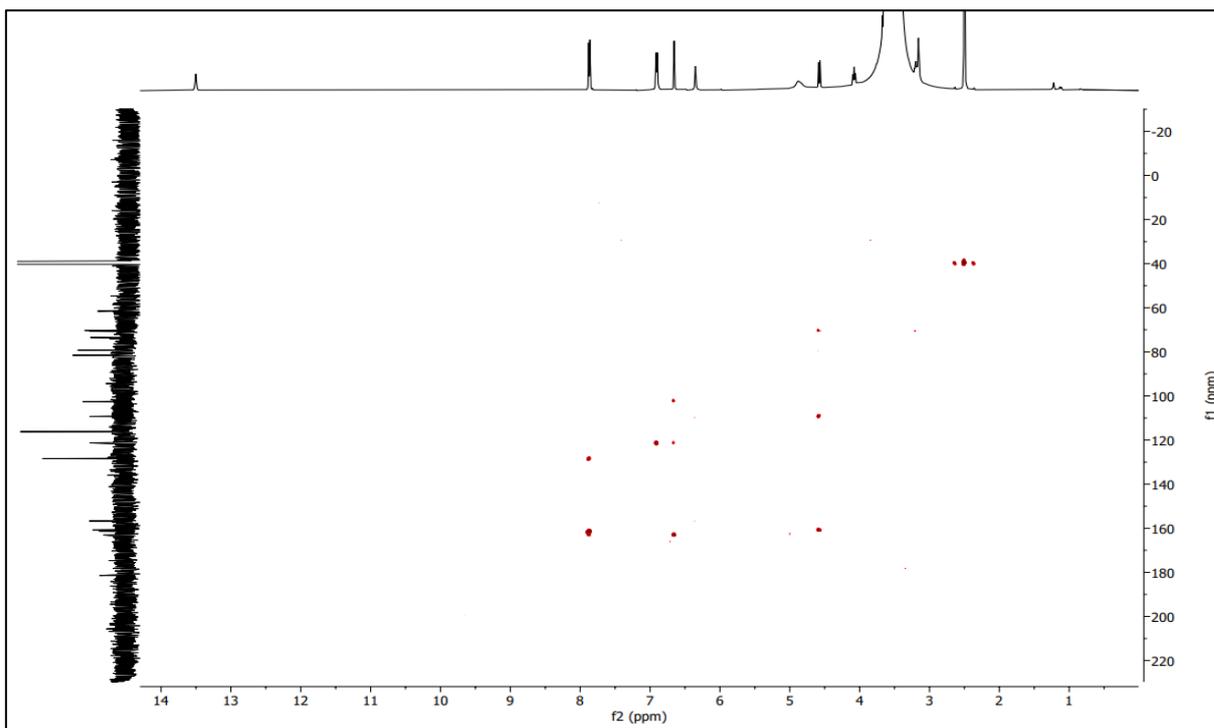
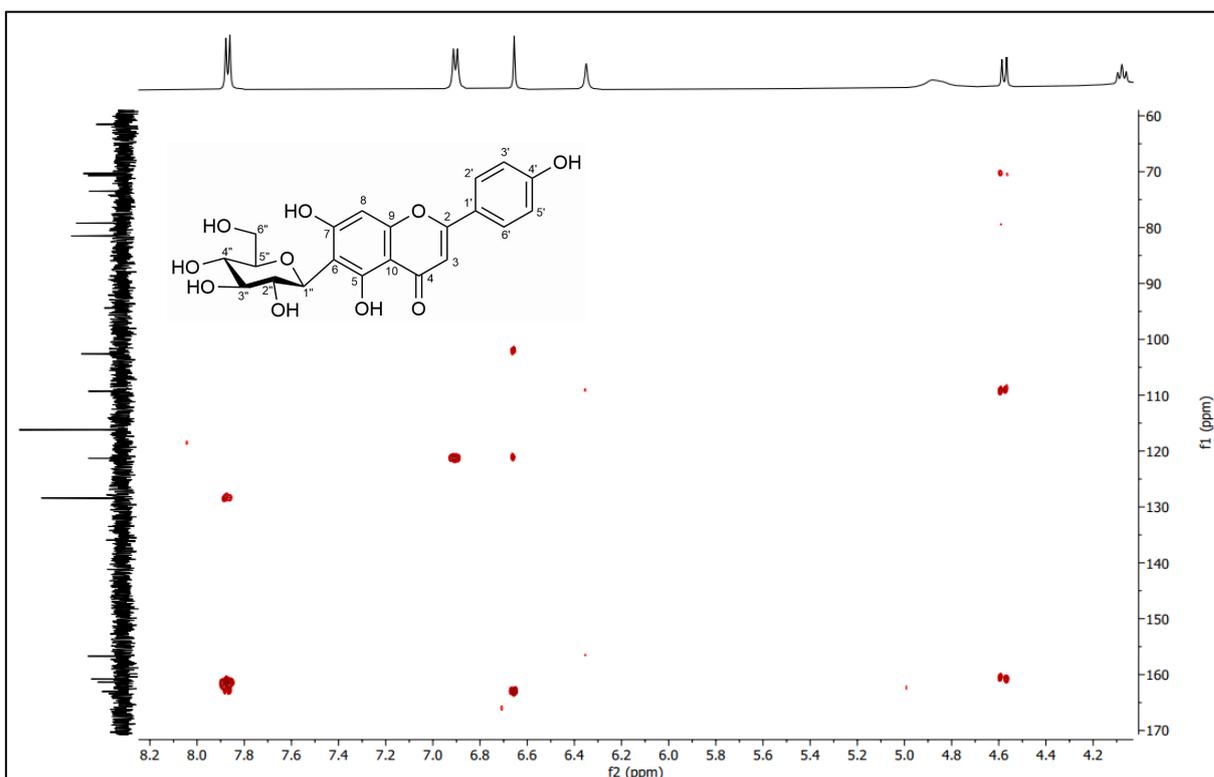


Figura 45 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC (500 e 125 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-086 na faixa de (170 – 60 ppm) x (8.2 – 4.2)



5.1.4 Determinação estrutural de BsAM-1014

A substância codificada como BsAM-1014 foi isolada na forma de um pó amorfo amarelo, pesando 2,0 mg. No espectro RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, DMSO- d_6) (Figura 47, p. 80) alguns sinais não foram observados devido ao difícil relaxamento de alguns carbonos e por estar em pouca quantidade, entretanto, os assinalamentos foram confirmados através da análise do mapa de contorno heteronuclear HSQC (Figura 52, p. 83) e em suas expansões (Figuras 53-55, p. 83 e 84) sendo possível determinar correlações diretas entre carbonos e hidrogênio conforme a tabela 9 (p. 79).

Nesse contexto, pôde-se observar a presença de 27 átomos de carbonos, sendo nove não hidrogenados (δ_{C} 163,4; 181,8; 161,9; 109,8; 163,9; 155,5; 104,8; 121,4 e 160,5), quatorze sinais correspondente a dezesseis carbonos metínicos (δ_{C} 102,5; 93,2; 128,4; 116,1; 71,6; 74,8; 79,7; 70,4; 81,4; 100,4; 70,7, 70,4; 71,6 e 68,3), um sinal para carbono metilênico (δ_{C} 61,4) e um sinal para carbono metílico (δ_{C} 17,9). Os sinais em δ_{C} 163,4, 102,5, 181,8 foram atribuídos aos C-2, C-3 e C-4, respectivamente, assim como, nas estruturas anteriores, confirmando a presença do esqueleto de flavona. Os sinais que norteiam para o tipo de anel B são os deslocamentos em δ_{C} 128,4 (C-2'/C-6') e δ_{C} 116,1 (C-3'/C-5') condizentes com um anel B *para* substituído e típico de sistema AA'BB'.

No espectro de RMN de ^1H e suas expansões (400 MHz, DMSO- d_6) (Figuras 49-51, p. 81-82) foram detectados sinais característicos de flavonoide, sendo estes, um duplete em δ_{H} 7,90 ($J = 8,8$ Hz, 2H) referente aos hidrogênios H-2' e H-6', outro duplete em δ_{H} 6,91 ($J = 8,4$ Hz, 2H) condizentes com os hidrogênios H-3' e H-5', confirmando o sistema AA'BB'. Já o anel A foi caracterizado como trissubstituído pela presença de simpleto em δ_{H} 6,45, referente ao H-8. A classe pertencente de flavonoide foi determinada pela presença de um simpleto em δ_{H} 6,72 (1H), característico de flavonas, resultado que corrobora com os dados de carbono para C-2, C-3 e C-4 pelo HSQC. Outro sinal em δ_{H} 13,52 (s) foi atribuído a hidroxila na posição 5 quelada com a carbonila em C-4.

Ainda, foi possível observar a presença da inserção de duas unidades osídicas na estrutura de BsAM-1014. O sinal em δ_{C} 61,37, visto no HSQC (Figuras 52-55, p. 83 e 84) foi atribuído ao carbono metilênico oxigenado da glicose no C-6". NO HSQC foram vistos ainda dois sinais característicos de hidrogênios anomérico, um em δ_{H} 4,65 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H) associado ao carbono em δ_{C} 71,6, que caracterizou a inserção da

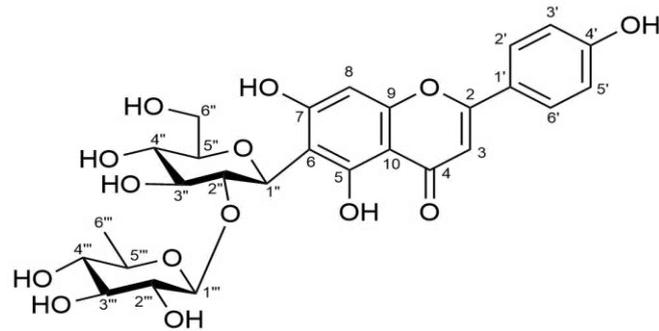
unidade C-glicosídica na aglicona, enquanto o outro hidrogênio anomérico com deslocamento em δ_H 5,07 (s) foi associado ao carbono em δ_C 100,4 demonstrando que a segunda unidade osídica estava ligada na glicose por uma ligação ao oxigênio, e que esta é do tipo α , visto que, ocorre um deslocamento químico paramagnético de 2,0 ppm entre o anômero alfa e beta (100 ppm e 102 ppm) (Marson-Ascêncio; Ascêncio; Baggio, 2012). Outro sinal referente a unidade osídica foi o deslocamento em δ_H 0,53 (d, $J = 6,0$, 1H) associado ao C-6''' em δ_C 17,9 que corresponde ao carbono metílico, assim, a segunda unidade osídica foi determinada como uma ramnose.

Na análise dos espectros de 1H (400 MHz, DMSO- d_6) foi possível observar também a existência de duplicidade em alguns sinais, como H-2'' em δ_H 4,38 e 4,21, H-1''' em δ_H 5,07 e 5,00 e H-6''' em δ_H 0,57 e 0,60. De acordo com Camargo e colaboradores (2012), esses resultados indicam que a amostra BsAM-1014 possui dois rotâmeros. Estes diferem no arranjo espacial da subunidade dissacarídea. A barreira de energia é suficientemente elevada para evitar uma rápida troca entre os dois conformadores à temperatura ambiente em DMSO- d_6 . Esse resultado concorda com as conclusões relatadas em 2005 por Rayyan *et al.* para o mesmo composto em DMSO- d_6 .

Nos rotâmeros A e B, os dupletos de baixo deslocamento químico em 0,51 e 0,59 ppm obtidos DMSO- d_6 para os resíduos de metila ramanosílica indicam claramente que, em ambos os casos, esses grupos estão posicionados sobre o plano dos anéis aromáticos do flavonoide (Martin *et al.*, 1998). A distância calculada entre o grupo metila ramanosílico e o plano médio aromático dos anéis AC de 1 é de $3,70 \pm 1,0 \text{ \AA}$ para ambos os conformadores, resultado que concorda bem com a blindagem de RMN prevista por esses autores para tais efeitos anisotrópicos. É interessante notar que interações CH- ρ foram recentemente propostas por Larionova *et al.* (2010) para explicar o deslocamento químico em campo alto observado para o sinal da metila ramanosílica (0,46 ppm em DMSO- d_6).

Portanto, foi possível identificar a BsAM-1014 como sendo a Isovitexina-2''-O- α -L-ramnopiranosídeo (Figura 46, p. 79) (Camargo *et al.*, 2012). Esse composto já foi referido na literatura para outra espécie da família Malpighiaceae (*Hiraea reclinata*). No entanto, está sendo relatado pela primeira vez no gênero e na espécie *Banisteriopsis stellaris* (Abbas *et al.*, 2022).

Figura 46 - Estrutura química da BsAM-1014.



Isovitexina-2''-O- α -L-ramnopiranosídeo

Tabela 9 – Dados de RMN da Bs-1014 (J em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em DMSO-d_6) comparados com dados da literatura (Camargo *et al.*, 2012)

BsAM-1014 (HSQC)				Camargo <i>et al.</i> , 2012		
Posição	δ C	δ H (Rotâmero A)	δ H (Rotâmero B)	δ C	δ H (Rotâmero A)	δ H (Rotâmero B)
2	163,4	-	-	163,9	-	-
3	102,5	6,72 (s, 1H)	-	103,2	6,75 (s, 1H)	-
4	181,8	-	-	182,7	-	-
5	161,9	13,52 (s, 1H) - OH	-	161,8	-	-
6	109,8	-	-	109,6	-	-
7	163,9	-	-	163,4	-	-
8	93,2	6,45 (s, 1H)	-	93,6	6,50 (s, 1H)	-
9	155,5	-	-	156,8	-	-
10	104,8	-	-	103,3	-	-
1'	121,4	-	-	121,6	-	-
2'/6'	128,4	7,90 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H)	-	129,0	7,91 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H)	-
3'/5'	116,1	6,91 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H)	-	116,6	6,92 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H)	-
4'	160,5	-	-	160,5	-	-
1''	71,6	4,65 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H)	-	71,9	4,64 (d, $J = 9,7$ Hz, 1H)	-
2''	74,8	4,38 (t, $J = 9,6$, 1H)	4,21	75,6	4,35 (t, $J = 8,7$, 1H)	4,15 (m)
3''	79,7	3,34	-	80,6	3,35 (m)	-
4''	70,4	3,14	-	70,9	3,11 (m)	-

Tabela 9. Continuação - Dados de RMN da Bs-1014 (J em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em DMSO-d_6) comparados com dados da literatura (Camargo *et al.*, 2012)

BsAM-1014 (HSQC)				Camargo <i>et al.</i> , 2012		
Posição	δ C	δ H (Rotâmero A)	δ H (Rotâmero B)	δ C	δ H (Rotâmero A)	δ H (Rotâmero B)
5''	81,4	3,15 (m)	-	82,0	3,16 (m)	-
6''	61,4	3,70 (m)	-	62,3	3,70 (m)	3,47 (m)
1'''	100,4	5,07 (s, 1H)	5,00 (s)	100,9	5,07 (s)	5,00 (s)
2'''	70,7	3,61	-	71,2	3,60 (m)	-
	70,4	3,14	-	70,9	3,11 (m)	-
4'''	71,6	2,92 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H)	-	72,1	2,93 (t, $J = 9,1$ Hz)	-
5'''	68,3	2,35 (m)	-	68,8	2,50 (m)	-
6'''	17,9	0,53 (d, $J = 6,0$, 3H)	0,60 (d, $J = 6,0$)	18,1	0,51 (d, $J = 5,5$ Hz)	0,59 (d, $J = 5,2$)

