

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**RAFAELA DE LIMA MOREIRA**

**FITOQUÍMICA DA ESPÉCIE *Trichilia emarginata* E AVALIAÇÃO DA  
ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA**

**ALFENAS/MG**

**2025**

**RAFAELA DE LIMA MOREIRA**

**FITOQUÍMICA DA ESPÉCIE *Trichilia emarginata* E AVALIAÇÃO DA  
ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Orgânica.

Orientadora: Profa. Dra. Marisi Gomes Soares  
Coorientador: Dr. Miller Santos Ferreira

**ALFENAS/MG**

**2025**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

Moreira, Rafaela de Lima.

Fitoquímica da espécie *Trichilia emarginata* e avaliação da atividade anti-inflamatória / Rafaela de Lima Moreira. - Alfenas, MG, 2025.

63 f.: il. -

Orientador (a): Marisi Gomes Soares.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Atividade Anti-inflamatória. 2. Fitoquímica. 3. Plantas medicinais. 4. *Trichilia emarginata*. I. Gomes Soares, Marisi, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

RAFAELA DE LIMA MOREIRA

**FITOQUÍMICA DA ESPÉCIE *Trichilia emarginata* E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA**

A Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Orgânica.

Aprovada em: 29 de Agosto de 2025.

Profa. Dra. Marisi Gomes Soares Presidente da Banca Examinadora  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Profa. Dra. Alessandra Ambrozini  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas, Campus Poços de Caldas

Prof. Dr. Welton Rosa  
Instituição: Instituto Federal Fluminense



Documento assinado eletronicamente por **Marisi Gomes Soares, Professor do Magistério Superior**, em 24/09/2025, às 15:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1604640** e o código CRC **A158C3F3**.

Dedico este trabalho à Deus, pela força e cuidado em cada passo da minha vida. Aos meus pais, Donizetti e Elisabete (*in memorian*), e ao meu irmão (*in memorian*), sendo minha eterna inspiração. Ao meu esposo, André, pelo amor e apoio incondicional. E a todos que, de alguma forma, caminharam comigo nesta jornada, dedico esta conquista.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por Seu cuidado constante em minha vida, pelo sustento diário e pela força concedida em todos os momentos desta caminhada acadêmica.

Aos meus pais, Donizetti e Elisabete (*in memorian*), pelo amor incondicional que sempre tiveram, e ao meu irmão Rodrigo (*in memorian*), que, mesmo não estando mais presentes de corpo, sempre estiveram ao meu lado em espírito. Desde o início da minha graduação, foram fonte de apoio, incentivo e dedicação, ajudando-me em todas as etapas dessa trajetória.

Ao meu esposo, André, pelo apoio incansável, pela compreensão, paciência e dedicação em todos os momentos, sendo meu porto seguro e meu maior incentivador.

Aos meus familiares, amigos e colegas de laboratório LFQMM, que, de diferentes formas, me ofereceram palavras de incentivo, gestos de carinho e auxílio nos momentos mais desafiadores.

À minha orientadora, professora Marisi, pela orientação firme e cuidadosa, pela confiança depositada e pelo exemplo de dedicação acadêmica e profissional. Ao meu coorientador, doutor Miller, pelo apoio e pelas contribuições valiosas.

Às professoras Daniela Chagas e Danielle Dias, pelo trabalho conjunto, pelas trocas de conhecimento e pelo apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

À Universidade Federal de Alfenas, por me proporcionar a infraestrutura necessária para a realização deste trabalho e por me oferecer uma formação de qualidade.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG (APQ-02353-17, APQ-00207-18, APQ-05218-23, APQ-00544-23, APQ-02882-24, e BPD-00760-22); do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (408115/2023-8, 316204/2021-8, 309500/2025-7 e 406837/2021-0); e da Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da UNIFAL-MG.

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

A cada um que, direta ou indiretamente, contribuiu para a realização deste trabalho, registro aqui minha sincera gratidão e profunda admiração.

*"Tudo posso naquele que me fortalece."*

(Filipenses 4:13)

## RESUMO

As plantas representam um recurso valioso para a descoberta de novos compostos com potencial farmacológico, além de oferecerem alternativas terapêuticas por meio da medicina tradicional. O gênero *Trichilia*, pertencente à família Meliaceae, tem despertado interesse devido às atividades biológicas de seus metabólitos secundários. *Trichilia emarginata* é uma espécie nativa da Mata Atlântica no sudeste do Brasil, e assim como outras espécies do mesmo gênero, são conhecidas por produzir limonoides. Esses compostos são amplamente documentados na literatura por suas propriedades inseticidas, antioxidantes, anticancerígenas, antifúngicas e anti-inflamatórias. Diante dos efeitos adversos associados ao uso de anti-inflamatórios convencionais, a busca por alternativas mais seguras permanece altamente relevante. Nesse contexto, as folhas de *T. emarginata* foram submetidas à extração hidroetanólica, seguida de técnicas cromatográficas clássicas e modernas para avaliar seu perfil químico. A caracterização dos compostos foi realizada por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (UPLC-HRMS), bem como por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio ( $^1\text{H}$  NMR). As frações clorofórmicas (CHLO) e hidroalcoólica (HAL) demonstraram atividade anti-inflamatória dual em ensaio *ex vivo*, inibindo a liberação dos mediadores inflamatórios prostaglandina  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) e leucotrieno  $\text{B}_4$  ( $\text{LTB}_4$ ). Limonoides, juntamente com uma variedade de outros terpenos, incluindo triterpenos não limonoides e fitoesteróides, foram confirmados, através das técnicas de cromatografia líquida de alta performance (HPLC), nas frações CHLO e acetato (ACT). Compostos fenólicos, particularmente ácidos clorogênicos, foram predominantemente anotados na fração HAL e no extrato bruto (CE). Além disso, um triterpenoide do tipo limonoide com fórmula molecular  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_2$  ( $m/z$  [ESI $^-$ ] = 413,1654,  $R_t$  2,4–2,8 min) foi isolado com sucesso e caracterizado. Em resumo, os resultados obtidos confirmam que *Trichilia emarginata* é uma fonte promissora de compostos bioativos, especialmente limonoides e fenólicos, com relevante atividade anti-inflamatória.

Palavras-chave: Atividade anti-inflamatória, Fitoquímica, Plantas medicinais, *Trichilia emarginata*.

## ABSTRACT

Plants represent a valuable resource for the discovery of new compounds with pharmacological potential, in addition to providing therapeutic alternatives through traditional medicine. The genus *Trichilia*, belonging to the Meliaceae family, has attracted attention due to the biological activities of its secondary metabolites. *Trichilia emarginata* is a species native to the Atlantic Forest in southeastern Brazil and, like other species of the same genus, is known to produce limonoids. These compounds are widely documented in the literature for their insecticidal, antioxidant, anticancer, antifungal, and anti-inflammatory properties. Given the adverse effects associated with the use of conventional anti-inflammatory drugs, the search for safer alternatives remains highly relevant. In this context, *T. emarginata* leaves were subjected to hydroethanolic extraction, followed by classical and modern chromatographic techniques to evaluate their chemical profile. Compound characterization was performed using ultra-performance liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS), as well as proton nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$  NMR). The chloroform (CHLO) and hydroalcoholic (HAL) fractions demonstrated dual anti-inflammatory activity in *ex vivo* assays, inhibiting the release of inflammatory mediators prostaglandin  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) and leukotriene  $\text{B}_4$  ( $\text{LTB}_4$ ). Limonoids, together with a variety of other terpenes, including non-limonoid triterpenes and phytosterols, were confirmed using high-performance liquid chromatography (HPLC) in the CHLO and acetate (ACT) fractions. Phenolic compounds, particularly chlorogenic acids, were predominantly observed in the HAL fraction and crude extract (CE). Additionally, a limonoid-type triterpenoid with the molecular formula  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_2$  ( $m/z$  [ $\text{ESI}^-$ ] = 413.1654,  $R_t$  2.4–2.8 min) was successfully isolated and characterized. In summary, the results obtained confirm that *Trichilia emarginata* is a promising source of bioactive compounds, especially limonoids and phenolics, with significant anti-inflammatory activity.