Fonte: própria da autora

Figura 47 – Espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-1014

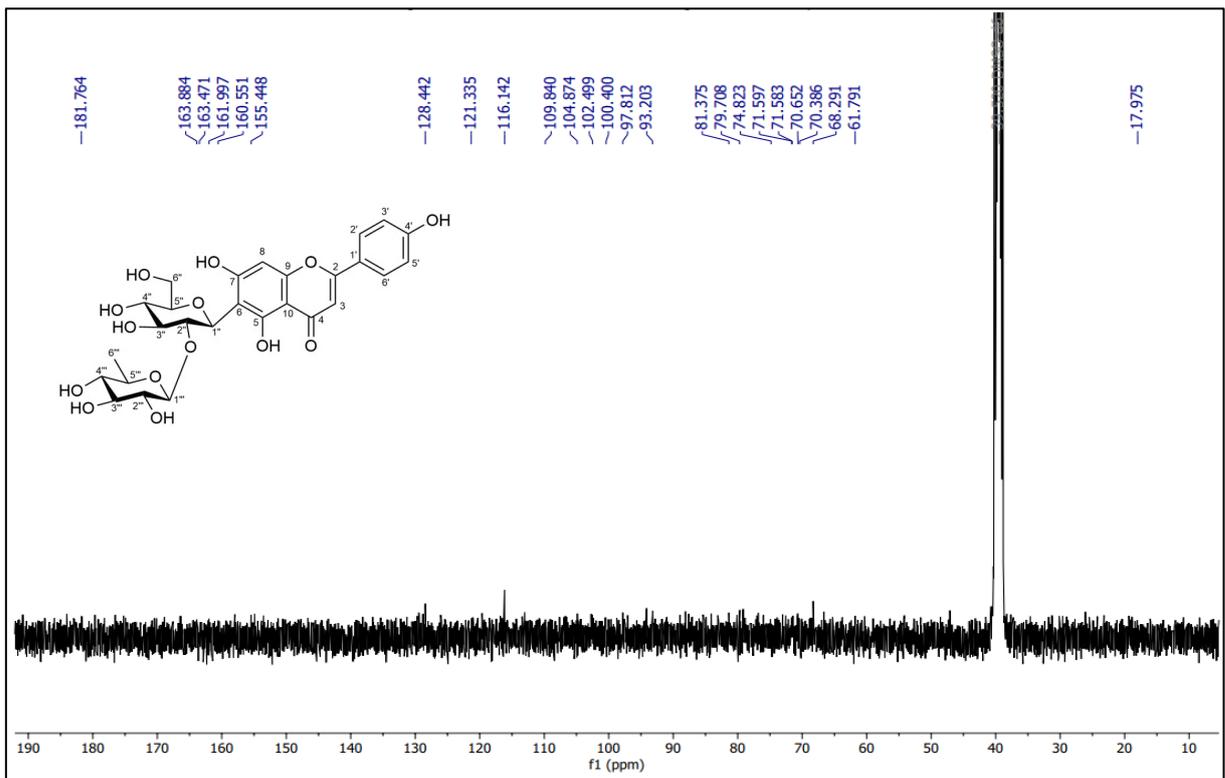


Figura 48– Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-1014

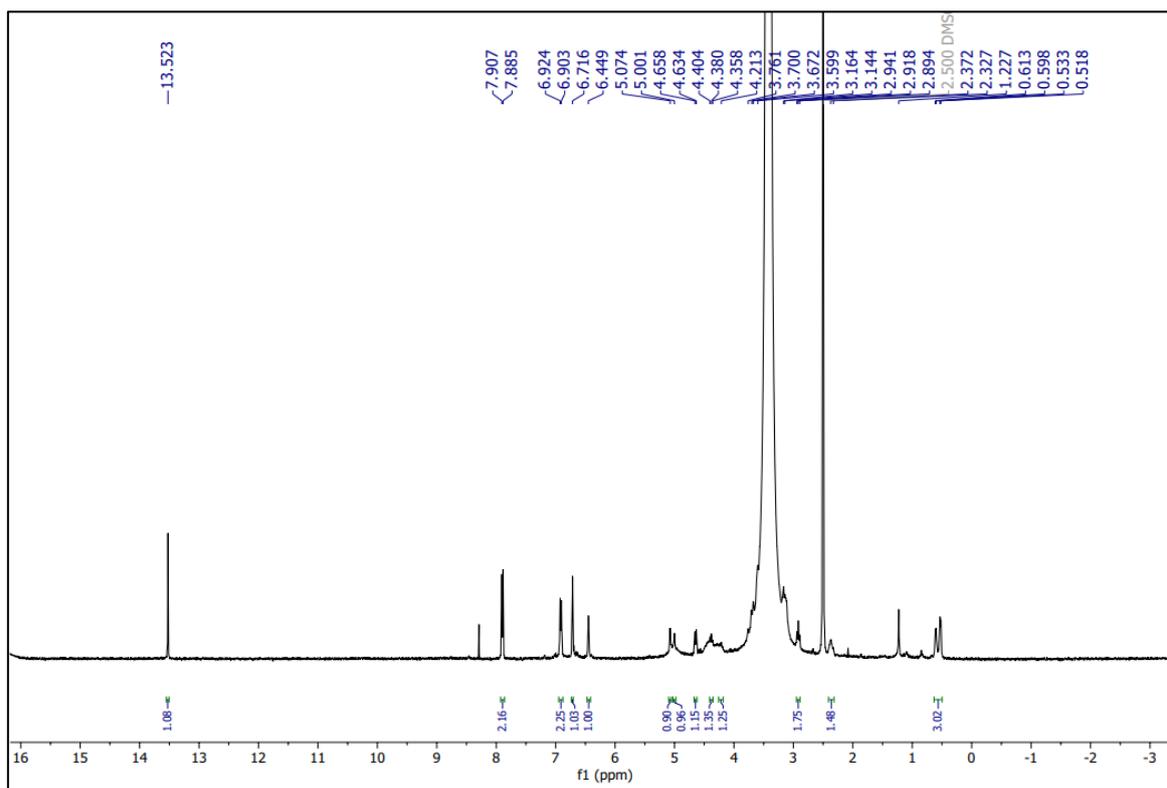


Figura 49 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-1014 na região de 0.0 – 3.2 ppm

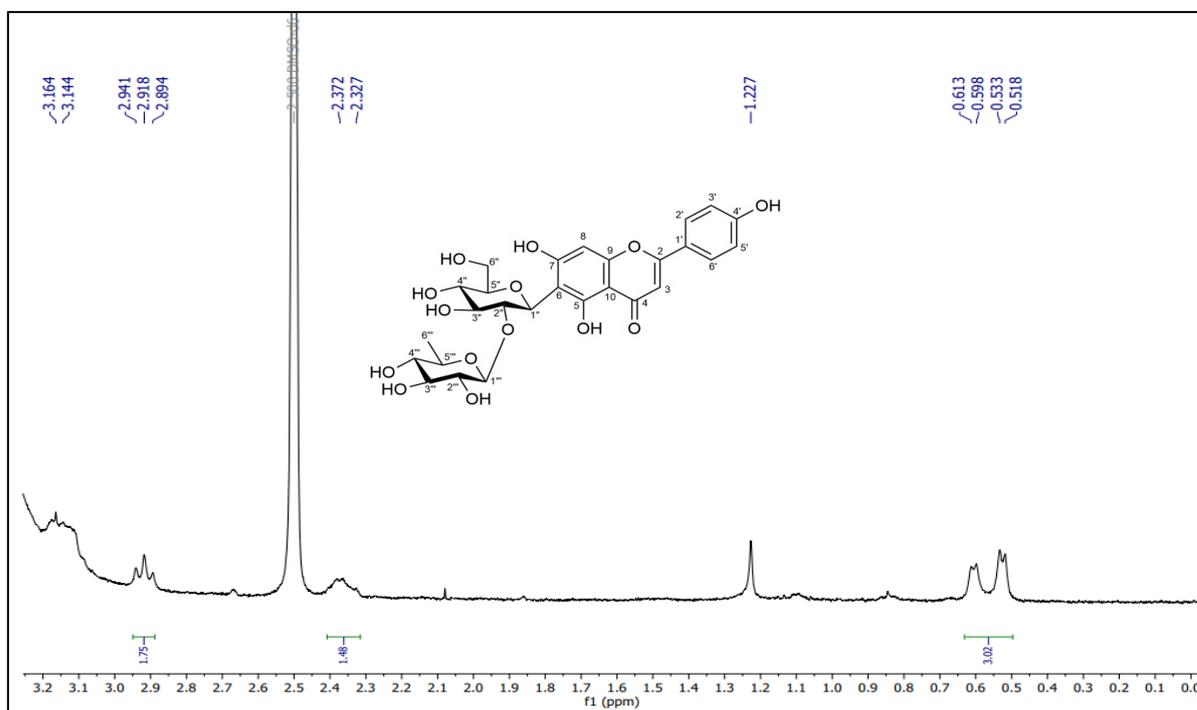


Figura 50 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-1014 na região de 3.2 – 6.3 ppm

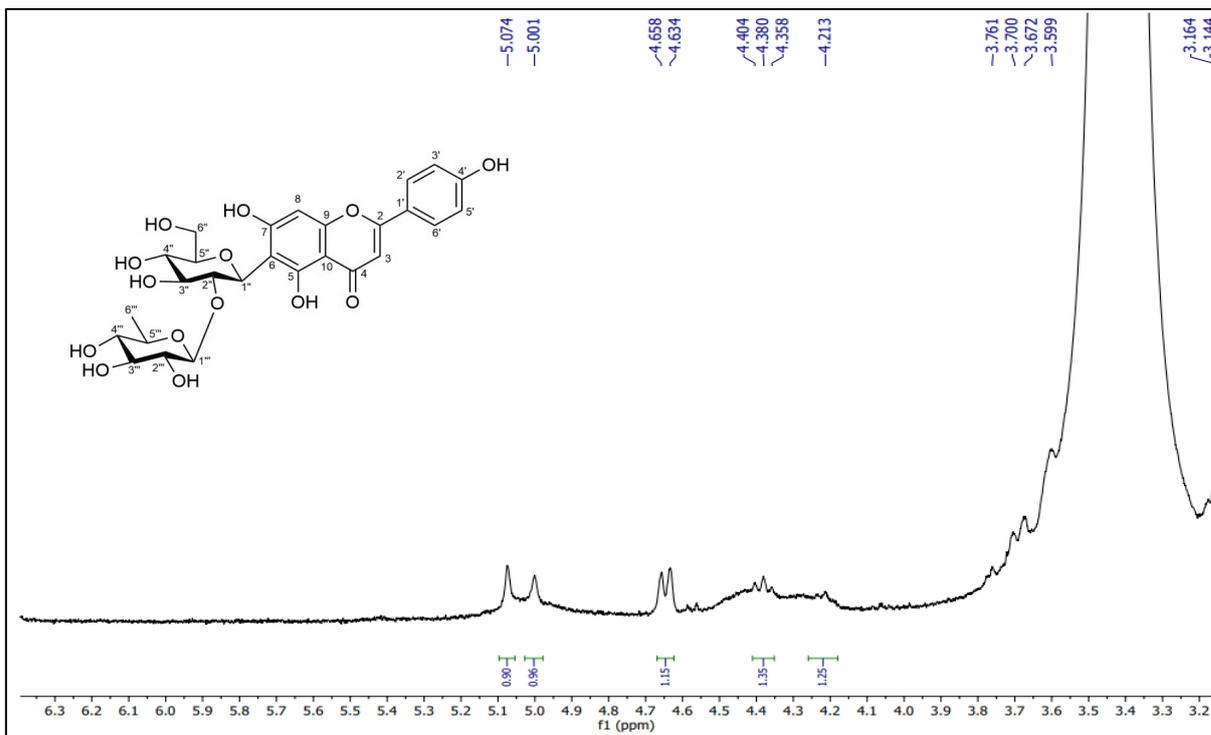


Figura 51 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-1014 na região de 6.2 – 8.2 ppm

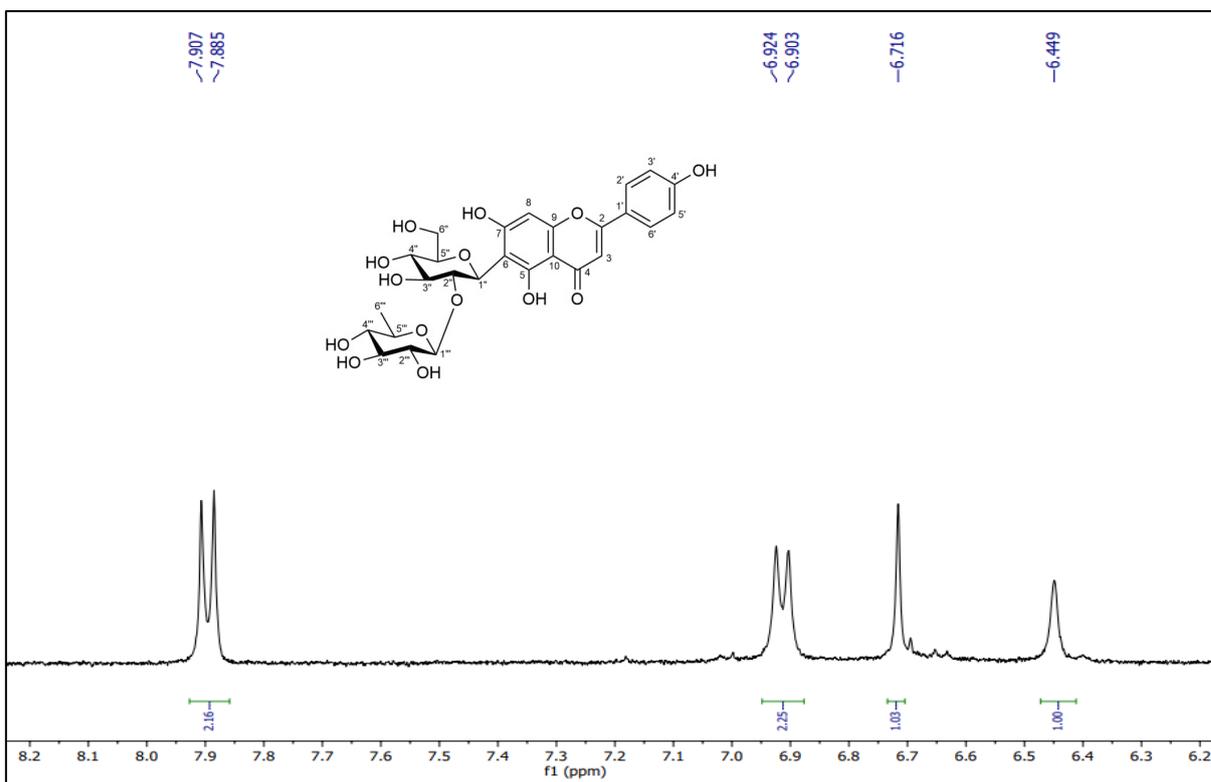


Figura 52 – Mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC (400 e 100 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-1014

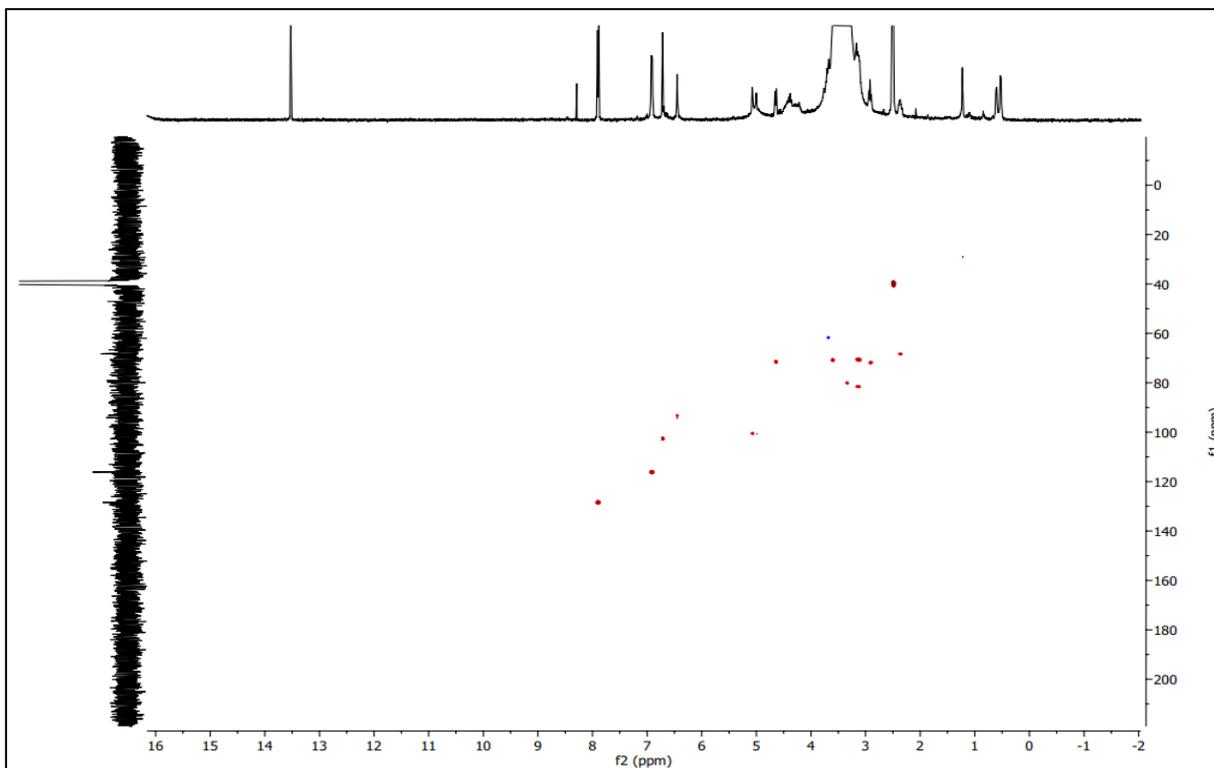


Figura 53 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-1014 na região de (34 – 4 ppm) x (1.05 – 0.05 ppm)

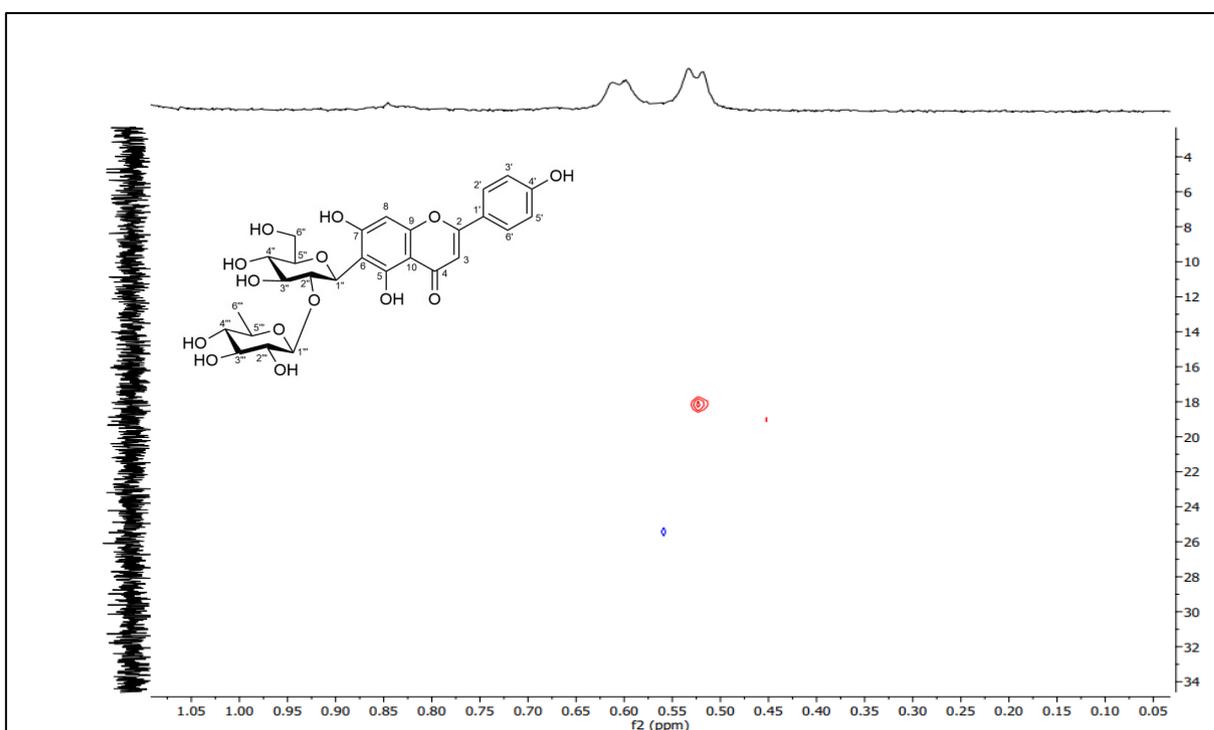


Figura 54 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-1014 na região de (105 – 35 ppm) x (5.4 – 1.8 ppm)

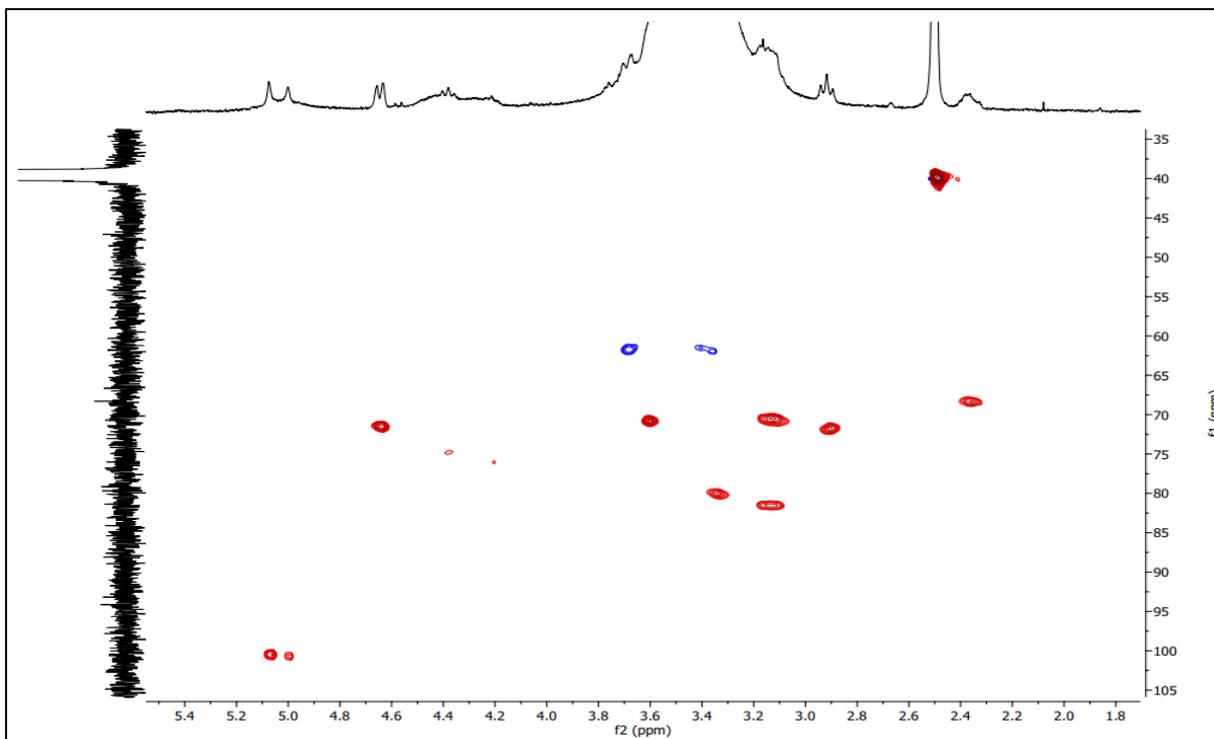
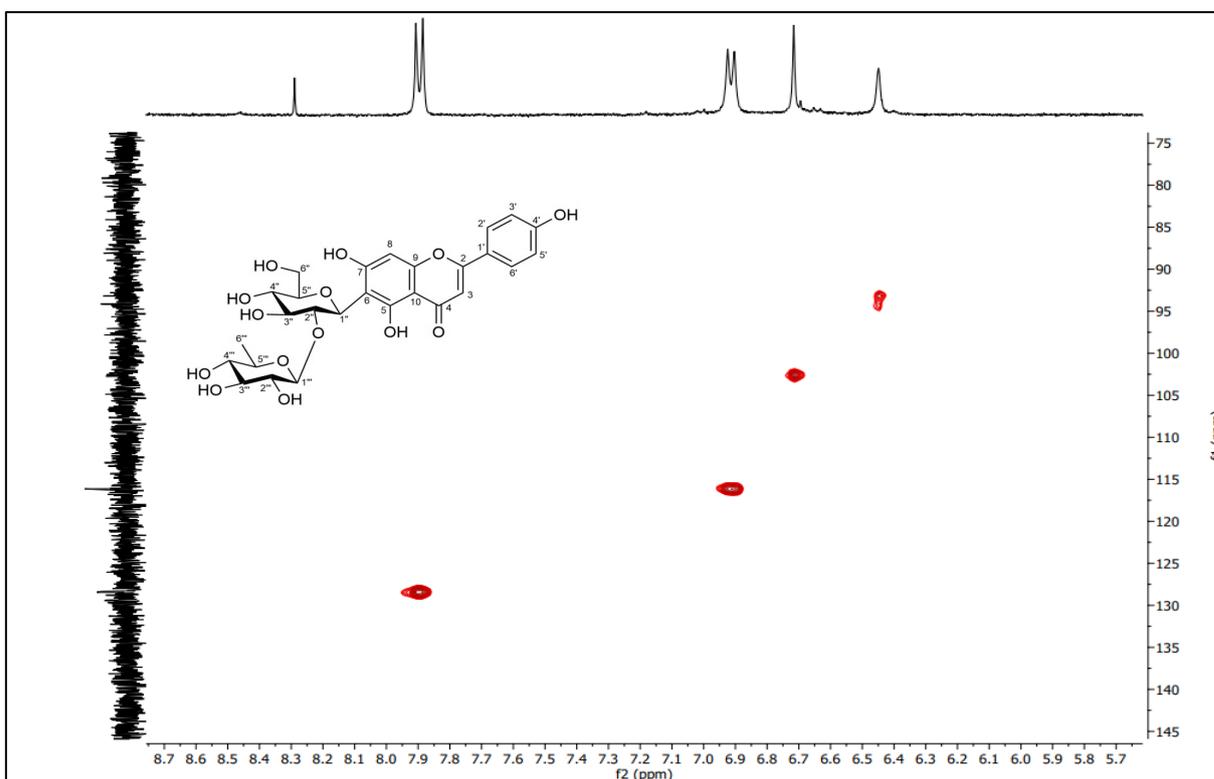


Figura 55 – Expansão do mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (400 e 100 MHz, DMSO-d_6) de BsAM-1014 na região de (145 – 75 ppm) x (8.7 – 5.7 ppm)



5.1.5 Determinação estrutural de BsCI-04

A substância codificada como BsCI-04 foi isolada na forma de cristais brancos, solúveis em clorofórmio, pesando 62,7 mg. O espectro de RMN de ^{13}C - técnica APT (125 MHz, CDCl_3) (Figuras 58-60, p. 89 e 90) apresentou aproximadamente 55 sinais, sendo a maioria registrada entre δ_{C} 15,4 e 79,3, atribuídos a carbonos metínicos, metilênicos e metílicos. O perfil apresentado nesse espectro sugeriu tratar-se de uma mistura de substâncias de natureza triterpênica e para confirmação dessa hipótese foram realizadas comparações com dados da literatura (Silva, 2020). Também foram observados os sinais em δ_{C} 124,4; 139,6; 59,1; 38,9 e 38,9 ppm atribuídos aos C-12, C-13, C-18, C-19 e C-20, respectivamente sugestivos de triterpenos da série ursano (α -amirina). Observou-se, ainda, sinais em δ_{C} 121,7; 145,2; 47,6; 47,2; 31,2 ppm atribuídos a C-12, C-13, C-18, C-19 e C-20, respectivamente, característicos de triterpenos da série oleanano (β -amirina). Além do mais, os deslocamentos químicos em δ_{C} 150,9 ppm e 109,3 ppm, nos espectros de RMN de ^{13}C , característicos de carbono olefínicos (C-20 e C-29) são indicativos de triterpenos da série dos lupanos (Tabela 10, p. 8).

Na análise realizada do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figuras 61-64, pág. 91 e 92) foi possível observar absorções de hidrogênios olefínicos em δ_{H} 5,13 (t, $J = 3,6$ Hz, 1H, H-12) e δ_{H} 5,18 (H-12), sugestivos para os hidrogênios da posição 12 da α -amirina e β -amirina, respectivamente. Observou-se um envelope de sinais entre δ_{H} 0,60-1,50 característicos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos o que reforçou a presença de um esqueleto triterpênico ou esteroidal (Figura 62, pág 91) (Souza, 2013). Nesta região foram observados sinais condizentes com grupamentos metilas em δ_{H} 0,87; 0,88; 1,26; 1,36; 1,01; 0,79; 0,95; 0,80, relacionados com H-30 β , H-29 α , H-28 (α , β e lupeol), H-27 (α e β), H-26 α , H-25 (α e β), H-24 β e H-23 β (Silva *et al.*, 2020). Ainda, destacaram-se os sinais em δ_{H} 4,68 s e 4,56 s referentes aos 2 hidrogênios da ligação dupla terminal (H-29), sinal característico para o lupeol (Silva *et al.*, 2017).

A presença de um multipeto em δ_{H} 3,21, juntamente com os sinais em δ_{C} (C-3), δ_{C} 55,3 (C-5), δ_{C} 38,9 (C-1) e δ_{C} 28,4 (C-2), permitiram sugerir a presença de uma hidroxila equatorial em C-3 para as três estruturas da mistura (Silva, 2020; Silva *et al.*, 2017). Observou-se também um tripleto em δ_{H} 5,13 e δ_{H} 5,18 para H-12, bem como, os deslocamentos δ_{C} 124,6 e 121,9 (C-12 α / C-12 β) e δ_{C} 139,5 e 145,3 (C-13 α / C-

13 β) contribuindo para a proposta inicial, pois estes sinais são característicos da dupla ligação entre o carbono C-12 e C-13 de triterpenos da série oleanano e ursano. Por fim, os sinais δ_c 150,9 de C-20, em δ_c 109,7 de C-29 foram condizentes com carbonos olefínicos do lupeol que aparecem mais desprotegidos (Silva *et al.*, 2017).

Após analisar todos os dados (Tabela 10, p. 87) de RMN de ^1H e ^{13}C foi possível identificar BsCl-04 como sendo a mistura de α -amirina, β -amirina e lupeol (Figura 56, p. 86). Esses compostos já foram referidos na literatura para diversas espécies pertencentes a família Malpighiaceae (*Stigmaphyllon paralias*, *Tristellateia australasiae*, *Hiptage benghalensis*, *Byrsomina crassa*, entre outras), bem como, suas formas ácidas o ursólico e o oleanólico, isolados em *Banisteriopsis caapi* e *Banisteriopsis anisandra*. No entanto, estão sendo relatados pela primeira vez na espécie *Banisteriopsis stellaris* (Abbas *et al.*, 2022).

Figura 56 – Estruturas químicas da α -amirina (1), β -amirina (2) e lupeol (3)

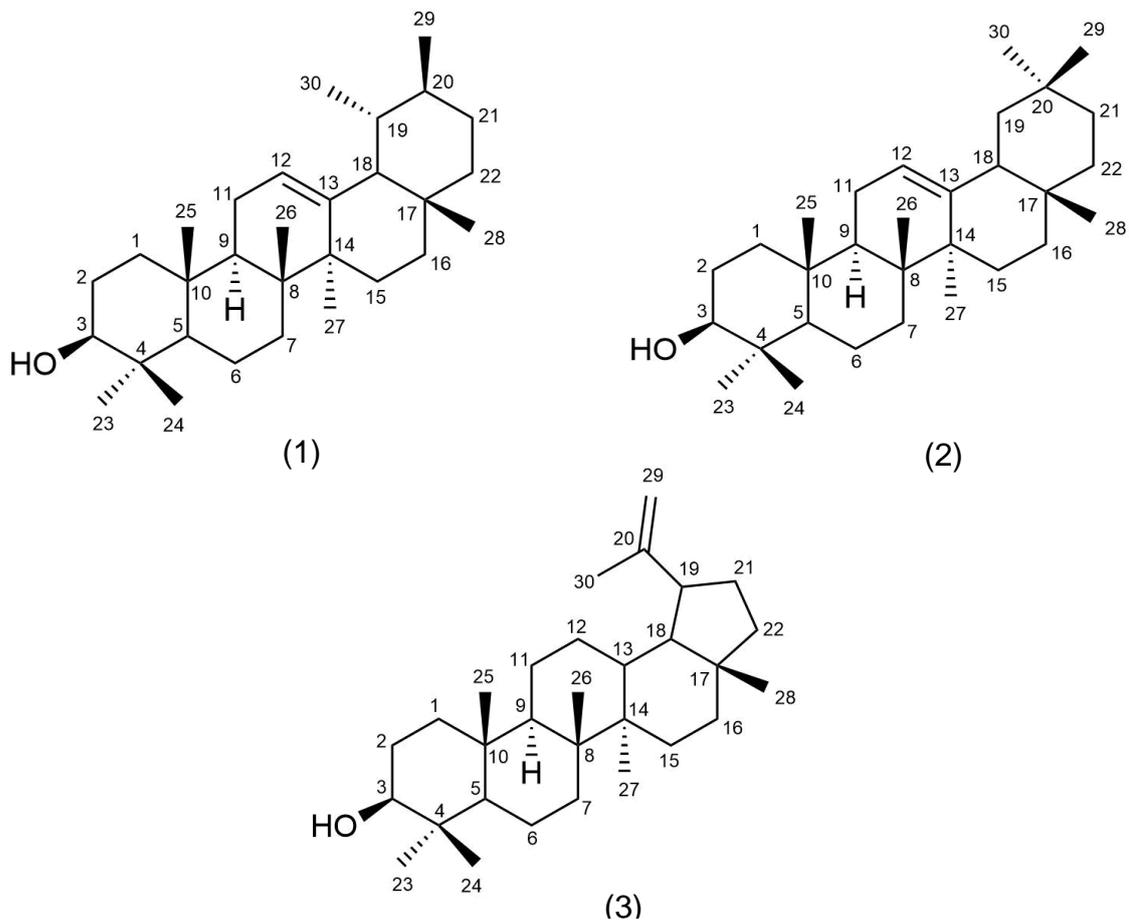
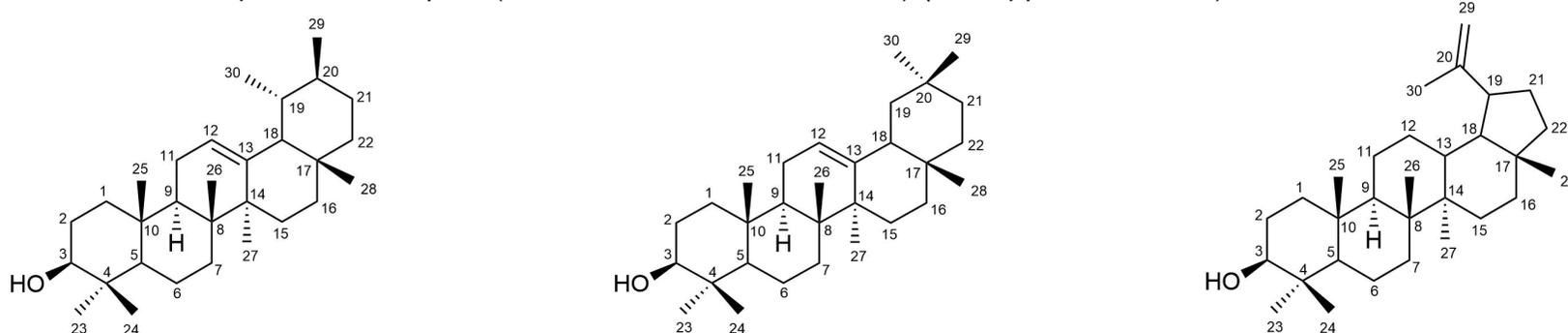


Tabela 10 - Comparação dos dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância BsCI-04 em CDCl_3 com valores da literatura para mistura de α , β -amirina e lupeol (Silva, 2020; Silva *et al.*, 2017) (δ em ppm e J em Hz)



BsCI-04 (α -amirina)			Silva, 2020		BsCI-04 (β -amirina)		Silva, 2020		BsCI-04 (Lupeol)		Silva et al., 2017	
Posição	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H
1	38,9	-	38,9	-	38,9	-	38,9	-	38,6	-	38,1	-
2	28,4	-	28,3	-	27,4	-	27,4	-	27,4	-	27,4	-
3	79,0	3,21 (m)	79,3	3,24 (dd, $J = 5,2$ e $10,8$ Hz)	79,0	3,21 (m)	79,3	3,24 (dd, $J = 5,2$ e $10,8$ Hz)	79,0	3,21 (m)	79,0	3,21 (dd, $J = 2,0$ e $6,0$ Hz)
4	38,7	-	38,7	-	38,7	-	38,7	-	38,7	-	38,7	-
5	55,3	-	55,3	-	55,3	-	55,3	-	55,3	-	55,3	-
6	18,4	-	18,5	-	18,4	-	18,5	-	18,4	-	18,3	-
7	32,0	-	32,1	-	32,6	-	32,7	-	34,3	-	34,3	-
8	39,9	-	39,8	-	39,9	-	39,8	-	40,8	-	40,8	-
9	47,7	-	47,8	-	47,7	-	47,8	-	50,4	-	50,4	-
10	37,1	-	37,1	-	37,1	-	37,1	-	37,2	-	37,2	-
11	23,5	-	23,5	-	23,5	-	23,5	-	20,9	-	20,9	-