Keywords: Anti-inflammatory activity, Phytochemistry, Medicinal plants, *Trichilia emarginata*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 – Plantas da família Meliaceae.....  | 17 |
| Figura 2 – Planta do gênero <i>Trichilia</i> .....  | 18 |
| Figura 3 – Planta <i>Trichilia emarginata</i> .....   | 19 |
| Figura 4 – Representação geográfica da espécie vegetal.....                                 | 19 |
| Figura 5 – Representação esquemática do metabolismo do ácido araquidônico.....              | 22 |
| Figura 6 – CCDs realizadas a partir do extrato bruto .....                                  | 32 |
| Figura 7 – Extração líquido-líquido do extrato bruto de <i>Trichilia emarginata</i> . ..... | 34 |
| Figura 8 – Coluna cromatográfica realizada com o extrato bruto .....                        | 34 |
| Figura 9 – Cromatograma da fração clorofórmica coluna analítica.....                        | 36 |
| Figura 10 – Cromatograma da fração clorofórmica em coluna semipreparativa. ....             | 36 |
| Figura 11 – Cromatograma do Pico 1 da fração clorofórmica .....                             | 37 |
| Figura 12 – Cromatograma do Pico 2 da fração clorofórmica .....                             | 38 |
| Figura 13 – Cromatograma do Pico 3 da fração clorofórmica .....                             | 38 |
| Figura 14 – Gráfico da atividade anti-inflamatória.....                                     | 39 |
| Figura 15 – Cromatograma dos metabólitos anotados no modo negativo .....                    | 42 |
| Figura 16 – Cromatograma dos metabólitos anotados no modo positivo.....                     | 43 |
| Figura 17 – Metabólitos anotados no modo de ionização negativo .....                        | 44 |
| Figura 18 – Metabólitos anotados no modo de ionização positivo .....                        | 45 |
| Figura 19 – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do composto 1 .....                          | 46 |
| Figura 20 – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do composto 1 .....                           | 46 |
| Figura 21 – Esqueleto carbônico do composto 1 .....   | 47 |
| Figura 22 – Estrutura química do beta-sitosterol.....                                       | 49 |
| Quadro 1 – Obtenção das frações .....   | 26 |
| Quadro 2 – Fluxograma de isolamento .....   | 28 |
| Tabela 1 – Codificação adotada e rendimento do extrato bruto e suas frações .....           | 33 |
| Tabela 2 – Lista de compostos anotados de <i>T. emarginata</i> .....                        | 41 |
| Tabela 3 – Valores de deslocamento dos sinais de <sup>13</sup> C no espectro de RMN....     | 48 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|              |   |
|--------------|---|
| ACN          | acetonitrila  |
| AES          | anti-inflamatório esteroidais   |
| ANOVA        | análise de variância  |
| CaOx         | oxalato de cálcio   |
| CAP          | cloranfenicol   |
| COD          | oxalate de cálcio dihidratado   |
| COM          | oxalato de cálcio monohidratado   |
| COX          | ciclooxigenases   |
| COX-1        | ciclooxigenase-1  |
| COX-2        | ciclooxigenase-2  |
| DAD          | detector arranjo de diodos  |
| EA           | extrato aquoso  |
| EtOH         | etanol  |
| EX           | extrato   |
| FAc          | fração acetato de etila   |
| FCI          | fração clorofórmica   |
| Fhex         | fração hexânica   |
| Fhd          | fração hidroalcolica  |
| HPLC         | cromatografia líquida de alta performance (do inglês, high performance liquid chromatography) |
| IL-1 $\beta$ | interleucina 1 $\beta$  |
| IL-6         | interleucina 6  |
| iNOS         | óxido nítrico sintase induzível (inglês, inducible nitric oxide synthase)                     |
| LOX          | lipo-oxigenase  |
| LPS          | lipopolissacarídeo  |
| LQL          | limite de quantificação inferior  |
| LT           | leucotrienos  |
| LTB4         | leucotrienos B4   |
| MDA          | malondialdeído  |
| MRM          | monitoramento de reações múltiplas  |
| MS/MS        | espectrometria de massa/massa   |

|       |   |
|-------|---|
| NF-κB | fator nuclear kappa B   |
| NM    | nanômetros  |
| PBS   | solução tampão-fosfato (do inglês, phosphate-buffered saline) |
| PG    | prostaglandinas   |

## SUMÁRIO

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO.....</b>                     | <b>13</b> |
| 1.1      | OBJETIVOS.....                             | 15        |
| 1.1.1    | <b>Objetivo Geral.....</b>                 | <b>15</b> |
| 1.1.2    | <b>Objetivos Específicos.....</b>          | <b>15</b> |
| <b>2</b> | <b>DESENVOLVIMENTO.....</b>                | <b>16</b> |
| 2.1      | FAMÍLIA MELIACEAE.....                     | 16        |
| 2.1.1    | <b>Gênero <i>Trichilia</i>.....</b>        | <b>17</b> |
| 2.2      | INFLAMAÇÃO.....                            | 20        |
| 2.3      | ANTI-INFLAMATÓRIOS.....                    | 23        |
| <b>3</b> | <b>MATERIAIS E MÉTODO.....</b>             | <b>25</b> |
| 3.1      | MATERIAL VEGETAL.....                      | 25        |
| 3.2      | PARTIÇÃO DO EXTRATO.....                   | 25        |
| 3.3      | CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL.....              | 27        |
| 3.4      | ISOLAMENTO.....                            | 27        |
| 3.5      | ENSAIO ANTI-INFLAMATÓRIO.....              | 28        |
| 3.5.1    | <b>Ressuspensão e análise.....</b>         | <b>29</b> |
| 3.6      | AQUISIÇÃO DE DADOS.....                    | 30        |
| <b>4</b> | <b>RESULTADOS.....</b>                     | <b>32</b> |
| 4.1      | FITOQUÍMICA.....                           | 32        |
| 4.2      | AVALIAÇÃO ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA..... | 38        |
| 4.3      | PERFIL METABÓLICO.....                     | 40        |
| 4.4      | ISOLAMENTO DO LIMONOIDE TRITERPENO.....    | 46        |
| <b>5</b> | <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>           | <b>51</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                    | <b>52</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Dede a antiguidade, as plantas são utilizadas pelos homens, não somente na agricultura como fonte de alimento, mas também com a finalidade medicinal. O uso de plantas medicinais remonta aos primórdios da civilização, com finalidades terapêuticas e preventivas. Esse conhecimento tradicional, transmitido entre gerações, constitui uma valiosa fonte para a identificação de novos princípios ativos, o que tem direcionado as pesquisas para descobertas e aplicação das propriedades ativas vegetais, que são resultantes da produção de metabólitos secundários pelas plantas (Santos *et al.*, 2011; Pedroso *et al.*, 2021). Dessa forma, os produtos naturais exercem ainda na atualidade um papel muito importante para o desenvolvimento de novos fármacos (Newman; Cragg, 2020; Wan *et al.*, 2022).

O Brasil, detentor de mais de 20% das espécies vegetais do planeta, destaca-se como uma importante fonte de plantas medicinais. Sua rica biodiversidade possibilita amplas pesquisas na área de princípios ativos (Guerra; Nodari, 2010). A maioria dos compostos farmacologicamente relevantes extraídos de plantas corresponde a metabólitos secundários, de estrutura complexa, que atuam como alvos terapêuticos em diversas patologias humanas (Ferreira; Pinto, 2010). As plantas formam um rico arsenal de produtos químicos, orgânicos e inorgânicos, com diferentes potenciais para exploração pelo homem. Atualmente, tem se observado um aumento tanto na prescrição e orientação, por parte de profissionais de saúde, como no consumo de plantas medicinais, sejam por incentivo das políticas governamentais, por influência de mídias sociais ou para fins estéticos, como o emagrecimento (Dias *et al.*, 2018). O Brasil possui a maior biodiversidade vegetal do mundo e, como muitas espécies ainda não foram identificadas, conforme Rodrigues *et al.* (2016), não se conhece quais seriam suas potencialidades na medicina. O interesse popular e o emprego de plantas medicinais e fitoterápicos está consolidado no país (Carballo *et al.*, 2020).