Tabela 10. Continuação - Comparação dos dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância BsCI-04 em CDCl_3 com valores da literatura para mistura de α , β -amirina e lupeol (Silva, 2020; Silva *et al.*, 2017) (δ em ppm e J em Hz)

BsCI-04 (α -amirina)			Silva, 2020		BsCI-04 (β -amirina)		Silva, 2020		BsCI-04 (Lupeol)		Silva et al., 2017	
Posição	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H
12	124,4	5,13 (t, J = 4,0 Hz)	124,6	5,13 (t, J = 3,2 Hz)	121,7	5,18 (t, J = 3,5 Hz)	121,9	5,18 (t, J = 3,2 Hz)	25,1	-	25,1	-
13	139,6	-	139,0	-	145,2	-	145,3	-	38,8	-	38,8	-
14	41,5	-	41,7	-	41,5	-	41,7	-	42,8	-	42,8	-
15	27,2	-	27,1	-	26,6	-	26,4	-	27,4	-	27,4	-
16	26,9	-	26,8	-	26,9	-	26,8	-	35,6	-	35,6	-
17	34,2	-	33,5	-	32,8	-	32,8	-	43,0	-	43,0	-
18	59,1	-	59,2	-	47,6	-	47,3	-	48,3	-	48,3	-
19	38,9	-	38,9	-	47,2	-	47,0	-	48,0	2,38 (m)	48,0	2,38 (dt)
20	38,9	-	38,9	-	31,2	-	31,4	-	150,9	-	150,9	-
21	31,3	-	31,4	-	34,7	-	34,9	-	29,8	-	29,8	-
22	37,2	-	37,3	-	37,2	-	37,3	-	40,0	-	40,0	-
23	28,4	0,94 (s, 3H)	28,6	0,94 (s)	28,7	0,80 (s, 3H)	28,6	0,80 (s)	28,0	0,97 (s, 3H)	28,0	0,97 (s)
24	16,0	0,91 (s, 3H)	15,9	0,91 (s)	16,0	0,95 (s, 3H)	15,9	0,95 (s)	15,4	0,76 (s, 3H)	15,3	0,76 (s)
25	15,4	0,79 (s, 3H)	15,4	0,79 (s)	15,5	0,79 (s, 3H)	15,4	0,79 (s)	16,1	0,83 (s, 3H)	16,1	0,83 (s)
26	17,5	1,01 (s, 3H)	17,1	1,01 (s)	17,5	1,02 (s, 3H)	17,1	1,01 (s)	16,0	1,03 (s, 3H)	16,0	1,03 (s)
27	23,7	1,36 (s, 3H)	23,4	1,32 (s)	26,1	1,36 (s, 3H)	26,2	1,32 (s)	14,5	0,95 (s, 3H)	14,5	0,95 (s)
28	28,4	1,26 (s, 3H)	28,3	1,26 (s)	28,7	1,26 (s, 3H)	28,9	1,26 (s)	18,0	0,79 (s, 3H)	18,0	0,79 (s)
29	17,5	0,88 (sl, 3H)	17,7	0,88 (d, J=3,2 Hz)	33,3	0,94 (s, 3H)	33,9	0,94 (s)	109,3	4,56 (s, 1H) 4,68 (s, 1H)	109,3	4,57 (s) 4,68 (s)
30	21,4	-	21,6	-	23,7	0,87 (s, 3H)	23,9	0,87 (s)	19,3	1,68 (s, 3H)	19,3	1,68 (s)

Figura 57 – Espectro de RMN de ^{13}C APT (125 MHz, CDCl_3) de BsCI-04

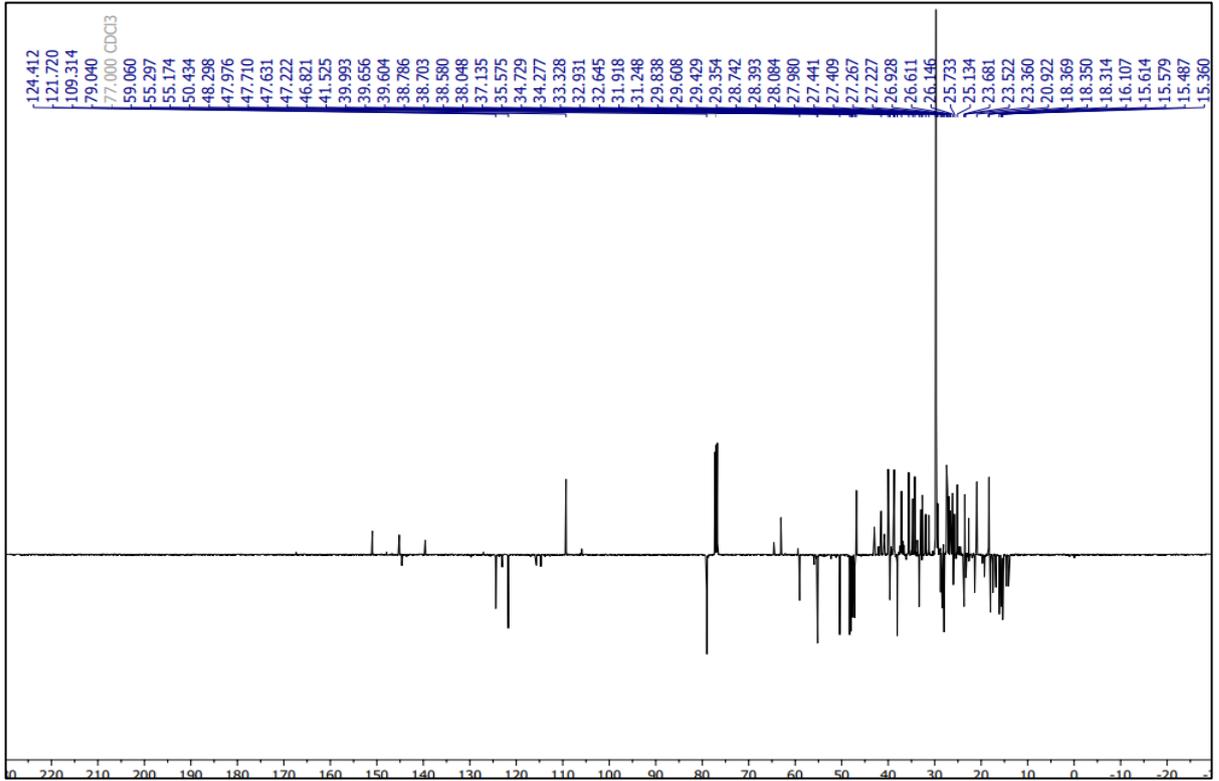


Figura 58 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C APT (125 MHz, CDCl_3) de BsCI-04 na região de 14 – 37 ppm

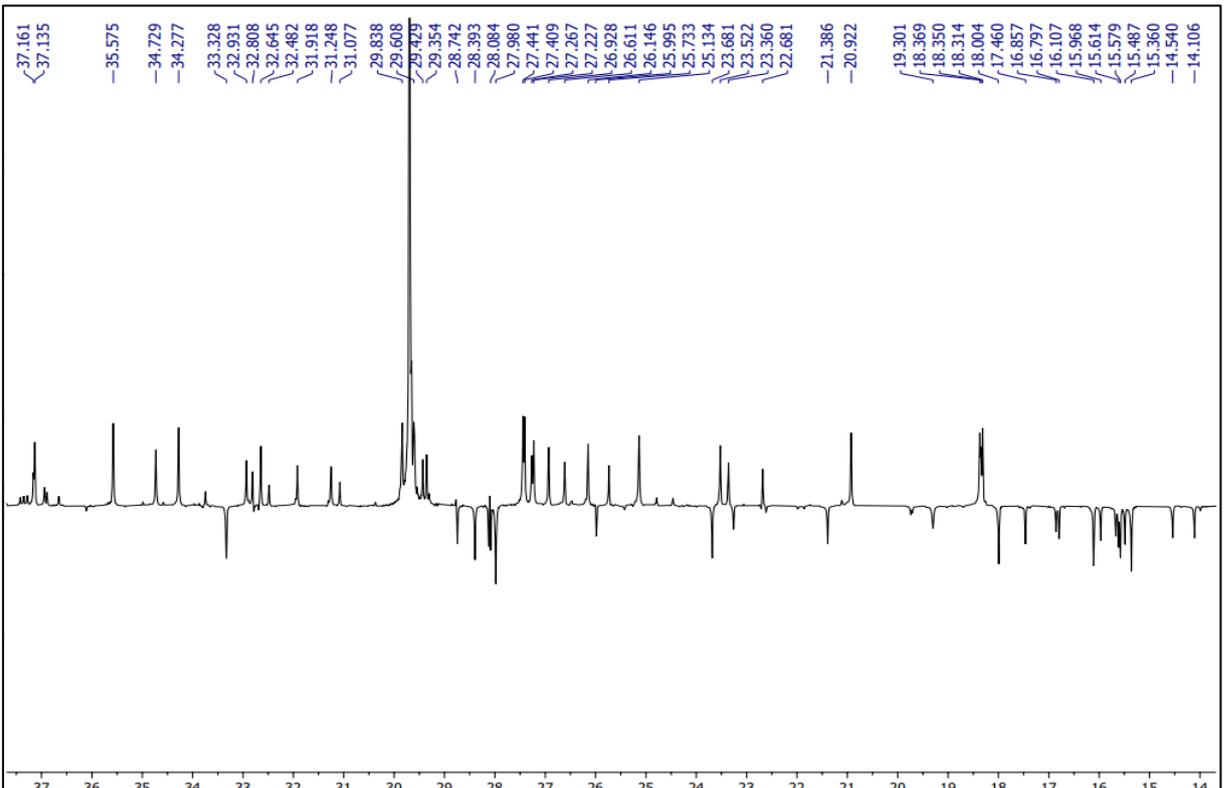


Figura 59 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C APT (125 MHz, CDCl_3) de BsCl-04 na região de 38 – 57 ppm

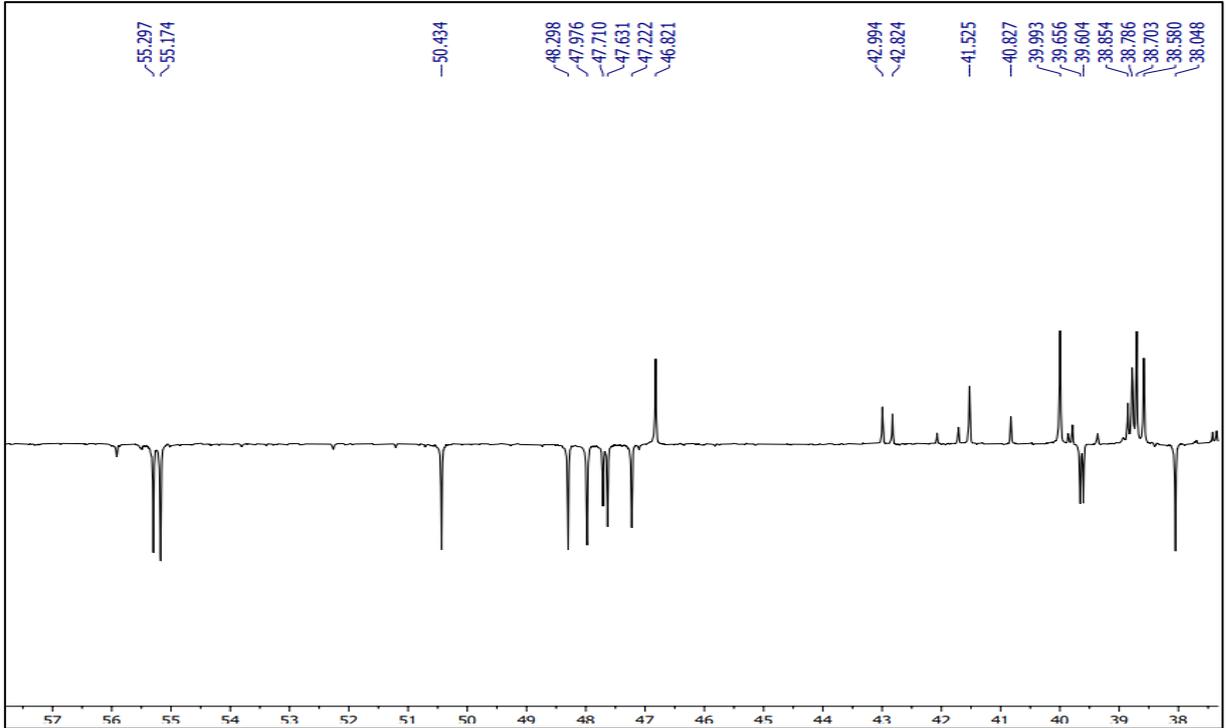


Figura 60 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C APT (125 MHz, CDCl_3) de BsCl-04 na região de 107 – 129 ppm

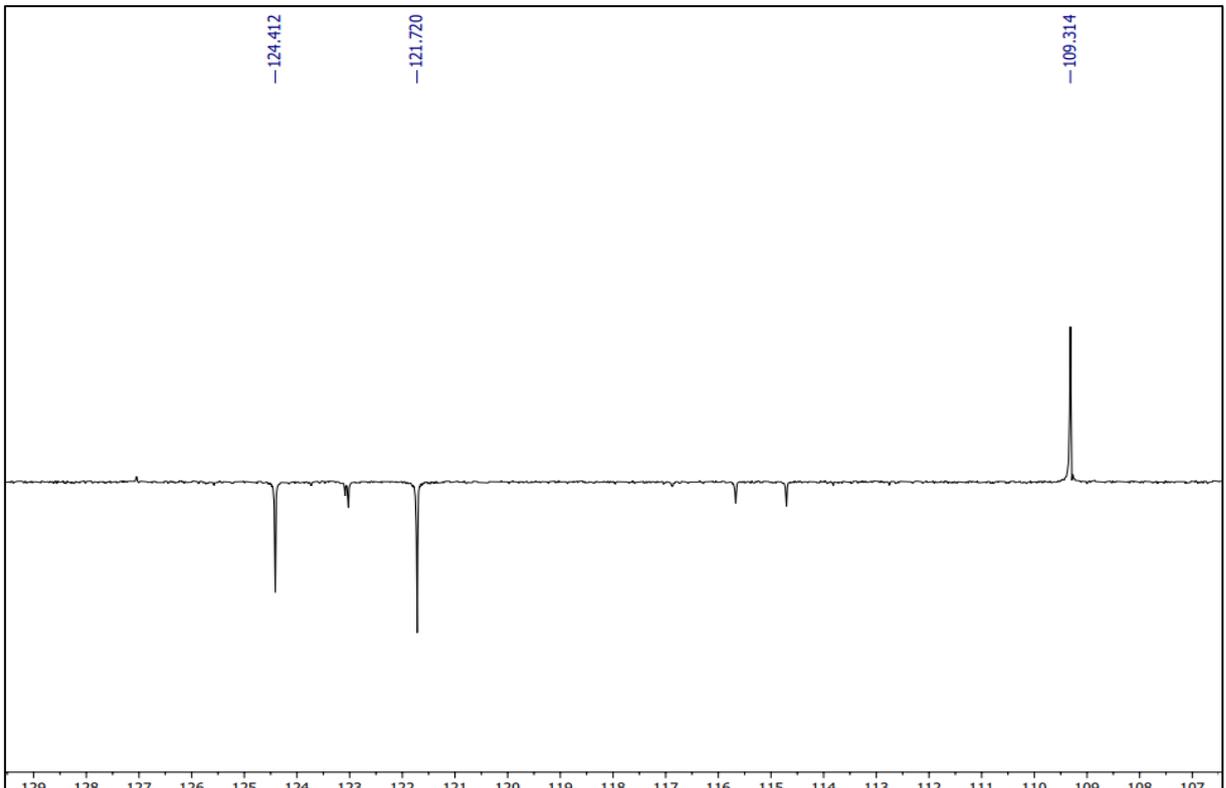


Figura 61 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de BsCI-04

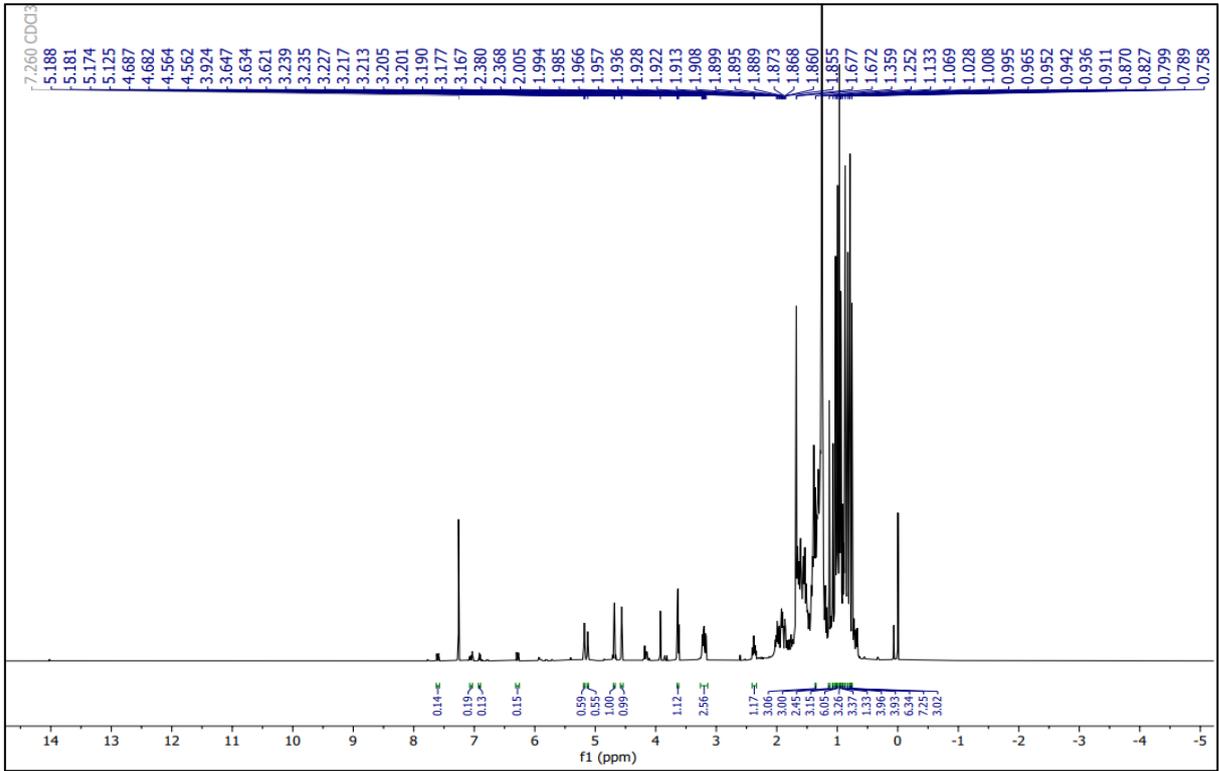


Figura 62 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de BsCI-04 na região de 0.60 – 1.50 ppm

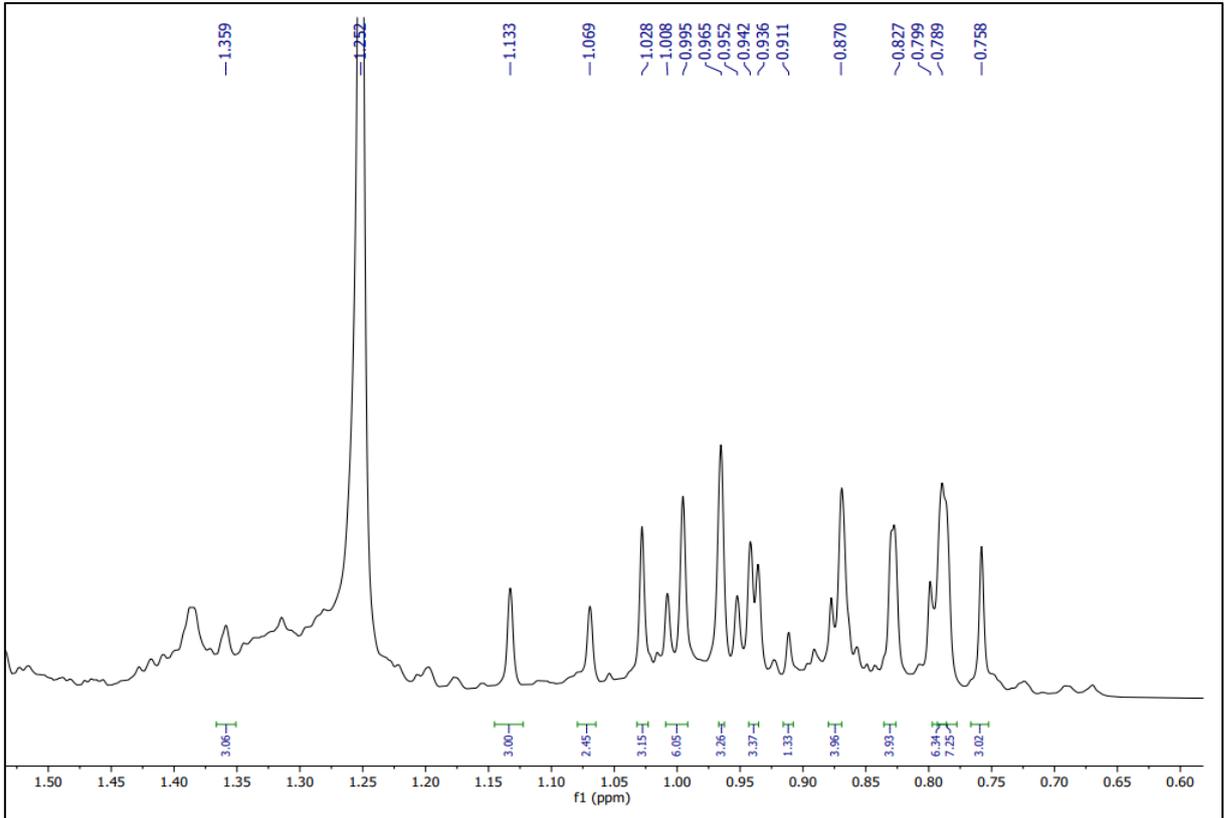


Figura 63 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de BsCI-04 na região de 1.55 – 2.40 ppm

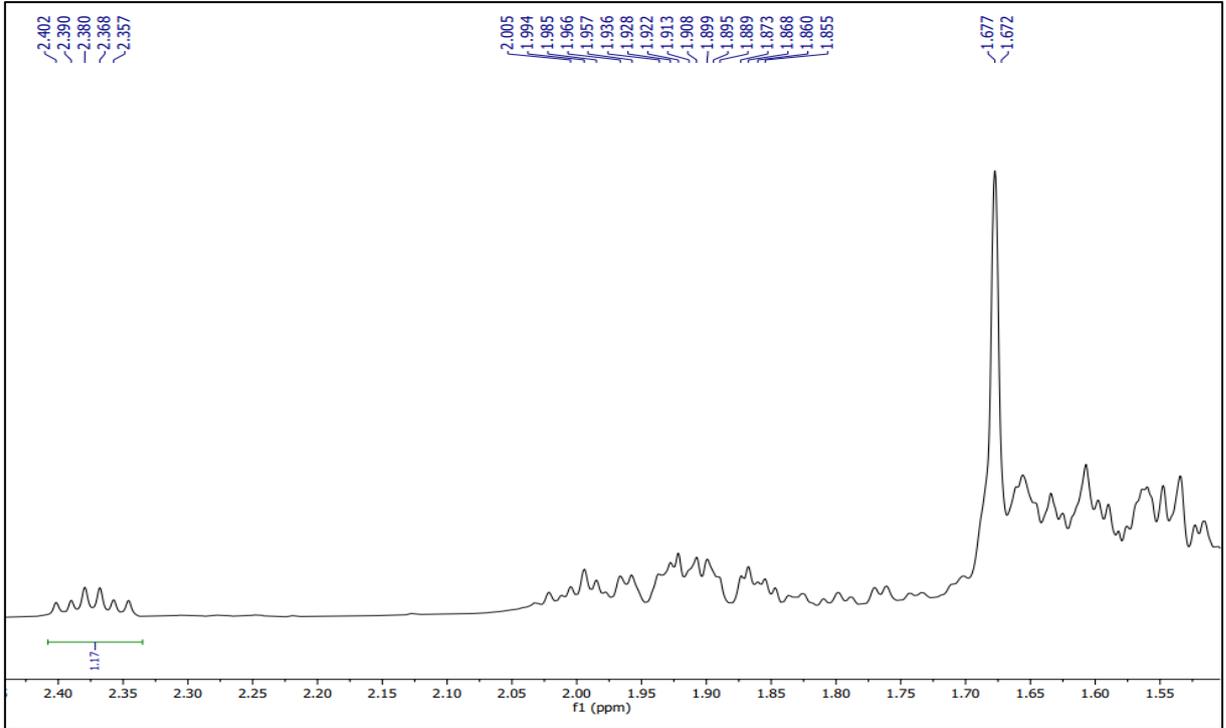
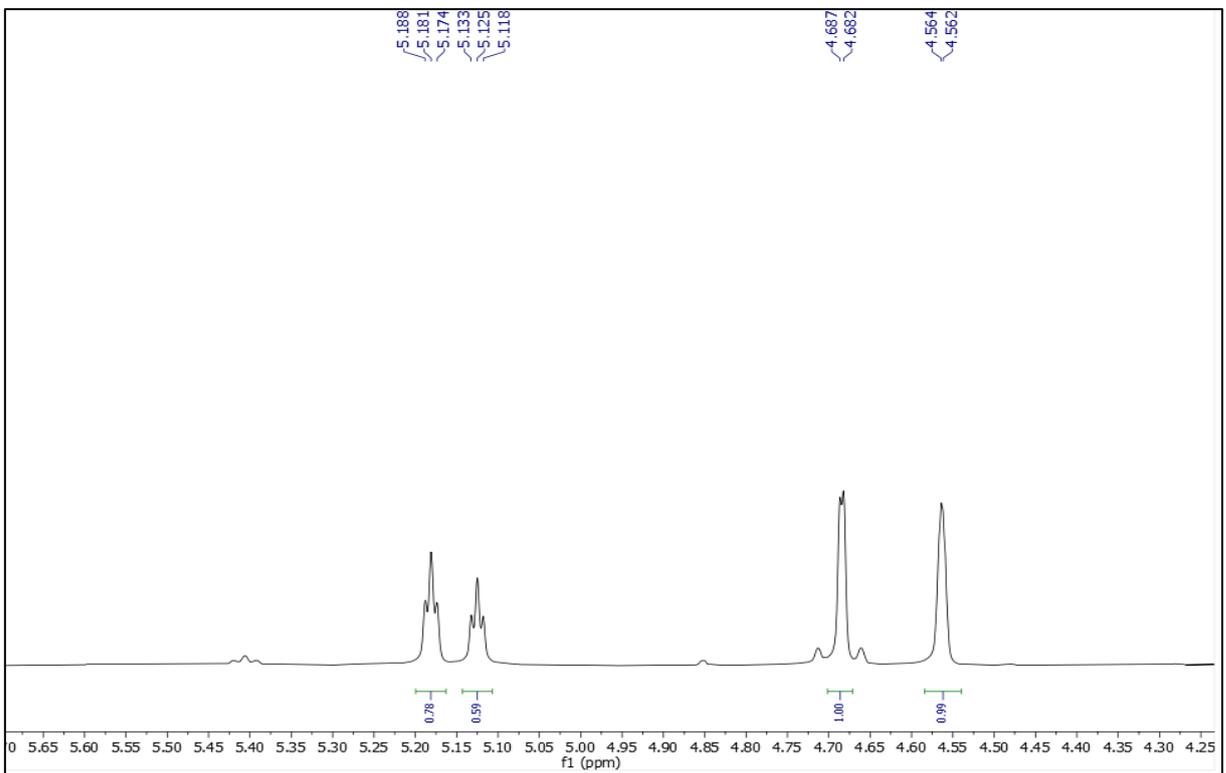


Figura 64 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de BsCI-04 na região de 4.25 – 5.65 ppm



5.2 Atividades biológicas do EEB de *B. stellaris*

5.2.1 Toxicidade aguda

Nos 30 primeiros minutos, os animais tratados com o EEB-Bs na dose de 2000 e 5000 mg kg⁻¹/ip demonstraram características estimulantes com aumento da ambulação e movimento de autolimpeza. Já o grupo 2000 e 5000 mg kg⁻¹/v.o não apresentou alterações assim como o grupo controle. Não houve mortes em nenhum dos tratamentos ao longo dos 14 dias de observação. Na tabela 11 (p. 94), foi evidenciado que o tratamento com EEB-Bs por via intraperitoneal promoveu uma redução de ganho de peso e consumo de água e ração.

Esses dados se apresentam de forma semelhante no estudo de Akindele e colaboradores (2014), no qual o teste de toxicidade aguda foi realizado com o extrato da espécie *Flabellaria paniculata* pertencente à família Malpighiaceae. O tratamento de dose oral única com 5000 mg kg⁻¹ de peso corporal não resultou em óbitos e as manifestações comportamentais incluíram agitação/inquietação, dispneia, tremor generalizado e recusa de alimento e água, sendo estes sinais não observados no tratamento com *B. stellaris* por via oral, com exceção da agitação. Quanto a dose por via intraperitoneal as manifestações comportamentais incluíram inquietação e contorções nos primeiros 15 minutos, seguidas de calma e anorexia dentro de 48 horas pós-tratamento, corroborando para o resultado da redução do peso e do consumo de água e alimento pelas dosagens por via intraperitoneal de *B. stellaris*.

A ingestão de água e nutrientes é um aspecto vital na avaliação da segurança de um produto com finalidades terapêuticas. Esses elementos desempenham um papel fundamental no funcionamento adequado do sistema fisiológico dos animais, sendo essenciais para garantir uma resposta adequada à substância testada, visto que, condições nutricionais inadequadas podem levar a deficiências no organismo (Mylecraine; Stevens, 1994).

Em estudos de toxicidade aguda realizado por Gianfratti e colaboradores (2022) com chá de ayahuasca constituído pelas espécies *Banisteriopsis caapi* (Malpighiaceae) e *Psychotria viridis* (Rubiaceae) a administração oral de 5000 mg kg⁻¹ via oral não provocou sinais graves de toxicidade e nem causou mortes. Porém, através da via intraperitoneal o extrato aquoso provocou sintomas da síndrome serotoninérgica (ansiedade, agitação e inquietação, taquicardia, sudorese, calafrios) que levou a morte de todos os roedores dentro de 24h.

Nesse contexto, os resultados dos estudos de toxicidade aguda oral e intraperitoneal mostraram que os valores de DL₅₀ do EEB de *B. stellaris* (EEB-Bs) são maiores que 5000 mg kg⁻¹. O teste limite (valor máximo de dose administrada) geralmente é utilizado quando o material analisado apresenta baixa toxicidade (OECD, 2002), considerando que diversas pesquisas têm demonstrado que extratos com valores de DL₅₀ oral aguda superior a 3000-5000 mg kg⁻¹ podem ser considerados relativamente seguros (Akindele *et al.*, 2014).

Tabela 11 - Avaliação do consumo de alimentos e água e ganho de peso dos grupos controle e tratado com EEB de *B. stellaris* por 14 dias

Parâmetros	Oral			Intraperitoneal		
	Controle	EEB-Bs (mg kg ⁻¹)		Controle	EEB-Bs (mg kg ⁻¹)	
		2000	5000		2000	5000
Água consumida (mL)	34.44±0.28	34.01±0.39	34.62±0.33	35.10±0.34	24.17±0.35*	22.04±0.27*
Comida consumida (g)	13.12±0.31	13.55±0.42	13.25±0.27	14.37±0.21	10.87±0.22*	11.16±0.31*
Ganho de peso (g)	5.84± 0.33	5.47±0.28	5.58±0.23	5.75±0.32	4.28±0.32*	4.05±0.26*

*Significativamente diferente ($p < 0,05$) do controle. A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Bonferroni.

A análise dos parâmetros sanguíneos é de suma importância para avaliar os riscos de determinadas substâncias quando administradas em seres humanos. O sistema hematológico é particularmente valioso para detectar os primeiros sinais de toxicidade, uma vez que o sistema hematopoiético é altamente suscetível a substâncias tóxicas. Essa análise proporciona uma compreensão significativa do estado de saúde física e patológica tanto em humanos quanto em animais (Li *et al.*, 2010; Olson *et al.*, 2000).

Na avaliação dos parâmetros hematológicos (Tabela 12, p. 96) por via oral nas duas doses testadas, não houve alterações significativas entre os grupos controles e os tratados com EEB-Bs. No entanto, os tratamentos via intraperitoneal promoveram redução dos parâmetros da série vermelha, exceto no total de eritrócitos. Já na série branca houve um aumento significativo de leucócitos e segmentados, seguido de uma

redução de linfócitos e monócitos nos tratamentos intraperitoneal com 2000 e 5000 mg kg⁻¹ de EEB-Bs.

Considerando o estudo de Li YH e colaboradores (2016) realizado com o extrato aquoso da espécie *Aspidopterys obcordata* (Malpighiaceae) no teste de toxicidade aguda com a dose de 5000 mg kg⁻¹ via oral, observou-se o aumento do número de plaquetas comparada ao grupo controle, entretanto, permaneceu dentro da normalidade. Quanto aos outros parâmetros hematológicos não foram observadas alterações significativas, assim como, os dados obtidos para *B. stellaris* na dose máxima (5000 mg kg⁻¹) administrada via oral.

O leucograma fornece informações sobre os tipos celulares nucleados que normalmente circulam na corrente sanguínea, tais como linfócitos, monócitos e granulócitos (principalmente neutrófilos maduros, basófilos e eosinófilos). Os linfócitos são considerados como a principal célula branca dos camundongos e sua redução pode ocorrer devido às atividades dos hormônios adrenocorticais em condições de estresse (Thrall, 2009).

O eritograma permite a avaliação da série vermelha em especial os eritrócitos, cuja função é transportar oxigênio do pulmão para os tecidos, sendo essa função exercida principalmente pelo conteúdo hemoglobínico. A insuficiência funcional dos eritrócitos, conhecida como anemia, é definida como uma diminuição na hemoglobina sanguínea. Geralmente, essa condição está associada, mas não necessariamente de maneira paralela, a uma redução no número de eritrócitos (Failace, 2009). A análise hematológica é crucial para entender o estado de saúde dos animais e tem uma alta correlação com a capacidade de prever a toxicidade em humanos. Ou seja, alterações no sistema hematológico de animais devido a substâncias específicas geralmente são refletidas em humanos (Olson *et al.*, 2000).