A fitoquímica é o estudo das substâncias químicas derivadas de plantas, essas substâncias, conhecidas como fitoquímicos, desempenham vários papéis nas plantas, incluindo a proteção contra pragas, doenças e predadores, além de contribuir para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Os fitoquímicos são compostos químicos derivados do metabolismo secundário das plantas, que podem ajudar as plantas a resistir a infecções causadas por bactérias, fungos e vírus. Para

serem classificados como fitoquímicos, esses compostos causam efeitos benéficos ao organismo, e frequentemente também contribuem para a pigmentação dos alimentos vegetais. Tal ramo da Química tem se aplicado tanto nesses esforços, devido à grande diversidade da flora brasileira, o que tem permitido a progressão da bioprospecção aliado ao estudo de Produtos Naturais (Santos, 2013; Iamtham; Wachirachai Karn; Jarussophon, 2023). Além da utilização de plantas como alternativa terapêutica ser atualmente observada em um número cada vez maior de pessoas no mundo, conforme Luz *et al.*, (2014), cerca de 25% dos medicamentos contém extratos vegetais em sua composição e um número maior é derivado de moléculas isoladas de fontes vegetais (Lima *et al.*, 2015). Com isso, torna-se importante o empenho em realizar pesquisas em fitoquímica com o intuito de conhecer cada vez mais os princípios, as propriedades farmacológicas e toxicológicas, as formas de preparo e utilização seguras das plantas com potencial medicinal bem como o preparo adequado dos medicamentos, principalmente aquelas com o uso indicado pelo conhecimento tradicional (Bessa *et al.*, 2013; Luz *et al.*, 2014; Hyacienth; Almeida, 2015; Lima *et al.*, 2015). Ao longo dos anos, produtos naturais têm desempenhado um papel crucial no desenvolvimento de medicamentos, com muitos remédios importantes sendo derivados de fontes naturais. A Fitoterapia é uma prática médica caracterizada pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal. O uso de plantas medicinais na arte de curar é uma forma de tratamento de origens muito antigas, fundamentada no acúmulo de informações por sucessivas gerações. Ao longo dos séculos, produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diferentes doenças. Em relação ao uso de fitoterápicos, em várias partes do mundo, há um aumento significativo tanto no uso de fitoterápicos, quanto no de suplementos alimentares, sobretudo na Europa, nos Estados Unidos e na Austrália, pela popularidade da Medicina Alternativa e Complementar (Dias *et al.*, 2018).

A inflamação é uma resposta essencial do organismo frente a estímulos nocivos, como lesões e infecções. Quando ocorre de forma controlada, resulta na eliminação de agentes infecciosos e no reparo tecidual (Medzhitov, 2008). Entretanto, respostas inflamatórias excessivas ou desreguladas estão associadas à patogênese de diversas doenças, incluindo câncer, artrite reumatoide, Alzheimer e diabetes mellitus (Kaur; Singh, 2022). O processo inflamatório é iniciado

principalmente pela ação de macrófagos, que em conjunto com células locais promovem a liberação de mediadores inflamatórios. Esses mediadores, derivados do metabolismo do ácido araquidônico (AA), modulam a função de tecidos e órgãos, caracterizando os efeitos da inflamação (Medzhitov, 2008; Wang *et al.*, 2021).

O metabolismo do AA ocorre principalmente por meio das cicloxigenases (COX) e lipoxigenases (LOX). A COX apresenta duas isoformas: COX-1, relacionada a funções homeostáticas, e COX-2, induzida em processos inflamatórios, ambas envolvidas na síntese de prostanóides como a prostaglandina  $E_2$  ( $PGE_2$ ), responsável por sinais como dor, febre e edema (Hanna; Hafez, 2018; Hansen *et al.*, 2012; Carvalho *et al.*, 2022). Já a 5-LOX catalisa a produção de leucotrienos, entre eles o  $LTB_4$ , que desempenha um importante papel quimiotático sobre leucócitos, contribuindo tanto para a defesa antimicrobiana quanto para a modulação da resposta imune (Wang *et al.*, 2021; Wan *et al.*, 2017). Os metabólitos secundários provenientes de produtos naturais representam uma importante fonte de potencial para o desenvolvimento de novas moléculas com atividade anti-inflamatória (Attiq *et al.*, 2018). Nesse contexto, a realização de ensaios que permitam avaliar tal atividade constitui uma ferramenta relevante para a triagem de produtos naturais ainda pouco explorados quanto aos seus efeitos anti-inflamatórios.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Investigar o perfil químico da espécie *T. emarginata* a partir do uso de abordagens metabolômicas e fitoquímicas e estudar seu potencial anti-inflamatório.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- a) obter extrato e frações a partir das folhas de *T. emarginata*;
- b) caracterizar os constituintes químicos bioativos presentes através de métodos cromatográficos, espectroscópicos e espectrométricos (RMN, IV e EM);
- c) realizar ensaio anti-inflamatório *ex-vivo* das amostras estudadas.

## 2 DESENVOLVIMENTO

O estudo químico de plantas, sobretudo daquelas pertencentes à flora brasileira, constitui-se numa estratégia científica e economicamente importante para o futuro das indústrias, além de, servir como direcionador do desenvolvimento sustentado do país. Regiões remanescentes da Mata Atlântica constituem áreas conhecidas mundialmente devido à alta biodiversidade e à necessidade da realização de estudos que visem sua conservação e uso sustentável. Uma maneira de agregar valor às espécies vegetais pertencentes a esse bioma consiste na seleção de produtos naturais bioativos os quais apresentam potencial farmacológico. É importante mencionar que as plantas têm contribuído, ao longo dos anos, para a obtenção de vários fármacos que são mundialmente utilizados. (Santos *et al.*, 2011; Pedroso *et al.*, 2021).

### 2.1 FAMILÍA MELIACEAE

A família Meliaceae, pertence à ordem Rutales, é dividida em quatro subfamílias: Swietenioideae, Meliceideae, Quivisianthoideae, Capuronianthoideae (Salles, 1995). A família Meliaceae é formada por 51 gêneros com aproximadamente 1400 espécies de característica lenhosa, distribuídas nos trópicos e subtropicais de ambos os hemisférios (Marinho, 2005; Banerji; Nigam, 1984). Entre os gêneros de Meliaceae, os mais representativos como fonte de madeira para as indústrias são: *Cedrela*, *Cabralea*, *Swietenia*, *Carapa*, *Guarea*, *Trichilia* e *Khaya*. A Meliaceae é uma família composta por árvores e arbustos que podem ser monóicos ou dióicos, ou seja, os monóicos são constituídos por flores unissexuais, mas é distribuída em um mesmo indivíduo, portanto, as dióicas apresentam flores masculinas e femininas distribuídas em indivíduos separados. A Meliaceae originalmente tem uma forma de vida arbórea, suas folhas são compostas, alternadas e pinadas, que possuem ou não um folíolo terminal, ocasionalmente bipinadas, muitas vezes com uma gema terminal mostrando o crescimento intermitente que possuem ou não linhas translúcidas. A Meliaceae é reconhecida por possuírem suas bases das folhas inchadas e mais ou menos alongadas verticalmente. Por sua vez, os folhetos são secos, finos e quebradiços, como ilustrado nas figuras abaixo. (Pennington, 1981; Mosqueta, 1995).

Figura 1 - Imagens de plantas da família Meliaceae



Fonte: Autor (2025).

A Meliaceae possui flores pouco vistosas, unissexuadas ou bissexuadas, que possuem estaminódios e pistilódios bem definidos. Os botões florais muitas vezes são mais longos do que largos, com pétalas maiores que as sépalas. As sementes são secas, aladas ou não, recobertas total ou parcialmente por sarcotesta ou arilo. Os frutos cápsula loculicida ou septífraga, drupa ou baga. Os frutos são geralmente como as sementes, grandes. (Pennington, 1981; Mosqueta, 1995).