Assim, a ausência de alterações morfológicas nas células sanguíneas e na contagem das mesmas, demonstra que o EEB-Bs via oral não causa quaisquer efeitos tóxicos sobre a medula óssea e homeostase do sistema circulatório. Entretanto, a via intraperitoneal demonstrou-se tóxica devido às alterações observadas em relativamente todos os parâmetros observados, dado que a administração intraperitoneal envolve a injeção direta do composto na cavidade peritoneal. Essa abordagem possibilita uma absorção diferente para a circulação do que a via oral, devido à extensa superfície absorvente da cavidade peritoneal e, mesmo não evitando o efeito de primeira passagem no fígado, a dose biodisponível por esta via é maior e

consequentemente torna-se mais proeminente os efeitos obtidos nas doses utilizadas observados a partir dos resultados obtidos (Simões, 2013).

Tabela 12 - Parâmetros hematológicos do sangue de camundongos tratados com extrato de *B. stellaris* por 14 dias

Parâmetros	Oral			Intraperitoneal		
	Controle	EEB-Bs (mg kg ⁻¹)		Controle	EEB-Bs (mg kg ⁻¹)	
		2000	5000		2000	5000
Eritrócitos (10⁶/mm³)	6.41±0.45	6.12±0.51	6.32±0.28	6.57±0.69	6.62±0.51	6.21±0.84
Hematócrito (%)	44.09±4.14	46.19±3.70	47.17±4.11	46.58±3.10	39.68±2.74*	36.96±2.55*
Hemoglobina (%)	16.13±0.31	16.53±0.42	16.22±0.23	17.25±0.56	15.62±0.33*	15.37±0.41*
VCM (%)	45.02±3.18	47.10±3.35	46.12±3.62	47.67±3.62	38.58±2.12*	37.06±2.19*
HCM (%)	16.87±0.30	16.50±0.29	17.01±0.38	17.45±0.55	15.17±0.40*	15.22±0.36*
CHCM (%)	36.16±2.38	37.48±3.56	38.25±2.76	37.79±3.38	30.19±0.26*	28.90±0.41*
Leucócitos (10³/mm³)	7.15±0.84	7.57±0.74	7.43±0.90	7.53±0.82	9.58±0.81*	10.02±0.96*
Segmentados (%)	51.78±3.42	52.18±3.50	53.44±2.07	52.78±0.49	67.19±0.35*	65.88±0.56*
Linfócitos (%)	36.04±2.33	35.89±2.25	34.95±2.75	35.44±2.22	25.50±0.57*	27.57±0.69*
Monócitos (%)	12.15±0.82	11.87±0.74	11.60±0.49	11.78±0.72	7.31±0.44*	6.55±0.32*

Legenda: VCM – volume corpuscular médio; HCM – hemoglobina corpuscular média; CHCM – concentração média de hemoglobina corpuscular.

*Significativamente diferente ($p < 0,05$) do controle. A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Bonferroni.

Na avaliação bioquímica, apenas a concentração de 5000 mg kg⁻¹ promoveu um aumento significativo de Alanina aminotransferase – ALT e de creatinina (Tabela 13, p. 97). As análises bioquímicas realizadas no soro sanguíneo dos animais desempenham um papel valioso no diagnóstico clínico de doenças e têm grande importância no mapeamento de efeitos tóxicos, indicando até mesmo o órgão e/ou sistema afetado.

A creatinina sérica é um marcador bioquímico eficaz que, em conjunto com outras moléculas como albumina, ureia, potássio e fósforo, pode indicar lesões em órgãos ou sistemas específicos, bem como o grau de agressão. A albumina e a creatinina podem fornecer informações sobre o estado energético proteico, inflamação e diagnóstico de desnutrição. Alterações nos níveis de ureia e creatinina geralmente

estão associadas à condição clínica de incapacidade dos rins em eliminar substâncias do corpo, como na insuficiência renal aguda ou crônica (Gomes, 2017). A Alanina aminotransferase (ALT) é localizada principalmente no citoplasma do hepatócito, sendo assim, pode ser considerada um marcador específico de dano hepático (Aquino *et al.*, 2014).

Quanto as pequenas modificações na concentração de creatinina, bem como a ausência de alterações nos níveis de ureia pode-se sugerir que o EEB-Bs pela via intraperitoneal produz alterações primárias nas condições renais. Assim, elevações nas atividades séricas enzimáticas podem acontecer por alterações reversíveis ou irreversíveis na permeabilidade celular, indução de enzimas microsossomais ou lesões estruturais (Lemos, 2016).

Tabela 13 - Parâmetros bioquímicos do sangue de camundongos tratados com extrato de *B. stellaris* por 14 dias

Parâmetros	Oral			Intraperitoneal		
	Controle	EEB-Bs (mg kg ⁻¹)		Controle	EEB-Bs (mg kg ⁻¹)	
		2000	5000		2000	5000
PT (g/dL)	62.43±5.09	66.92±4.84	64.31±5.12	64.18±4.26	66.78±5.29	67.85±3.35
ALB (g/dL)	7.19±0.49	7.65±0.53	6.91±0.44	6.58±0.71	7.10±0.82	6.26±0.79
ALT (U/L)	65.55±3.52	68.33±4.10	65.08±3.67	67.33±5.28	69.25±4.10	88.87±2.45*
AST (U/L)	74.27±4.48	76.85±5.32	73.94±4.95	72.57±5.13	72.45±6.23	75.66±4.28
UR (mg/ dL)	28.43±0.77	29.04±0.95	28.10±1.09	30.09±2.32	32.43±2.34	32.03±3.10
CREAT (mg/ dL)	0.69±0.09	0.74±0.08	0.71±0.10	0.68±0.11	0.70±0.12	0.85±0.08*
CT (mg/dL)	127.38±10.02	136.45±11.56	133.55±9.41	117.64±9.45	115.84±8.92	113.26±8.14
TG (mg/dL)	86.94±5.29	88.25±6.65	90.07±4.88	91.25±6.78	90.31±6.77	92.34±5.44

Legenda: PT – proteína total; ALB - albumina; ALT- alanina aminotransferase; AST – aspartato transaminase; UR – ureia; CREAT – creatinina; CT – colesterol total; TG - triglicerídeos
*Significativamente diferente ($p < 0,05$) do controle. A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Bonferroni.

Na avaliação do peso relativo dos órgãos os valores representam a média \pm SEM ($n=3$ /grupo). Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) em comparação com o controle (Tabela 14, p. 98). Esse dado corrobora com os estudos de Li YH (2016) e Barichello (2024) com espécies da família Malpighiaceae, em que, na análise macroscópicas demonstrou a ausência de modificações morfológicas, na aparência ou coloração dos órgãos, bem como, do peso relativo.

Tabela 14 - Avaliação do peso relativo dos órgãos (g/10 g de peso corporal do animal) de camundongos tratados com EEB de *B. stellaris* por 14 dias

Órgãos (g/10 g)	Oral			Intraperitoneal		
	Controle	EEB-Bs (mg kg ⁻¹)		Controle	EEB-Bs (mg kg ⁻¹)	
		2000	5000		2000	5000
Fígado	2.29±0.13	2.35±0.14	2.31±0.11	2.18±0.16	2.25±0.11	2.20±0.16
Baço	0.32±0.03	0.30±0.02	0.34±0.03	0.28±0.02	0.26±0.03	0.29±0.02
Rim	0.36±0.05	0.34±0.03	0.32±0.04	0.33±0.04	0.31±0.03	0.30±0.03
Pulmão	0.22±0.02	0.23±0.03	0.24±0.04	0.26±0.04	0.22±0.04	0.27±0.03
Coração	0.17±0.02	0.20±0.02	0.19±0.02	0.20±0.02	0.22±0.03	0.22±0.04

O extrato etanólico de *B. stellaris* pode ser considerado seguro, ou de baixa toxicidade, quando administrado oralmente. A falta de sinais de toxicidade aguda apoia o uso de *Banisteriopsis stellaris* por via oral e incentiva estudos adicionais para o desenvolvimento de EEB-Bs como um agente terapêutico.

5.2.2 Genotoxicidade (Teste de Micronúcleo em sangue periférico)

Diante das várias vias de ação que os compostos podem ter nos organismos, torna-se imperativo a realização de diferentes testes para avaliar um composto. Essa abordagem não apenas aumenta a segurança, mas também assegura a eficácia na avaliação do composto em questão. Os agentes que danificam o DNA, causando lesões permanentes, são considerados genotóxicos. Nesse sentido, a genotoxicidade refere-se à capacidade que algumas substâncias têm de induzir alterações celulares que podem influenciar no funcionamento da maquinaria genética dos organismos expostos. Essas substâncias podem não agir diretamente na fita de DNA, mas causar danos em estruturas relacionadas ao núcleo, como as fibras do fuso, enzimas e proteínas envolvidas na manutenção da integridade do genoma (Kirsch-Volders *et al.*, 2003; Mateuca *et al.*, 2006). Para avaliar a genotoxicidade são utilizados testes que examinam danos ao material nuclear, como quebras cromossômicas e micronúcleos.

Assim, tendo como base os testes de toxicidade, a administração do EEB-Bs pela via intraperitoneal apresentou alterações significativas nos parâmetros fisiológicos,

bioquímicos e hematológicos. Dessa forma, os testes farmacológicos de genotoxicidade foram conduzidos pela via oral. Através da análise dos resultados obtidos, nota-se que o EEB-Bs não possui efeito genotóxico, visto que, os valores de determinação do número de eritrócitos policromáticos micronucleados da medula óssea para EEB-Bs foram compatíveis com o controle negativo (Tabela 15, p. 100).

Costa e colaboradores (2023) avaliaram os efeitos citotóxicos e genotóxico de extratos metanólicos de *Banisteriopsis malifolia* e *Banisteriopsis variabilis* na germinação de sementes de cebola (*Allium cepa* L.). Para ambos os extratos testados as mudas tratadas apresentaram raízes danificadas com cor escura, diferente do controle que apresentaram raiz com desenvolvimento normal e coloração. Também foi observada a ocorrência de aberrações cromossômicas em sementes tratadas com concentrações mais altas dos extratos como: aumento de micronúcleos, c-metáfase, pegajosidade e apoptose. Estas alterações observadas mostram que o efeito alelopático pode estar envolvido na promoção de crescimento ou inibição dependendo da concentração e o tipo de constituinte químico que cada espécie apresenta. Assim, os dados sugerem atividade inibitória e genotóxica, como também, efeitos tóxicos proporcionais as doses testadas. Embora os resultados positivos obtidos nas raízes de *Allium cepa* sob a influência de extratos de metanol de *B. malifolia* e *B. variabilis* possam indicar riscos para a saúde humana, os efeitos citotóxicos nas pontas das raízes de *A. cepa* mostram o potencial apoptótico dos extratos vegetais, esta atividade traz um possível potencial anticâncer para as espécies estudadas.

No entanto, os extratos aquoso, etanólico e metanólico da espécie *Galphimia glauca* (Malpighiaceae) foram avaliados quanto aos seus efeitos comportamentais e toxicológicos por Aguilar-Santamaría e contribuintes (2007). O teste *in vitro* e *in vivo* (micronúcleos) para genotoxicidade foram realizados com as doses de 250, 100 e 50 g mL⁻¹ de cada extrato, em seguida o sangue periférico de cinco voluntários masculinos (27-34 anos) foram coletados e analisados. O teste de ANOVA mostrou que o grupo de controle negativo não diferiu dos outros grupos tratados, enquanto todos os tratamentos foram diferentes do controle positivo ($p < 0,05$). Esses resultados demonstram que os extratos avaliados de *Galphimia glauca*, nas concentrações testadas não apresentaram efeito genotóxico. Esse dado corrobora com o resultado obtido para *B. stellaris*, que possuem um risco baixo de toxicidade e genotoxicidade dentro de uma margem razoável de segurança terapêutica.

Tabela 15 - Avaliação da genotoxicidade *in vivo* do EEB de *B. stellaris* (administração oral) ou controle positivo da ciclofosfamida (CPA, i.p.) pela determinação do número de eritrócitos policromáticos micronucleados (MNPCE) da medula óssea de camundongos.

Tratamentos	Número de MNCPE por animal					Média MNCPE
	M1	M2	M3	M4	M5	
Controle	0	1	0	0	1	0.40 ± 0.04
2000 mg/kg (EEB-Bs)	0	1	1	1	0	0.60 ± 0.04
CPA 25 mg/kg	33	27	27	31	30	29.60 ± 2.60*

No controle negativo, os ratos receberam solução salina por via oral. () Significativamente diferente do controle ($p < 0,05$).

5.2.3 Anti-inflamatório

- **Edema de Pata**

O EEB-Bs apresentou atividade antiedematogênica significativa com 50, 100 e 200 mg kg⁻¹, na fase inicial (primeira hora) e fase tardia (quarta hora) da resposta inflamatória induzida por carragenina, sendo que a dose de 200 mg kg⁻¹ do extrato apresentou a resposta antiedematogênica significativamente superior ao fármaco padrão (controle positivo) nas quatro horas analisadas (Tabela 16, p. 101). Assim, os resultados dos testes de atividades anti-inflamatória mostraram que os efeitos do EEB-Bs podem apresentar um padrão semelhante ao efeito da dexametasona, um corticosteroide que se complexam nos receptores citoplasmáticos e atuam a nível nuclear estimulando a transcrição do mRNA e síntese de enzimas, atuando na inibição da acumulação de células inflamatórias. A redução de edema em ambas as fases da resposta inflamatória induzida por carragenina tanto pelo controle positivo quanto pelo EEB, sugere um mecanismo de ação semelhante entre as drogas.

Tabela 16 – Análise da redução no edema da pata traseira de camundongos induzido por carragenina e tratados com EEB-Bs

Tratamento	Período após administração					Redução após 4h (%)
	Dose (mg kg ⁻¹)	Volume (mL)				
		1h	2h	3h	4h	
Controle	-	0.329±0.05	0.407±0.03	0.435±0.05	0.468±0.05	
Dexametasona	10	0.209±0.03*	0.285±0.04*	0.210±0.05*	0.187±0.02*	60.04
EEB-Bs	50	0.276±0.04*	0.324±0.03*	0.303±0.05*	0.256±0.04*	45.29
	100	0.228±0.04*	0.286±0.04*	0.259±0.02*	0.214±0.03*	54.27
	200	0.147±0.03*	0.175±0.04*	0.154±0.05*	0.125±0.04*	73.29

*Significativamente diferente ($p < 0,05$) do tratamento controle. Os valores representam a média \pm SEM (n=6/grupo).

Em estudo semelhante, Guilhon-Simplicio (2012) e colaboradores realizaram o teste de resposta inflamatória induzida por carragenina com extrato de *Byrsonima japurensis* (Malpighiaceae) que apresentou atividade antiedematogênica significativa com 100, 200 e 400 mg kg⁻¹, na fase inicial e tardia da resposta inflamatória, mas a dose de 400 mg kg⁻¹ do extrato apresentou atividade maior do que no controle positivo (indometacina) na segunda fase da resposta inflamatória induzida por carragenina. O efeito anti-inflamatório da *B. japurensis* apresentou um padrão semelhante ao efeito da indometacina, um AINE não seletivo para COX-1 ou COX-2, que reduz o edema e dor em ambas as fases da resposta inflamatória induzida por carragenina. Logo, isso reforça os resultados obtidos com a resposta anti-inflamatória de *B. stellaris*, com redução do edema de forma significativa e em uma dosagem menor.

- **Peritonite**

A resposta inflamatória em uma peritonite induzida por carragenina culmina em exsudação e infiltração de leucócitos, que liberam mediadores químicos responsáveis pelos sinais cardinais da inflamação: edema, dor, calor, vermelhidão e perda de função. A exsudação de proteínas está mais diretamente relacionada ao edema do que a outros eventos, mas os mediadores químicos liberados pelos leucócitos e outras células recrutadas são responsáveis, por exemplo, pela hipersensibilização das fibras nervosas que causam inflamação ou hiperalgesia (Lima *et al.*, 2012).

Na Tabela 17 (p. 102), o tratamento com EEB-Bs nas doses 50, 100 e 200 mg kg⁻¹ apresentaram uma redução considerável na migração de leucócitos e neutrófilos para o local da inflamação quando comparado ao controle negativo. Na dose de 200 mg kg⁻¹ do extrato a exsudação peritoneal das células demonstrou uma inibição acima de 60% para leucócitos e neutrófilos, enquanto a dexametasona utilizada como controle positivo apresentou uma inibição menor que 60%. Essa análise prévia mostrou que a atividade do EEB-Bs reduziu a migração de leucócitos, sugerindo que o extrato pode controlar a inflamação aguda.

Tabela 17 – Análise da migração de leucócitos e neutrófilos na exsudação peritoneal em camundongos induzidos por carragenina tratados com EEB-Bs

Grupos e Tratamentos	Dose (mg kg ⁻¹)	Leucócitos (10 ⁵ /mL)	Inibição (%)	Neutrófilos (10 ⁵ /mL)	Inibição (%)
Controle	-	6.64±0.59		4.43±0.45	
Dexametasona	10	2.85±0.26*	57.07	1.94±0.16*	56.21
EEB	50	4.77±0.31*	28.16	3.10±0.34*	30.02
	100	3.63±0.35*	45.33	2.36±0.22*	46.72
	200	2.21±0.29*	66.71	1.43±0.18*	67.72

*Os valores representam média ± S.E.M. (n = 6). * Estatisticamente diferente do controle negativo (veículo). (ANOVA seguida de Bonferroni, $p < 0,05$).

O estudo realizado por Verdam *et al.* (2017) contribuiu significativamente para a compreensão da atividade anti-inflamatória da espécie *Byrsonima duckeana* (Malpighiaceae). No experimento, a indução de peritonite por carragenina foi realizada em três grupos de camundongos, sendo que dois desses grupos receberam, por via oral, doses de 500 e 1000 mg kg⁻¹ do extrato etanólico bruto (EEB) de *B. duckeana*. Os resultados mostraram que o número de leucócitos que migraram para o local da inflamação foi significativamente menor nos grupos que receberam o EEB em comparação com os controles negativos. A redução foi de 45,25 ± 9,84% na dose de 500 mg kg⁻¹ de EEB e de 51,95 ± 5,94% na dose de 1000 mg kg⁻¹, sem diferenças estatísticas entre essas duas doses. Esses achados indicam que o extrato teve a capacidade de reduzir a migração de leucócitos, sugerindo que ele pode controlar os sintomas associados à inflamação aguda.

Esses resultados são consistentes e condizem com a potencial atividade anti-inflamatória atribuída ao EEB de *Banisteriopsis stellaris*, o que destaca a relevância dessa espécie, como candidata para estudos futuros visando o desenvolvimento de medicamentos anti-inflamatórios. A compreensão dessas propriedades farmacológicas é fundamental para explorar o potencial terapêutico de plantas medicinais na busca por tratamentos mais naturais e eficazes.

6 CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico da espécie *Banisteriopsis stellaris* resultou no isolamento de quatro compostos e uma mistura de substâncias, que foram identificadas por meio de métodos espectroscópicos. A classe de compostos majoritários identificados da fração acetato de etila-metanol foram os flavonoides C-glicosilados (orientina, vitexina e isovitexina), além da isovitexina-2"-O- α -L-ramnopiranosídeo, um flavonoide C-glicosilado também, que apresentou-se como dois rotâmetros que diferem no arranjo espacial da subunidade dissacarídea. Os metabólitos apolares do EEB de *B. stellaris* apresentarem um rendimento menor, no entanto, visando explorar os diversos constituintes da espécie, foram obtidos três compostos em mistura da fração clorofórmica, sendo identificados como os triterpenos α -amirina, β -amirina e lupeol. Embora as substâncias identificadas possam já estar descritas na literatura em contextos relacionados a outras plantas, a análise fitoquímica específica de *Banisteriopsis stellaris* é uma contribuição significativa para a compreensão da composição química sendo a primeira descrição para a espécie.

Os testes toxicológicos realizados com o EEB-Bs demonstraram sua segurança quando administrado via oral, visto que, não houve sinais de toxicidade aguda e nem de alterações micronucleares, que comprovam a ausência de efeito genotóxico. Os resultados do estudo ainda indicam que *B. stellaris* demonstrou uma resposta anti-inflamatória significativa nos dois ensaios realizados nas três doses observadas (50, 100 e 200 mg kg⁻¹). A redução no edema de pata após 4h de administração do EEB-Bs foi de 73,29% na dose de 200 mg kg⁻¹. Na exsudação de células inflamatórias a dose de 200 mg kg⁻¹ do extrato, também demonstrou uma redução de 66,71% na migração de leucócitos e de 67,72% na migração de neutrófilos. Esses resultados superaram os valores de inibição da dexametasona que apresentou um efeito de 60,04% na redução do edema de pata após 4h de administração, 57,07% na migração de leucócitos e de 56,21% na migração de neutrófilos. Logo, tais dados sugerem que o EEB-Bs pode efetivamente controlar os sintomas associados à inflamação aguda.

Portanto, este trabalho demonstrou o potencial de *Banisteriopsis stellaris* em fornecer produtos bioativos com propriedades anti-inflamatórias, destacando-a como uma possível fonte para desenvolvimento de novos recursos terapêuticos contra doenças inflamatórias. Pesquisas futuras visam testar os compostos isolados e

explorar os mecanismos de ação específicos a fim de se desenvolver novos medicamentos anti-inflamatórios.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, H. A *et al.* A Review on Traditional uses, Phytochemistry and Pharmacological Potential of Family Malpighiaceae. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 65, p. 235 - 274, 2022.
- AGATI, G *et al.* Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. **Plant Science**, v. 196, p. 67-76, 2012.
- AGRA, M. F.; BARBOSA, M.R. DE V.; STEVENS, W.D. Levantamento Florístico Preliminar do Pico do Jabre, Paraíba, Brasil. In: Porto, K.C.; Cabral, J.P.; Tabarelli, M. (Eds.). **Brejos de altitude de Pernambuco e Paraíba: história natural, ecologia e conservação**. Brasília-DF: Ministério do meio Ambiente. p.123-137, 2004.
- AKINDELE, A. J. Dose and time-dependent sub-chronic toxicity study of hydroethanolic leaf extract of *Flabellaria paniculata* Cav. (Malpighiaceae) in rodents. **Front. Pharmacol**, v. 5, 2014.
- AGUILAR-SANTAMARÍA, L *et al.* Toxicological and cytotoxic evaluation of standardized extracts of *Galphimia glauca*. **J Ethnopharmacol**, p. 35-40, 2007.
- ALEXANDRE, G. P. Dereplication by HPLC-ESI-MS and antioxidant activity of phenolic compounds from *Banisteriopsis laevifolia* (Malpighiaceae). **An Acad Bras Cienc**, [s. l.], 2022.
- ALMEIDA, R. F; MAMEDE, M. C. H. Flora do Espírito Santo: *Banisteriopsis* (Malpighiaceae). **Rodriguésia**, 2020.
- ALMEIDA, A. Filipa; SANTOS, Cláudia N.; VENTURA, M. Rita. Synthesis of New Sulfated and Glucuronated Metabolites of Dietary Phenolic Compounds Identified in Human Biological Samples. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 65, n. 31, p. 6460-6466, 2017.
- ALONSO, L *et al.*, Membrane dynamics in *Leishmania amazonensis* and antileishmanial activities of β -carboline derivatives. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, 2021.
- ALSAYARI, A *et al.* Aurone: A biologically attractive scaffold as anticancer agent. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], p. 417-431, 2019.
- ALVES, G. G. N; SEBASTIANI, R. Malpighiaceae na Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, Santo André, SP, Brasil. **Hoehnea**, 43(3), p. 521-529, 2015.
- ANDERSON, W. R. Floral conservatism in Neotropical Malpighiaceae. **Biotropica**, v. 11, n. 3, p. 219-223, 1979.
- AQUINO, F. C. et al. Estudo da correlação entre os níveis de AST, ALT e DHL e a presença de hemoglobina no laboratório clínico da PUC Goiás. **Estudos**, Goiânia, v. 41, n. 4, p. 697-706, out./dez. 2014

AQUINO R, De Crescenzo; S, De Simone F. Constituents of *Banisteriopsis caapi*. **Fitoterapia**, 62: 453, 1991.

ARAÚJO, J. S. **Anatomia de espécies de *Banisteriopsis c. B. Rob* (Malpighiaceae) ocorrentes no Brasil**. 2014. 73 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2014.

ARAÚJO, J. S. **Anatomia foliar de 16 espécies de Malpighiaceae ocorrentes em área do Cerrado (MG)**. 2008. Dissertação (Magister Scientiae) - Universidade Federal de Viçosa, 2008.

BALBINO, E.E.; DIAS, M.F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 992-1000, 2010

BARICHELLO, A *et al.* Toxicological effects of acute and repeated doses (180 days) of fruits from *Malpighia emarginata* (acerola) in rodents. **Toxicon**, 2024.

BERLINCK, R. G. S *et al.* A QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS DO BRASIL DO SÉCULO XXI. **Química Nova**, v. 40, p. 706-710, 2017.

BEZERRA, D. S *et al.* Fitoterapia e Uso de Plantas Mediciniais: Adjuvantes no Controle da Pressão Arterial. **Revista Temas em Saúde**, João Pessoa – PB, v. 16, n. 4, p. 262-276, 2016.

BITENCOURT, C.S *et al.* Cooperative role of endogenous leucotrienes and plateletactivating factor in 31 ischaemia–reperfusion-mediated tissue injury. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v.17(12), p.1554-1565, 2013.

BRAGA, C. de M. **Histórico da utilização de Plantas Mediciniais**. Brasília, 2011.

BRASIL "Resolução-RE N°26, de 13 de maio de 2014. Guia para realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos"

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, 317-333, 1998.

BRIERLEY, D. I; DAVIDSON, C. Developments in harmine pharmacology - Implications for ayahuasca use and drug dependence treatment. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 2012.

BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Zaragoza: Ed. Acribia S.A., 1ª ed., 594 p. 1991.

BURKE, A.; SMYTH, E.; FITZGERALD, G. A. Analgesic-antipyretic agents; pharmacology of gout. In: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11. ed. New York: McGraw-Hill / **Medical Publishing Division**, 2006.

BURSAL, E *et al.* Phytochemical content, antioxidant activity, and enzyme inhibition effect of *Salvia eriophora* Boiss. & Kotschy against acetylcholinesterase, α -amylase, butyrylcholinesterase, and α -glycosidase enzymes. **J. Food Biochem**, 2019.

CALLAWAY J.C. Various Alkaloid Profiles in Decoctions of *Banisteriopsis Caapi*. Callaw. Var. Alkaloid Profiles J. **Psychoact. Drugs**. 37(2), 1-5, 2005.

CAMARGO, L. M. M *et al.* Flavonoids from *Mimosa xanthocentra* (Leguminosae: Mimosoideae) and molecular modeling studies for isovitexin-200-O-a-L-rhamnopyranoside rotamers. **Phytochemistry Letters**, v. 5, p. 427–431, 2012.

CAMERON, K. M.; CHASE M. W.; ANDERSON, W. R. & HILLS, H. G. Molecular systematics of Malpighiaceae: Evidence from plastid *rbcL* and *matK* sequences. **American Journal of Botany**, 88(10): 1847–1862, 2001.

CAO, J. The applications, developments and expectations of micronucleus test in china. **YI CHUAN**, 25(1): 73-76, 2003

CAPOBIANCO, J. P. R. **Governança Socioambiental na Amazônia Brasileira na década de 2000**. Tese (Doutorado em Ciência Ambiental) - Universidade de São Paulo, 2017.

CARVALHO, A. C. B.; RAMALHO, L. S.; MARQUES, R. F. O.; PERFEITO, J. P. S. Regulation of herbal medicines in Brazil, **Journal of Ethnopharmacology**, in press 2014.

CARVALHO, J. E. **Toxicidade pré-clínica: fitoterápicos e alimentos com propriedades funcionais ou de saúde**, 2006.

CARVALHO, M.B *et al.* Correlação entre a evolução clínica e a frequência de micronúcleos em células de pacientes portadores de carcinomas orais e de orofaringe. **Rev. Assoc. Méd. Bras.**, 48(4): 317-322, 2002.

CASTILLO, E. C.; CASTILLO, C. C.; GODOY, J. Z. Revisión bibliográfica de la ayahuasca y su uso terapéutico. **Revista Peruana de Medicina Integrativa**, 2020.

CHUNG, Pooi Yin. Novel targets of pentacyclic triterpenoids in *Staphylococcus aureus*: A systematic review. **Phytomedicine**, 2019.

COECKE, S. Metabolism: a bottleneck in in vitro toxicological test development. The report and recommendations of ECVAM workshop 54. **Altern Lab Anim**, p. 49-84, 2006.

COSTA, L. B. X *et al.* Effects of crude methanol extracts of *Banisteriopsis* spp. (Malpighiaceae) on *Allium cepa* root cells. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p. 173-181, 2023.

CUNHA, M. C. L. *et al.* Phytosociology of wood community in Seasonal Dry Montane Forest in Paraiba, Brazil. **Cerne**, v. 19, n. 2, p. 271-280, 2013.

CUONG, L. C. V et al. Flavonoid glycosides from *Antidesma ghaesembilla*. **Vietnam Journal of Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 94-97, 2015

CRUZ, J. M.; GONÇALVES, K. A. M. O uso de plantas medicinais fitoterápicas como antidepressivos no Brasil. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 8, ed. 1, 2022.

DAI, J., MUMPER, R.J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, v.15, p. 7313-7352, 2010.

DAMAS, J., BOURDON, V., REMACLE-VOLON, G. and ADAM, A. Kinins and peritoneal exudates induced by carrageenin and zymosan in rats. **British Journal of Pharmacology**, vol. 101, no. 2, pp. 418-422, 1990.

DAVIS, C. C; ANDERSON, W. R. A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. **American Journal of Botany** 97: 2031-2048, 2010.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: A biosynthetic approach**. Wiley, 2009. ISBN: 9780470742761. <https://doi.org/10.1002/9780470742761>.

DUESBERG, P *et al.* Genetic instability of cancer cells is proportional to their degree of aneuploidy. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 95, p. 13692–13697, 1998.

DURIGAN, G *et al.* **PLANTAS PEQUENAS DO CERRADO: BIODIVERSIDADE NEGLIGENCIADA**, 2018.

FAGGIO, C.; SUREDA, A.; MORABITO, S.; SANCHES-SILVA, A.; MOCAN, A.; NABAVI, S. F.; NABAVI, S.M. Flavonoids and platelet aggregation: A brief review. **European journal of pharmacology**, v. 807, p. 91-101, 2017.

FAILACE, R. **Hemograma; Manual de Interpretação**. 5a ed., Porto Alegre: Artes Médicas, 2009.

FERREIRA-MACHADO, S.C. Genotoxic potentiality of aqueous extract prepared from *Chrysobalanus icaco* L. leaves. **Toxicology Letters**, v. 151, p. 481-487, 2004.

FIGUEROA, O. H. C. **ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA IN VITRO DE *Banisteriopsis caapi* (β- CARBOLINAS) CONTRA *Leishmania* spp.** 2021. Dissertação (Mestre em Biomedicina) - UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, 2021.

FRANCENER, A., ALMEIDA, R.F. **Banisteriopsis in Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<https://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/FB19411>), 2020.

FRANCISCHETTI, F *et al.* Os leucócitos e a resposta inflamatória na lesão de isquemia-reperfusão. **Rev Bras Cir Cardiovasc**, p. 575-584, 2010.

FRAXE, T. J. P *et al.* Um breve panorama da bioprospecção: sua origem, suas definições, potencial econômico e status-quo no Brasil. **Terceira Margem Amazônia**, v. 6, n. 15, p. 90-102, 2020.

FREITAS, L *et al.*, Allelopathic, cytotoxic and antifungic activities of new dihydrophenanthrenes and other constituents of leaves and roots extracts of *Banisteriopsis anisandra* (Malpighiaceae). **Phytochemistry Letters**. v.12, p. 9-16, 2015.

FRIAS, U *et al.* *Banisteriopsis* Species: A Source of Bioactive of Potential Medical Application. **International Journal of Biotechnology for Wellness Industries**, ed. 1, p. 163-171, 2012.

GATES, B. *Banisteriopsis*, *Diplopterys* (Malpighiaceae). **Flora Neotropica**, v. 30, p. 1-237, 1982.

GHOSAL, S.; MAZUMDER, U. K. Alkaloids of the leaves of *Banisteriopsis argentea*. **Phytochemistry**, Varanasi, v. 10, n. 3, p. 2840-2842, Mar. 1971.

GIANFRATTI, B *et al.* Ayahuasca blocks ethanol preference in an animal model of dependence and shows no acute toxicity. **J Ethnopharmacol**, v. 285, 2022.

GOMES, F. M.; DE SENNA, H. Fatores associados à desnutrição em pacientes com insuficiência renal crônica em tratamento hemodialítico. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, Minas Gerais, v. 5, n. 2, 2017.

GRISEBACHAHR. Malpighiaceae, p.1-124; tab.1-22. In: CFPMARTIUS (ed.). **Flora brasiliensis**, vol.12, part.1, Leipzig: Fleischer, 1858.

GUILHON-SIMPLICIO, F *et al.* Anti-inflammatory, anti-hyperalgesic, antiplatelet and antiulcer activities of *Byrsonima japurensis* A. Juss. (Malpighiaceae). **J Ethnopharmacol**, p. 282-286, 2012.

HARBORNE, J. B., MABRY, T. J. **The flavonoids: advances in research**. New York, Chapman and Hall, 1982.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 96, n. 2-3, p. 67-202, 2002.

HE, M *et al.* A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin. **Fitoterapia**, v. 115, p. 74-85, 2016.

HENDRICKSON, J. B., **The Molecules of Nature**, W. A. Benjamin, Inc., New York, 1965.

HENRIQUES, A.T., KERBER, V.A., MORENO, P.R.H. em **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. (2ª Ed.) Capítulo 29, Pgs 641-656. Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2000.

HERNÁNDEZ, I *et al.* How relevant are flavonoids as antioxidants in plants?. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 3, p. 125-132, 2009.

HODGSON, E. In vitro human phase I metabolism of xenobiotics I: pesticides and related compounds used in agriculture and public health, May 2003. **Journal of biochemical and molecular toxicology**, v. 17, n. 4, p. 201–206, 2003.

HUANG, D *et al.* Clinacanthus nutans (Burm. F.) Lindau Ethanol Extract Inhibits Hepatoma in Mice through Upregulation of the Immune Response. **Molecules**, v. 20, p. 17405-17428, 2015.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYAHUBER, D. B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

HUERTA-REYES, M; FONSECA, R. M; AGUILAR, R. A. Heteropterys genus: A review of its phytochemistry and pharmacology. **Int J Pharmacology**. 11(6):523-31, 2015.

IGNEA, C *et al.* Synthesis of 11-carbon terpenoids in yeast using protein and metabolic engineering. **Nat Chem Biol**, v. 14, p. 1090–1098, 2018.

JANEWAY JUNIOR, C. A. *et al.* **Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 824, 2007.

KIRSCH-VOLDERS, M *et al.* Report from the in vitro micronucleus assay working group. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 540, p. 153-163, 2003.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, 2013.