A família Meliaceae é composta por oito gêneros neotropicais, sendo que quatro nativos são representados no estado de São Paulo que são *Cabranea*, *Cedrela*, *Guarea* e *Trichilia*; e dois introduzidos *Melia* e *Aglaiia*. Representa aproximadamente 550 espécies em 50 gêneros, entre a espécies arbóreas estão inclusas algumas com valores econômicos como a madeira do cedro-rosa. Meliaceae é encontrada em todos os estados do Brasil, contudo, o maior número de espécies é concentrado principalmente nos domínios fitogeográficos da Amazônia e da Mata Atlântica.

### 2.1.1 Gênero *Trichilia*

O gênero *Trichilia* pertence à família Meliaceae, é constituída de aproximadamente 70 espécies, distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais, sendo comumente encontradas em florestas úmidas da América do Sul. As espécies desse gênero destacam-se por apresentarem folhas compostas, flores pequenas e frutos do tipo cápsula, características morfológicas que contribuem para sua identificação taxonômica. A Figura 2 ilustra aspectos botânicos representativos do gênero *Trichilia*,

evidenciando a disposição foliar, as inflorescências e a morfologia dos frutos. (Pennington, 1981; Mosqueta, 1995).

Figura 2 - Imagem representativa de planta do gênero *Trichilia*



Fonte: Autor (2025).

Este gênero é rico em “terpenoides”, triterpenos, monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, limonoides e esteroides. Outras classes de composto químicos podem ser encontradas, porém com menos abundância, como os flavonoides, cumarinas, ácidos fenólicos, lactonas e lignanas. Esse gênero vem despertando interesse dentre a flora brasileira, devido às atividades biológicas de metabólitos secundários presentes nessas plantas. (Flores *et al.*, 2017). Até o ano de 2009 apenas vinte e seis espécies de *Trichilia* foram estudadas quimicamente: *T. americana*, *T. casaretti*, *T. catigua*, *T. clausenii*, *T. connaroides*, *T. cuneata*, *T. dregeana*, *T. elegans*, *T. estipulata*, *T. havanensis*, *T. heudellotti*, *T. hirta*, *T. hispida*, *T. lepidota*, *T. martiana*, *T. pallida*, *T. prieuriana*, *T. quadrijuga*, *T. ramalhoi*, *T. reticulata*, *T. roka*, *T. rubescens*, *T. rubra*, *T. schomburgkii*, *T. silvatica*, *T. trifolia*. A *T. emarginata* é encontrada na região eco da Mata Atlântica do sudeste do Brasil.

A família Meliaceae é conhecida pela bioprodução de limonóides, os quais apresentam diversas atividades biológicas: inseticida, anticancerígeno, antifúngico, antiviral e antibacteriano. Tem como sinônimo heterotípico *T. subalata* C. DC. Ela é uma árvore de até 6 metros de altura e é popularmente conhecida como “Caxua” no estado da Bahia e de nome comum “Catigua pequeno” no estado de São Paulo. A espécie é zoocórica (D’Orazio; Catharino, 2013). Floresce de junho a dezembro; e frutifica em junho, julho, outubro e janeiro, sendo representada na figura abaixo. (Pastore, 2003,

Pennington, 2016; Flores *et al.*, 2017).

Figura 3 - Imagem da planta *Trichilia emarginata*



Fonte: Autor (2025).

A espécie *Trichilia emarginata* (Meliaceae) apresenta ampla distribuição geográfica no território brasileiro, ocorrendo principalmente nas regiões Sudeste, Sul e Nordeste. É uma espécie típica de formações florestais úmidas, sendo encontrada em matas ciliares, florestas semidecíduais e áreas de Mata Atlântica. Sua presença também se estende a países vizinhos da América do Sul, como Paraguai, Bolívia e Argentina, onde ocupa ambientes semelhantes. Essa ampla distribuição reflete a capacidade adaptativa da espécie a diferentes condições edafoclimáticas, o que reforça sua importância ecológica nos ecossistemas florestais tropicais e subtropicais. A Figura abaixo apresenta o mapa de distribuição geográfica de *Trichilia emarginata*, evidenciando as principais regiões de ocorrência da espécie.

Figura 4 - Distribuição geográfica de *Trichilia emarginata*



Fonte: Autor (2025).

A espécie *Trichilia emarginata* é endêmica do Brasil, ou seja, é uma espécie nativa do país. As ocorrências confirmadas estão localizadas em algumas regiões do Nordeste, mais especificamente na Bahia, no Ceará, Maranhão, Paraíba e Pernambuco, no Sudeste pode ser encontrada em São Paulo, Minas Gerais, no Rio de Janeiro e no Espírito Santo. Os domínios fitogeográficos são Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. (CNCFlora, 2021).

## 2.2 INFLAMAÇÃO

A iniciação do processo inflamatório está diretamente relacionada à atuação dos macrófagos, os quais, em conjunto com células residentes nos tecidos, promovem a liberação de diversas substâncias biologicamente ativas conhecidas como mediadores inflamatórios. Esses mediadores são responsáveis por alterar a funcionalidade de tecidos e órgãos, desencadeando os efeitos característicos da inflamação (Medzhitov, 2008). Tais compostos são derivados do metabolismo do ácido araquidônico (AA), que é processado por três principais vias enzimáticas: cicloxigenases (COX), lipoxigenases (LOX) e citocromo P450 (Wang *et al.*, 2021).

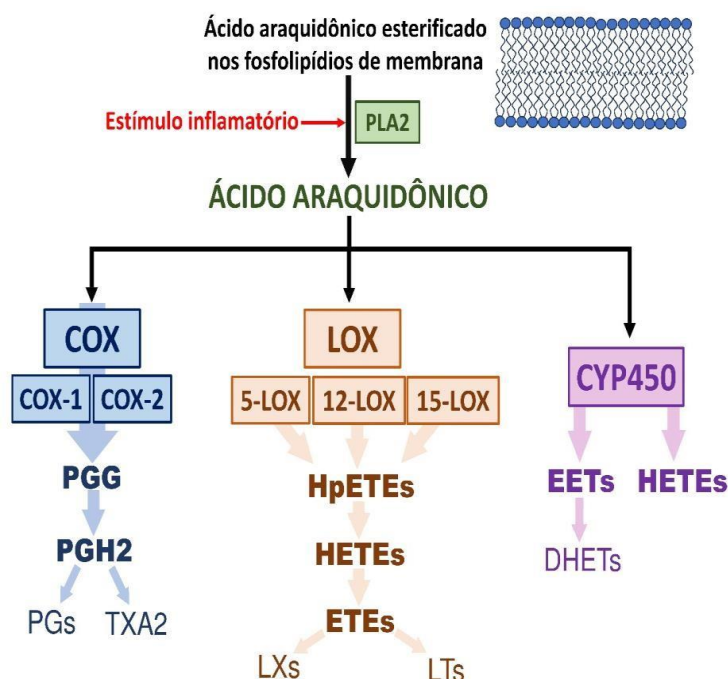
A inflamação é um processo biológico complexo e essencial, que atua como mecanismo de defesa do organismo frente a estímulos de natureza biológica, química ou física. Embora diversos componentes celulares e moleculares estejam envolvidos em sua ativação e regulação, muitos dos eventos que compõem esse processo ainda não foram totalmente esclarecidos, mantendo-se como foco de investigações científicas (Germolec *et al.*, 2018). A fase aguda da resposta inflamatória é caracterizada pela liberação de mediadores inflamatórios — substâncias biologicamente ativas responsáveis pelas manifestações clínicas clássicas da inflamação, como dor, rubor, edema e calor (Serhan; Chiang; Van Dyke, 2008). Esses mediadores também desempenham papel fundamental na amplificação da resposta inflamatória, promovendo o recrutamento de leucócitos, a liberação de citocinas pró-inflamatórias e a ativação de células do sistema imune, com o objetivo de combater e eliminar os agentes patogênicos. Posteriormente, a resolução do processo inflamatório ocorre por meio da produção e ação de mediadores pró-resolução, os quais atuam restaurando o equilíbrio e controlando a

atividade inflamatória (Hanna; Hafez, 2018; Tallima; El Ridi, 2018).

Os mediadores inflamatórios são derivados do metabolismo do ácido araquidônico (AA), o qual é processado por três principais vias enzimáticas: cicloxigenases (COX), lipoxigenases (LOX) e citocromo P450 (Wang *et al.*, 2021). As cicloxigenases possuem duas isoformas principais, COX-1 e COX-2, que atuam sobre o AA livre para produzir prostanóides, como a prostaglandina E2 (PGE2), entre outros mediadores associados às manifestações inflamatórias clássicas, incluindo dor, febre e edema (Hanna; Hafez, 2018; Hansen *et al.*, 2012). Em termos funcionais, a COX 1 está envolvida na manutenção da homeostase fisiológica, enquanto a COX-2 é induzida em situações inflamatórias, embora também possa ser expressa constitutivamente em certos tipos celulares (Carvalho *et al.*, 2022).

No caso das lipoxigenases, quatro isoformas são descritas: 5-LOX, 8-LOX, 12-LOX e 15-LOX. Dentre essas, a 5-LOX é responsável pela síntese de leucotrienos (LTs), incluindo LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> e LTE<sub>4</sub> (Wang *et al.*, 2021). O leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), em particular, apresenta potente atividade quimiotática sobre leucócitos, promovendo seu recrutamento aos tecidos inflamados, contribuindo tanto para a resposta de defesa antimicrobiana quanto para a modulação do sistema imune (Wan *et al.*, 2017). A figura abaixo representa de forma esquemática o metabolismo do ácido araquidônico. A via das lipoxigenases (LOX) está envolvida na metabolização do ácido araquidônico (AA) por meio das isoformas enzimáticas 5-LOX, 8-LOX, 12-LOX e 15-LOX. Essas enzimas promovem a inserção de oxigênio molecular na estrutura do AA, originando quatro diferentes ácidos hidroperoxieicosatetraenóicos (HpETEs): 5-HpETE, 8-HpETE, 12-HpETE e 15-HpETE, respectivamente. Posteriormente, os HpETEs são zidos por peroxidases, gerando os ácidos monohidroperoxieicosatetraenóicos (HETEs), os quais são convertidos em metabólitos bioativos, como leucotrienos (LTs), lipoxinas (LXs) e hepoxilinas (Wang *et al.*, 2021).

Figura 5 - Representação esquemática do metabolismo do ácido araquidônico



Fonte: Autor (2025).

Durante a fase aguda da resposta inflamatória, células do sistema imunológico são recrutadas para o local da lesão em uma sequência coordenada de eventos celulares e moleculares. Quando a lesão é de baixa intensidade, essa resposta aguda pode ser suficiente para neutralizar o agente agressor e iniciar os processos de reparo tecidual. Contudo, em casos de exposição prolongada ao estímulo inflamatório ou quando há falhas na regulação da resposta, a inflamação pode evoluir para a fase crônica. Nessa condição, há potencial para dano tecidual persistente e desenvolvimento de fibrose. A inflamação crônica está implicada na fisiopatologia de diversas doenças, incluindo artrite, asma, aterosclerose, enfermidades autoimunes, diabetes, câncer e também no processo de envelhecimento (Germolec *et al.*, 2018).

## 2.3 ANTI-INFLAMATÓRIOS

O uso terapêutico de substâncias para o alívio da dor e febre, manifestações clássicas da inflamação, remonta a cerca de 3500 anos, com o emprego da casca de salgueiro por egípcios e sumérios — posteriormente relacionada à origem da aspirina. Em 1828, Johann Buchner isolou da casca um composto denominado salicina. Em 1838, Raffaele Piria converteu esse composto em ácido salicílico, que foi então modificado por Charles Gerhardt, em 1852, pela adição de um grupo acetil, resultando na primeira forma sintética do ácido acetilsalicílico (aspirina) (Desborough; Keeling, 2017).

Com o avanço no entendimento dos mecanismos inflamatórios, verificou-se que o ácido acetilsalicílico atua como inibidor não seletivo das enzimas cicloxigenases COX-1 e COX-2. Fármacos com esse mecanismo de ação são classificados como anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) não seletivos, ou tradicionais, incluindo diclofenaco, ibuprofeno, indometacina e cetoprofeno (Kroesen *et al.*, 2017). Esses medicamentos bloqueiam a síntese de tromboxanos e prostaglandinas, que estão envolvidos em processos como adesão plaquetária, vasodilatação, febre e percepção da dor. Entretanto, a inibição da COX-1 também reduz a produção de prostaglandinas gastroprotetoras, o que pode causar efeitos adversos no trato gastrointestinal, especialmente em indivíduos com histórico de úlceras pépticas (Ghlichloo; Gerriets, 2019). Para reduzir os efeitos adversos associados à inibição da COX-1, especialmente os relacionados à integridade da mucosa gástrica, foram desenvolvidos os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) seletivos, que atuam especificamente sobre a COX-2. Exemplos dessa classe incluem o celecoxibe e o rofecoxibe. No entanto, seu uso foi associado a um aumento no risco de eventos cardiovasculares, em razão da redução na produção de prostaglandina I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>), vasodilatadora e inibidora da agregação plaquetária, e ao aumento relativo de tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), um potente agente agregante (Jacob *et al.*, 2018).

As prostaglandinas derivadas tanto da COX-1 quanto da COX-2 também desempenham papéis na regulação hemodinâmica renal. Embora não causem efeitos adversos em indivíduos com função renal preservada, o uso de AINEs pode agravar disfunções renais preexistentes (Ghlichloo; Gerriets, 2019). Além disso, a

inibição seletiva de uma via do metabolismo do ácido araquidônico (AA) pode redirecionar o substrato para vias alternativas, como a via das lipoxigenases (LOX), aumentando a produção de leucotrienos — mediadores associados a processos alérgicos e à asma (Ahmadi *et al.*, 2022). Diante disso, compostos com ação dual, capazes de inibir simultaneamente as enzimas COX-2 e 5-LOX, têm sido propostos como promissores por apresentarem potencial terapêutico com menor incidência de efeitos adversos (Jacob *et al.*, 2018).

Além dos AINEs, os corticosteroides representam uma importante classe de anti-inflamatórios, atuando por meio da inibição da enzima fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), o que bloqueia a liberação de AA e, conseqüentemente, a síntese de todos os seus derivados. (Hodgens; Sharman, 2023).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL VEGETAL

As partes aéreas de *T. emarginata* foram coletadas em setembro de 2022, em um remanescente de vegetação de Mata Atlântica localizado no município de Alfenas, Minas Gerais, Brasil (coordenadas geográficas: 21°25'45"S, 45°56'47"W; altitude: aproximadamente 900 m). O material coletado foi autenticado pelo Professor Dr. Marcelo Polo, e uma exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL) sob o número de tomo UALF 1127 (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado — SisGen — <https://sisgen.gov.br> — código A589C85).