LARINOVA, M *et al.* A C-glycosylflavone from Piper ossanum, a compound conformationally controlled by CH/π and other weak intramolecular interactions. **J. Nat. Prod.** 73, 1623–1627, 2010.

LAPA, A. J. *et al.* **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais**. 5. ed. São Paulo: UNIFESP/EPM, 2008. 144 p

LI, Liping *et al.* Toxicity study of ethanolic extract of Chrysanthemum morifolium in rats. **J Food Sci**, 2010.

LI, Yihang *et al.* Acute toxicity study of Aspidopterys obcordata aqueous extract in Sprague-Dawley rats. **Journal of Traditional Chinese Medicine**, v. 36, p. 377-381, 2016.

LIMA, C. R. **Bioprospecção de microrganismos e plantas como ferramenta de desenvolvimento sustentável nas ciências farmacêuticas**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Farmácia) - Universidade Federal do Amazonas, 2022.

LIMA, I. B.; BARBOSA, M. R. Composição florística da RPPN Fazenda Almas, no cariri paraibano, Paraíba, Brasil. **Revista Nordestina de Biologia**, João Pessoa, v. 23, n. 1, p. 49-67, 2014.

LIMA, M. D *et al.* Anti-inflammatory effects of carvacrol: Evidence for a key role of interleukin-10. **European Journal of Pharmacology**, v. 699, n. 1-3, p. 112-117, 2012.

LIMA, Natanael T. R de. **Contribuição ao conhecimento fitoquímico de *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae)**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Paraíba, 2020.

LOBO, A. M.; LOURENÇO, A. M. Biossíntese de produtos naturais. **IST Press**, Lisboa, 2007. ISBN: 9789728469504.

LOHMAN, T. H. O. **Análise da radiosensibilidade de linfócitos periféricos de pacientes com câncer de pele e de indivíduos sadios por meio do método do micronúcleo**. Dissertação para obtenção do título de mestre. IPEN/CNEN-SP, p. 1-71, 1995.

MAGALINGAM, K. B *et al.* Protective Mechanisms of Flavonoids in Parkinson's Disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2015.

MAMEDE, M. C. H.; SEBASTIANI, R.; ALMEIDA, R. F.; FRANCENER, A.; AMORIM, A. M. A. Malpighiaceae. **Lista de espécies da flora do Brasil**, 2015.

MARKHAM, K.R. Techniques of flavonoid identification. **Tokyo: Academic Press**, 1982.

MARQUES, L. G *et al.* Redes de Bioprospecção no Brasil: cooperação para o desenvolvimento tecnológico. **RDE-Revista de Desenvolvimento Econômico**, v. 15, n. 28, 2014.

MARSON-ASCÊNCIO, P. G; ASCÊNCIO, S. D; BAGGIO, S. F. Z. Isolamento e análise química parcial de exopolissacarídeos da diatomácea marinha cultivada *Coscinodiscus wailesii* (*Coscinodiscales*, *Bacillariophyta*). **Química Nova**, v. 35, ed. 8, p. 1542-1548, 2012.

MARTIN, N.H *et al.* A proton NMR shielding model for the face of a benzene ring. **J. Mol. Struct. (Theochem)** 454, 161–166, 1998.

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

MATEUCA, R *et al.* Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. **Biochimie**, [s. l.], v. 88, p. 1515-1531, 2006.

MCDONALD, B.R.; SCHEIDT, K.A. 2015. Pyranone Natural Products as Inspirations

for Catalytic Reaction. **Discovery and Development. Accounts of Chemical Research**. V.48.n.4.p. 1172-1183, 2015.

MCKENNA D.J *et al.* Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: Tryptamine and β -carboline constituents of Ayahuasca. **J. Ethnopharmacol.** 10, 195–223, 1984.

MENDES, D. L. **SINOPSE TAXONÔMICA DE MALPIGHIACEAE JUSS. PARA O ESTADO DA PARAÍBA, BRASIL**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Universidade Estadual da Paraíba, 2019.

MORGAN, B. L. Overview of inflammation and coagulation. **Critical Care Concepts**, v. 12, 1-7, may 2007.

MUNIAPPAN, M.; SUNDARARAJ, T. Antiinflammatory and antiulcer activities of Bambusa arundinacea. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, 161-7, 2003.

MURI, E. M. F *et al.* Anti-inflamatórios não-esteroidais e sua farmacologia local. **ACTA FISIATR**, 2009.

MYLECRAINEL L; STEVENS K.R. Issues in chronictotoxicology. In: HAVES, A.W. (Ed). **Principles and methods of toxicology**. 3. ed. 673 New York: Raven Press, 1994.

NERSESYAN, A K; ADAMYAN, R. T. Micronuclei level in exfoliated buccal mucosa cells of patients with benign and malignant tumors of female reproductive organs and breast. **Tsitol Genet**, 2004.

NEWMAN, D. J; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **J. Nat. Prod.**, p. 770-803, 2020.

NGUYEN, Thanh-Dat *et al.* Flavonoid C-glucosides and monosaccharides from Combretum indicum. **Natural sciences**, v. 26, p. 3074-3078, 2023.

NIEDENZU F. Malpighiaceae, In: AENGLER (ed.). **Das Pflanzenreich IV**,141:1-870, Leipzig:Wilhelm Engelmann, 1928.

NUNES, B C *et al.*, Antimicrobial activity, cytotoxicity and selectivity index of Banisteriopsis laevifolia (A. Juss.) B. Gates leaves. **Industrial Crops Products**, 2016.

NUNES, X. P *et al.* Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de Mimosa paraibana Barney (Mimosaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 718-723, 2008.

OECD (Organization for economic co-operation and development) 2001.Guideline for Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Guideline: 423 <http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/>

- OLDONI, T. L. C. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie *Apis melífera***. Dissertação de mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba – SP, p 104, 2007.
- OLIVEIRA, A. M. **Avaliação da toxicidade aguda e subaguda e efeitos antinociceptivo, antipirético e anti-obesidade de extrato do caule de *Pilosocereus gounellei***. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, 2019.
- OLIVEIRA, D. M. **Estudo fitoquímico e biológico de *Banisteriopsis argyrophylla* (A. Juss) B. Gates (Malpighiaceae)**. Dissertação de mestrado em Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. 2016.
- OLIVEIRA, D. M *et al.* Antifungal and cytotoxicity activities of *Banisteriopsis argyrophylla* leaves. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, p. 1541–1552, 2018.
- OLSON, H *et al.* Concordance of the Toxicity of Pharmaceuticals in Humans and in Animals. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [s. l.], v. 32, p. 56-67, 2000.
- ORHAN, I. E *et al.* Flavonoids and Dementia: An Update. **Current Medicinal Chemistry**, v. 22, ed. 8, p. 1004-1015, 2004.
- ORTMANN, C. F. **Avaliação da estabilidade de extratos, frações e flavonoides C-glicosídeos presentes em *Cecropia glaziovii***. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.
- PÁDUA, M S *et al.* Assessment of antimicrobial activity in vitro of ethanolic extracts of *Banisteriopsis anisandra* (A. Juss.) B. Gates (Malpighiaceae). **Rev Bras PI Med**. 15(3): 431-7, 2013.
- PANCHE, A. N *et al.* Flavonoids: an overview. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, 2016.
- PAULINO, N. *et al.* Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis. **European Journal of Pharmacology**, v. 587, n. 1, p. 296-301, 2008.
- PENG, J. Preparative separation of isovitexin and isoorientin from *Patrinia villosa* Juss by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1074, p. 111-115, 2005.
- PEREIRA, M. M. **Estudo fitoquímico da espécie *Aspidosperma nitidum* (Benth.) Apocynaceae**. Tese (Doutorado em Ciências - Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, 2005.

PRAZERES, R. M *et al.*, Perfil de ácidos graxos e propriedades físico-químicas do óleo extraído das sementes de *Banisteriopsis pubipetala* (A. Juss.) Cuatrec. (Malpighiaceae). **Periódico Tchê Química**, v. 14, n. 27, p. 105-112, 2017.

PRIETO, V. C. *et al.* Fatores Críticos na implementação do Balanced Scorecard. **Revista Gestão & Produção**. n. 1, p. 81-92, v. 13, jan./abr., 2006.

QUAN, T. H *et al.* Protein–polyphenol conjugates: Antioxidant property, functionalities and their applications. **Trends in Food Science & Technology**, 91, 507–517, 2019.

QUARESMA, D. M. O *et al.* Antioxidant compounds from *Banisteriopsis argyrophylla* leaves as α -amylase, α -glucosidase, lipase, and glycation inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, [s. l.], 2020.

QUEIROZ *et al.* The Pirassununga Air Force Farm as a potential area of biodiversity conservation in the Mogi Guaçu River Basin, SP. **Holos Environment, suppl.**, p. 203-214, 2017.

QUINTANS JÚNIOR, L. J. *et al.* Evaluation of hypoglycemic potential and pre-clinical toxicology of *Morus nigra* L. (Moraceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 30, 2011.

RAMALHO, J. A. **Avaliação da toxicidade aguda e crônica do extrato hidroalcoólico bruto da casca da raiz de *Dioclea grandiflora* mart. ex benth.** Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos) - Universidade Federal da Paraíba, 2016.

RAYYAN, S *et al.* Flavone C-Glycosides from Leaves of *Oxalis triangularis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2005.

RIBEIRO, V. P *et al.* Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: A review. **Pharmaceutical Biology**, v. 56, n. 1, p. 253-268, 2018.

RICE-EVANS, C. Flavonoid antioxidants. **Current Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 7, p. 797-807, 2001.

RIVER, L., LINGREN J. Ayahausca, the South American hallucinogenic drink: ethnobotanical and Chemical investigations. **Economic Botany**. 29:101-129, 1972.

ROCHA, E. O. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas da espécie *Banisteriopsis campestris* (A. Juss.) Little.** 2018. Tese de doutorado (Doutor em química) - Universidade Federal de Uberlândia, 2018.

SALVADOR, J. A.R. *et al.* Oleanane-, ursane-, and quinone methide friedelanetype triterpenoid derivatives: Recent advances in cancer treatment. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 142, p. 95–130, 2017.

SANDHAR, H *et al.* A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v.1, n. 1, p. 25-41, 2011.

SAMOYLENKO V, *et al.* Banisteriopsis caapi, a unique combination of MAO inhibitory and antioxidative constituents for the activities relevant to neurodegenerative disorders and Parkinson's disease. **J Ethnopharmacol**; 127: 357-67, 2010.

SANNOMIYA, M *et al.* Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 1, p. 1-6, 2005.

SANTOS, B. **Perfil químico da Ayahuasca e da espécie *Banisteriopsis caapi* e seu potencial anti-inflamatório em cultura de células BV-2**. 2021. Tese (Doutora em Ciências Farmacêuticas.) - Universidade de Brasília, 2021.

SANTOS, J. V; AMORIM, A. M; CONCEIÇÃO, A. S. Malpighiaceae in the Raso da Catarina Ecoregion, Bahia, Brazil. **Biota Neotropica**, 2018.

SANTOS, D. S; RODRIGUES, M. M. F. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)** , [s. l.], v. 7, ed. 3, p. 29-35, 2017.

SANTOS, R *et al.*, Landeira-Fernandez J, Strassman R, Motta V, Cruz APM. Effects of ayahuasca on psychometric measures of anxiety, panic-like and hopelessness in Santo Daime members. **J Ethnopharmacol**. 112 (3): 507-13, 2007.

SCHOLZ, J. S; WOOLF, C. J. Can we conquer pain?. **Nature Neuroscience**, v. 5, p. 1062–1067, 2002.

SCHULTES, R. E. Hallucinogens of plant origin. **Science**, 163, 245–254, 1969.

SILVA, A. R. R. A. **Constituintes químicos isolados de *Schwartzia brasiliensis* (Choisy) Bedell ex Gir.-Cañas**. Dissertação (Mestrado em Farmacoquímica) - Universidade Federal da Paraíba, 2020.

SILVA, A. T. M *et al.* Lupeol and its esters: NMR, powder XRD data and in vitro evaluation of cancer cell growth. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2017.

SILVA, E. A. **A importância da floração sequencial de Malpighiaceae para a manutenção da diversidade de tripes (Thysanoptera) no Cerrado**. 2010. Dissertação (Mestre em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, 2010.

SILVA, J. DA; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. **Genética toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, p. 422, 2003.

SILVA, L. M *et al.* Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do infuso dos rizomas de *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae). **Fitos**, p. 9-17, 2023.

SILVEIRA, A. P.; BASSAM, J. S. Plantas medicinais e suas possíveis contribuições: um estudo bibliográfico em dissertações e teses presentes na BDTD no período 2015-2020. **Research, Society and Development**, v. 10, ed. 11, 2021.

SILVEIRA, P. F. DA. **Perfil de utilização e monitorização de reações adversas a fitoterápicos do programa farmácia viva em uma unidade básica de saúde de Fortaleza**, 2007.

SMITH, M. L *et al.* Mammalian DNA damage-inducible genes associated with growth arrest and apoptosis. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, [s. l.], v. 340, p. 109-124, 1996.

SIMÕES, A. C. E. **Bases morfológicas e fisiológicas das vias de administração, absorção, metabolização e excreção de fármacos**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, 2013.

SIMÕES, C. M. O *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre: Editora da UFSC e UFRGS Editora, 2007.

SIMÕES, C.M.O. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre/RS: Editora Artmed. 502 pp. 2017.

SOUZA, M. C. S. A *et al.* DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL E SUSTENTABILIDADE: Evolução epistemológica na necessária diferenciação entre os conceitos. **Revista de Direito e Sustentabilidade**, v. 3, n. 2, p. 17-35, 2017.

STEINMEYER, J. Pharmacological basis for the therapy of pain and inflammation with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Arthritis Research**, v. 2, 379-85, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed. 2013. 820p.

TALHI, O.; SILVA, A.M.S. Advances in C-glycosylflavonoid Research. **Current Organic Chemistry**. v.16, p.859-896, 2012.

TENNANT, B.C. Hepatic function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5 th ed. London: Academic Press, p.327-352, 1997.

TETALI, S. D. Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use. **Planta**, p. 1- 8, 2018.

TITTARELLI R *et al.*, Recreational Use, Analysis and Toxicity of Tryptamines. **Curr. Neuropharmacol**. 13, 26–46, 2015.

THRALL, M.A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007.

ULLAH, A *et al.* Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. **Molecules**, 2020.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. PLANTAS MEDICINAIS: CURA SEGURA?. **Química Nova**, p. 519-528, 2005.

VEIGA JUNIOR, V. F.; YAMAGUCHI, K. K. L. O “Des-Envolvimento” Insustentável e Agricultura Molecular na produção de bioativos. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, p. 206-211, 2022.

VERDAM, M. C. S *et al.* Analgesic, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Activities of *Byrsonima duckeana* W. R. Anderson (Malpighiaceae). **ScientificWorldJournal**, p. 282-286, 2017.

VILLANUEVA-AMADOR *et al.*, Getsemaní Sinaí. Antibacterial, Antifungal and Antiviral Properties of Malpighiaceae Family and Its Potential Impact for Oral Cavity Infectious Diseases. **Journal of Pharmaceutical Research International**, p. 139-152, 2020.

VILLANUEVA, B. G. **Perspectiva terapéutica de la BANISTERIOPSIS sp. (Ayahuasca)**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Facultad de Farmácia, 2019.

VINEGAR, R *et al.* Biphasic development of carrageenan oedema in rats. **J Pharmacol Exp Ther**, 166:96-103, 1969.

VOGEL, S. History of the Malpighiaceae in the Light of Pollination Ecology. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, v. 55, p. 130-142, 1990.

WANG, J *et al.* Antitumor, antioxidant and anti-inflammatory activities of kaempferol and its corresponding glycosides and the enzymatic preparation of kaempferol. **Plos one**, 2018.

WANG, Y.H *et al.*, Composition, standardization and chemical profiling of *Banisteriopsis caapi*, a plant for the treatment of neurodegenerative disorders relevant to Parkinson's disease. **J. Ethnopharmacol.** 128, 662-671, 2010.

WEISER, V. L. **Ecologia e sistemática de lianas em um hectare de cerrado strictu sensu da arte - Cerrado Pé-de-gigante, Santa Rita do Passa Quatro - SP**. 2001. Dissertação de mestrado (Mestre em Ciências) - Universidade de São Paulo, 2001.

WILLIAMS, R. J *et al.* Flavonoids: antioxidants or signalling molecules?. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 36, p. 838-849, 2004.

XIAO, SULONG *et al.* Recent progress in the antiviral activity and mechanism study of pentacyclic triterpenoids and their derivatives. **Medicinal Research Reviews**, v. 38, n. 3, p. 951–976, 2018.

XIE, J.; ZHANG, A.; SUN, H.; YAN, G.; WANG, X. Recent advances and effective strategies in the discovery and applications of natural products. **Royal Society of Chemistry**, v. 8, p. 812- 824, 2018.

YANG, Pei-Wei *et al.* MicroRNA-6809-5p mediates luteolin-induced anticancer effects against hepatoma by targeting flotillin 1. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 57, p. 18-29, 2019.

YOUSEF, B. A *et al.* Pristimerin exhibits in vitro and in vivo anticancer activities through inhibition of nuclear factor- κ B signaling pathway in colorectal cancer cells. **Phytomedicine**, v. 40, p. 140–147, 2018.

ZHANG, C.X., DAI, Z.R. and CAI, Q.X. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Sipunculus nudus* L. extract. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 137, no. 3, pp. 1177-1182, 2011.

ZHENG, Junxia *et al.* Identification of flavonoids in *Plumula nelumbinis* and evaluation of their antioxidant properties from different habitats. **Industrial Crops and Products**, v. 127, p. 36-45, 2019.

ZUANAZZI, J. A. S *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2011.