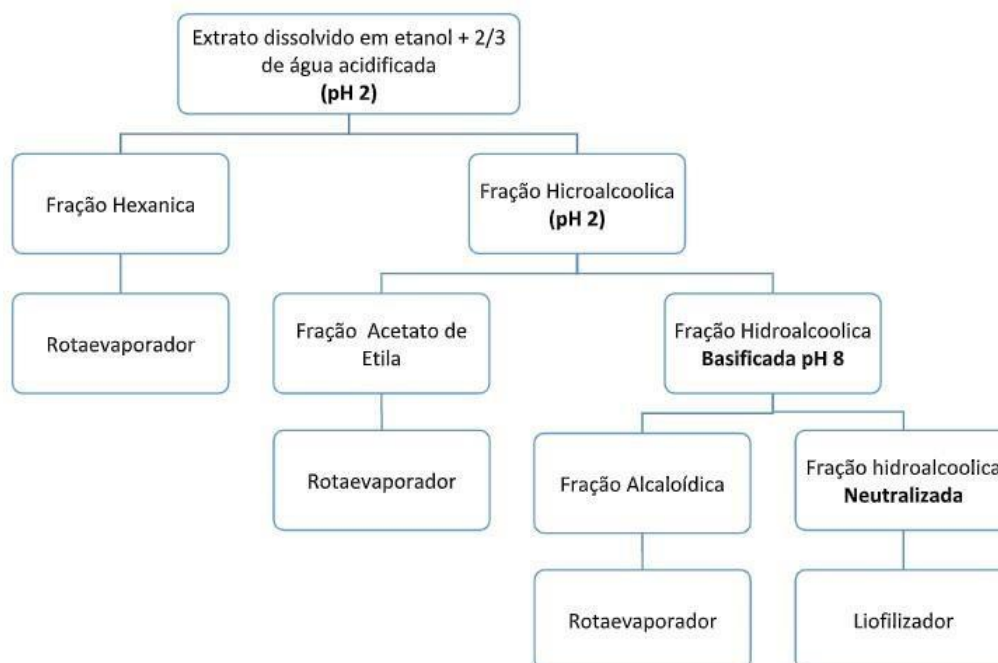
O material vegetal foi limpo e seco em estufa de circulação de ar a 45 °C por 72 horas, até atingir massa constante. Em seguida, o material seco foi moído em moinho de facas até obter um pó fino. Aproximadamente 500 g do material pulverizado foram submetidos à maceração com etanol 70% (EtOH 70%) à temperatura ambiente, com troca do solvente a cada 48 horas, totalizando cinco extrações sucessivas. Após cada ciclo, a mistura foi filtrada, e os filtrados combinados foram concentrados sob pressão reduzida a temperaturas inferiores a 45 °C, resultando em cerca de 40 g do extrato etanólico bruto (CE) das folhas de *T. emarginata*.

#### 3.2 PARTIÇÃO DO EXTRATO BRUTO DE *TRICHILIA EMARGINATA*

O CE das folhas de *T. emarginata* foi submetido a um processo de partição líquido-líquido para obtenção das frações hexânica (HEX), acetato de etila (ACT), clorofórmica (CHLO) e hidroalcoólica (HAL) (Quadro 1). Inicialmente, uma quantidade de 15 g do extrato bruto foi dissolvida em 80 mL de etanol. A essa solução, foram adicionados 160 mL de água acidificada (pH ~2) para garantir completa solubilização. A mistura hidroetanólica resultante foi transferida para um funil de separação e extraída sucessivamente com hexano (um terço do volume da

fase hidroetanólica), em triplicata, para obtenção da fração HEX. A fase aquosa remanescente foi então submetida ao mesmo procedimento de extração líquido-líquido com acetato de etila, também em triplicata, para obtenção da fração ACT. Após a remoção dos solventes orgânicos, a fase hidroalcoólica residual foi basificada com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 5% (pH ~9) e extraída com clorofórmio, separando os compostos apolares dos constituintes polares remanescentes. A fração CHLO foi coletada, e a fase aquosa restante foi neutralizada (pH ~7), concentrada sob pressão reduzida, congelada e liofilizada, originando a fração HAL. Todas as frações orgânicas foram individualmente concentradas sob pressão reduzida utilizando um evaporador rotativo. A fração HAL foi liofilizada. Todas as frações, bem como o extrato bruto (CE), foram armazenadas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até as análises posteriores.

Quadro 1 - Obtenção das frações



Fonte: Autor (2025).

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO POR HPLC-UV-DAD

Os perfis cromatográficos foram obtidos por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com sistema de detecção por arranjo de diodos (UV-DAD). As análises foram realizadas em um sistema Shimadzu Prominence HPLC, equipado com duas bombas LC-20AD, um dessorvedor DGU-20A 3R, um amostrador automático SIL-20A HT, um forno de coluna CTO-20A, um detector de arranjo de diodos SPD-M20A (DAD) e um controlador CBM-20. Para cada análise, 1 mg do extrato ou fração foi dissolvido em 1 mL de água ultrapura, particionado com hexano grau HPLC para remoção de componentes apolares e filtrado através de uma membrana de PTFE de 0,45 µm. Um branco foi preparado utilizando acetonitrila (ACN) em proporção 1:1 com água ultrapura, nas mesmas condições.

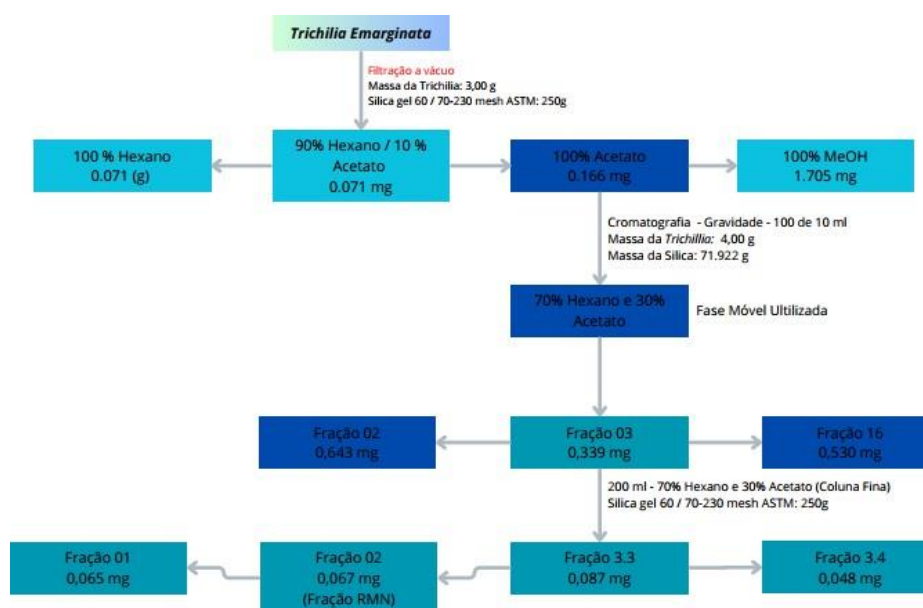
A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna de fase reversa C18 (Shimpack CLC-ODS(M), 5 µm, 4,6 mm × 250 mm), utilizando água ultrapura acidificada com 0,1% de ácido acético grau HPLC como fase móvel aquosa e acetonitrila (ACN) como modificador orgânico. Foi aplicado um gradiente linear exploratório, iniciando com 5% de ACN e aumentando até 100% em 50 minutos, com vazão de 1,0 mL/min e volume de injeção de 20 µL.

### 3.4 ISOLAMENTO

O CE das folhas de *T. emarginata* foi submetido à cromatografia em coluna para o isolamento de metabólitos. Aproximadamente 3 g do extrato foram aplicados sobre uma coluna de sílica gel (malha 230–400), sendo eluídos com um gradiente de polaridade crescente utilizando hexano (HEX), acetato de etila (ACT) e metanol (MeOH) (Quadro 2). A eluição foi realizada manualmente, com frações coletadas de forma sistemática e monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) em placas de sílica gel. A caracterização dos metabólitos foi baseada nos dados espectrais obtidos por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (<sup>1</sup>H NMR) e por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (HPLC-HRMS). Os espectros de RMN foram obtidos em um espectrômetro Bruker de 7,05 Tesla, modelo AC-300, no Laboratório de RMN da Unifal-MG. As amostras foram

analisadas em tubos de 5 mm, diluídas em metanol deuterado ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e dimetilsulfóxido deuterado ( $\text{DMSO-d}_6$ ). A caracterização foi complementada por meio de um sistema de cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC) acoplado a um espectrômetro de massas de alta resolução (HRMS).

Quadro 2 – Fluxograma de isolamento



Fonte: Autor (2025).

### 3.5 ENSAIO ANTI-INFLAMATÓRIO

O sangue venoso periférico foi coletado de voluntários saudáveis, com idade entre 20 e 35 anos, que relataram não fazerem uso de medicamentos anti-inflamatórios. Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, e o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alfenas (CAAE: 89325818.1.0000.5142). O ensaio foi conduzido conforme descrito em estudos anteriores da literatura de Rosa *et al.*, 2021; Nicácio *et al.*, 2022; Katchborian- Neto *et al.*, 2023; de Oliveira Silva *et al.*, 2024, resumidamente, em uma placa de 96 poços, 35  $\mu\text{L}$  de cada solução teste

foram adicionados aos poços individuais: solução salina tamponada com fosfato (PBS 1x) como controle negativo; dexametasona e indometacina ( $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) como controles positivos; e soluções aquosas dos extratos ( $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Em seguida, foram adicionados  $280 \mu\text{L}$  de sangue heparinizado recém-coletado por poço, seguidos de  $35 \mu\text{L}$  de solução de estímulo inflamatório contendo lipopolissacarídeo (LPS, E. coli O26:B6,  $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e ionóforo de cálcio ( $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). As placas foram então incubadas em estufa com 5% de  $\text{CO}_2$  a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  por 24 horas. Após a incubação, a placa foi centrifugada a  $172 \times g$  (1000 rpm) por 5 minutos a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ . Os sobrenadantes ( $180 \mu\text{L}$  por poço) foram transferidos para microtubos de 1,5 mL e armazenados a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  até o processamento posterior. Para a precipitação de proteínas, as amostras dos plasmas congelados, foram liofilizadas por 4 horas, depois ressuscendidas com  $280 \mu\text{L}$  de uma solução fria de ACN/MeOH (1:1, v/v) contendo o padrão interno Limaprost ( $30 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). A mistura foi sonicada por 60 segundos, vortexada por 30 segundos e centrifugada a  $15.332 \times g$  (10.000 rpm) por 10 minutos a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ . Uma alíquota de  $200 \mu\text{L}$  do sobrenadante foi diluída em 1,8 mL de água ultrapura contendo 0,1% de ácido acético e mantida sob gelo e protegida da luz até a extração em fase sólida (SPE). A SPE foi realizada com cartuchos Supelclean LC-18 (100 mg). Os cartuchos foram condicionados com 2 mL de metanol e equilibrados com 2 mL de água ultrapura (0,1% ácido acético). As amostras diluídas foram carregadas nos cartuchos, lavadas com 1 mL de água (0,1% ácido acético) e eluídas com 1 mL de metanol (0,1% ácido acético) em microtubos de 1,5 mL. Os eluatos foram armazenados a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  e posteriormente secos completamente em centrífuga a vácuo por aproximadamente 3 horas e 15 minutos, protegidos da luz. As amostras secas foram armazenadas a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  até as análises.

### 3.5.1 Ressuspensão e Análise

As amostras secas foram reconstituídas em  $50 \mu\text{L}$  de acetonitrila e analisadas dentro de 3 horas utilizando um sistema UPLC-MS/MS Shimadzu 8030 (Kyoto, Japão), operando no modo de ionização negativa. Um volume de  $30 \mu\text{L}$  foi injetado em uma coluna Kinetex® C18 ( $1,7 \mu\text{m}$ ,  $2,1 \times 100 \text{ mm}$ ), mantida a  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ . As fases móveis consistiam em: (A) água ultrapura com 0,1% de ácido fórmico, e (B)

acetonitrila. Foi aplicado um gradiente de eluição com o seguinte perfil: aumento de 40% para 100% de fase B entre 0–3 minutos, manutenção em 100% B até 4 minutos, retorno a 40% B em 0,5 minuto, seguido de re-equilíbrio por 4 minutos. O tempo total de corrida foi de 8,5 minutos, com uma vazão constante de 300  $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Os sinais dos analitos foram normalizados com base no padrão interno Limaprost. Os dados normalizados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism® v. 8.0.1 (La Jolla, CA, EUA), aplicando-se ANOVA de uma via (one-way ANOVA) para detectar diferenças significativas entre os grupos ( $p < 0,05$ ), seguida do teste de comparações múltiplas de Dunnett, a fim de identificar quais grupos de tratamento diferiram significativamente do controle negativo. Nos casos em que foram necessárias comparações adicionais entre pares, foi aplicado o teste de Mann–Whitney (U test).

### 3.6 AQUISIÇÃO DE DADOS

O CE e as frações de *T. emarginata*, foram analisados por meio de um sistema de Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplado a Espectrometria de Massas de Alta Resolução (UPLC-HRMS). As análises foram realizadas em um sistema Waters ACQUITY UPLC, acoplado a um espectrômetro de massas Xevo G2-XS QToF (Waters Corp., Milford, MA, EUA), operando em modo de ionização por eletrospray (ESI) negativo, com varredura completa (full-scan) e modo MS<sup>E</sup> (aquisição de dados independente) habilitados para a detecção não direcionada de metabólitos. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna de fase reversa C18 (2,1 × 100 mm, 1,7  $\mu\text{m}$ ), mantida a 40 °C. As fases móveis consistiram em: (A) água ultrapura com 0,1% de ácido fórmico, (B) acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico. Foi aplicado um gradiente linear de 5% a 100% da fase B ao longo de 15 minutos, seguido por 2 minutos a 100% B e re-equilíbrio em 5% B, com vazão constante de 0,3  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . O volume de injeção foi de 5  $\mu\text{L}$ . A aquisição dos dados espectrométricos foi realizada na faixa de  $m/z$  100–1200, com os seguintes parâmetros operacionais: voltagem do capilar: 2,0 kV, voltagem do cone: 40 V, temperatura da fonte: 120 °C, temperatura de dessolvatação: 350 °C, fluxo de gás de dessolvatação: 800  $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ .

A correção de massa de bloqueio (lock mass) foi realizada utilizando leucina encefalina ( $[M-H]^- = 554,2615$ ). A aquisição dos dados e o controle instrumental foram realizados com o software MassLynx 4.1 (Waters Corp.). O processamento e análise dos dados foram realizados utilizando o pipeline DIA-IntOpenStream (Katchborian- Neto et al., 2024). Em resumo, os dados brutos do Waters MSE foram convertidos para o formato universal mzML utilizando a ferramenta Waters2mzML. As amostras foram processadas no MZmine 3.8.1, com as etapas de detecção de picos, deconvolução, alinhamento e agrupamento isotópico, utilizando os parâmetros padrão, seguidos por filtro de características (feature filtering).

A anotação putativa dos metabólitos foi realizada com base no banco de dados interno *TrichiliaDB*, compilado a partir de compostos previamente reportados na família Meliaceae, utilizando o formato SMILES. Apenas características com alta acurácia de massa ( $\pm 5$  ppm) foram consideradas. Os parâmetros definidos incluíram: tolerância de  $m/z$  de 0,005  $m/z$  ou 10 ppm, carga máxima: 1, uso de adutos: habilitado, para modo positivo:  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$ ,  $[M+K]^+$ ,  $[M+NH_4]^+$ , para modo negativo:  $[M-H]^-$ ,  $[M+Cl]^-$ ,  $[M+Br]^-$ ,  $[M+FA]^-$ . As tabelas de características (feature tables) foram exportadas, contendo informações sobre área dos picos alinhados, massa exata, tempo de retenção, fórmula molecular e anotação química para todas as amostras. Para a construção da *TrichiliaDB*, utilizou-se a plataforma KNIME, conforme descrito no pipeline DIA-IntOpenStream (Katchborian-Neto et al., 2024), com dados provenientes de bases como: Dictionary of Natural Products (DNP), KNApSAcK molecular system, LOTUS-DB, NuBBE-DB. As estruturas químicas reportadas neste estudo foram processadas e desenhadas utilizando o software ChemDraw Ultra 12.0 (Perkin Elmer Informatics™, Cambridge, Inglaterra).

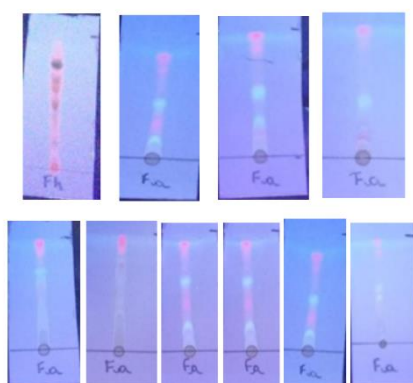
## 4 RESULTADOS

### 4.1 FITOQUÍMICA

Para o preparo do extrato bruto da espécie *T. emarginata* foi realizada a coleta da planta, nos entornos de Alfenas — MG. Em seguida, o material vegetal foi seco em estufa a 45°C, com circulação de ar, por cerca de 72 horas, até atingir massa constante. Em seguida, o material seco foi triturado em moinhos de facas e submetido à maceração em etanol, com uma média de cinco trocas de solvente, à temperatura ambiente. Após a filtração, o solvente foi evaporado, obtendo-se o extrato bruto etanólico das folhas de *T. emarginata*.

Inicialmente, o extrato bruto foi submetido à purificação por cromatografia em coluna, CCD, que é uma técnica de cromatografia usada para separar compostos químicos que estão presentes em uma amostra, porém é uma técnica simples que foi utilizada para iniciar a parte experimental do trabalho. Foram realizadas várias CCDs de diferentes proporções de solventes para identificar e escolher qual seria a melhor proporção a ser utilizada para os próximos passos do experimento. As proporções de solventes utilizadas para a realização da CCD foram as seguintes apresentadas na figura abaixo.

Figura 6 - CCDs realizadas para análise do perfil metabólico do CE



Fonte: Autor (2025).

A Tabela a seguir apresenta os dados referentes às frações obtidas a partir do extrato de *Trichilia emarginata*, incluindo o nome atribuído a cada fração, o respectivo código de identificação e o rendimento percentual obtido após o

fracionamento. Essas informações são fundamentais para o controle e rastreabilidade das amostras durante as etapas subsequentes de análise química e biológica. Além disso, a comparação entre os rendimentos permite avaliar a eficiência do processo de separação e a concentração relativa dos compostos em cada fração, fornecendo subsídios importantes para a seleção das amostras com maior potencial de atividade biológica.

Tabela 1 – Codificação adotada e rendimento do extrato bruto e suas frações

| Extrato e Frações                   | Códigos | Rendimentos |
|-------------------------------------|---------|-------------|
| Extrato <i>Trichilia emarginata</i> | EXT     | 40g         |
| Fração acetato de etila             | FAc     | 8g – 20%    |
| Fração hexânica                     | Fhex    | 10g – 25%   |
| Fração clorofórmica                 | FCI     | 5g – 12,5%  |
| Fração hidroalcoólica               | Fhd     | 17g – 42,5% |

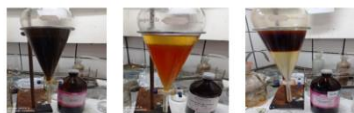
Fonte: Autor (2025).

O extrato bruto da espécie em estudo, foi submetido a uma partição líquido-líquido, resultando nas frações hexânica, acetato de etila, clorofórmica e hidroalcoólica. Inicialmente, 80 mL de etanol foram usados para solubilizar 15 gramas do extrato, seguido pela adição de 160 mL de água acidificada (pH 2) para completa solubilização. Em um funil de separação, o extrato foi misturado com hexano (1/3 do volume do extrato) para realizar a extração líquido-líquido, procedimento repetido três vezes. O mesmo método foi aplicado utilizando acetato de etila. Após o término das extrações, as frações obtidas foram concentradas em um rotoevaporador.

A fração hidroalcoólica foi basificada com hidróxido de sódio 5% e, em seguida, clorofórmio foi adicionado ao funil de separação para isolar os alcaloides das substâncias polares. A fração hidroalcoólica, após neutralização (pH 7), foi concentrada no rotaevaporador, congelada e liofilizada. Tanto o extrato quanto as frações foram armazenados a -20°C. Abaixo segue a imagem da etapa de extração

líquido-líquido, onde foi possível obter as frações Hexânica, Acetato de Etila, Clorofórmica e Hidroalcoólica.

Figura 7 - Extração líquido-líquido do CE de *Trichilia emarginata*



Fonte: Autor (2025).

A cromatografia em coluna é a mais antiga técnica cromatográfica. É uma técnica para separação de componentes entre duas fases, sólida e líquida, baseada na capacidade de adsorção e solubilidade. O processo ocorre em uma coluna de vidro ou metal, geralmente, com uma torneira na parte inferior. A coluna foi preenchida com um adsorvente adequado que permite o fluxo do solvente. A mistura de extrato com um pouco de sílica foi adicionada na coluna com um solvente menos polar, que no caso foi o hexano.

Foi utilizada uma sequência contínua de vários eluentes com o objetivo de aumentar a polaridade e conseqüentemente, o poder de arraste de substâncias mais polares. Assim, os diferentes componentes da mistura foram movendo em velocidades distintas, conforme a afinidade com o adsorvente e eluente, o que tornou possível a separação dos componentes. Foram coletados 36 frascos durante a realização das separações. A seguir a imagem representando a cromatografia em coluna.

Figura 8 - Cromatografia em coluna do CE de *Trichilia emarginata*

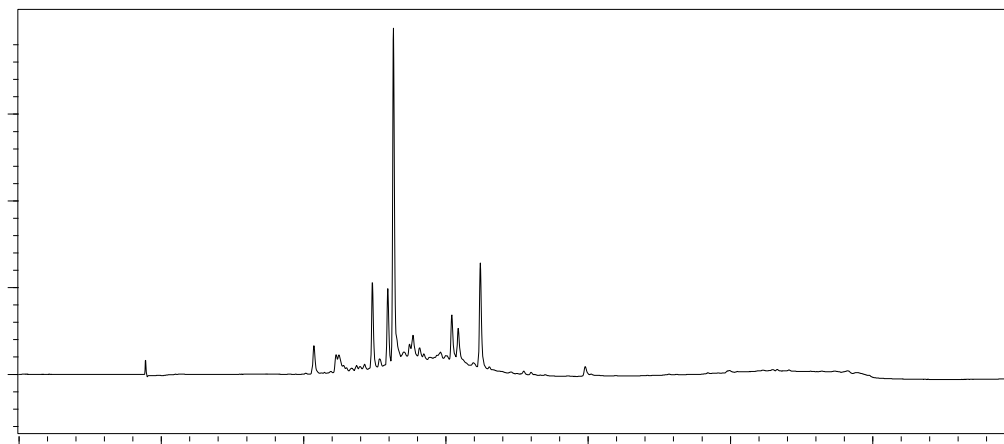


Fonte: Autor (2025).

Posterior à realização da coluna cromatográfica do extrato bruto, foi realizada a junção das subfrações e em seguida, o perfil cromatográfico do extrato EXT e das frações FAc, Fhex, FCl e Fhd foram obtidos por HPLC-UV-DAD. O extrato bruto da *Trichilia emarginata* foi isolado pelo sistema de cromatografia líquida, que consistiu em um cromatógrafo Shimadzu de duas bombas modelo LC20AR Prominence equipado com um amostrador automático SIL-10AF, um forno de coluna CTO20A, um módulo de comunicação CBM-20A, um desgaseificador em linha DGU- 20A3R, e um detector de arranjo de diodos (PDA) - SPD-M20A. Para processamento de dados utilizou-se o software Lab solution®. As análises foram realizadas em uma coluna Shim-pack VP-ODS (250 × 4,6 mm id, 5 µm; Shimadzu) com fluxo de 1,0 mL.min<sup>-1</sup> e as separações preparativas por HPLC foram realizadas usando um Shim-pack VP Coluna -ODS (250 × 20 mm id, 5 µm; Shimadzu) a um fluxo de 10 mL.min<sup>-1</sup>. Os espectros de RMN foram obtidos em Bruker 300 (300 MHz para <sup>1</sup>H e 75 MHz para <sup>13</sup>C). As amostras foram dissolvidas em MeOH deuterado.

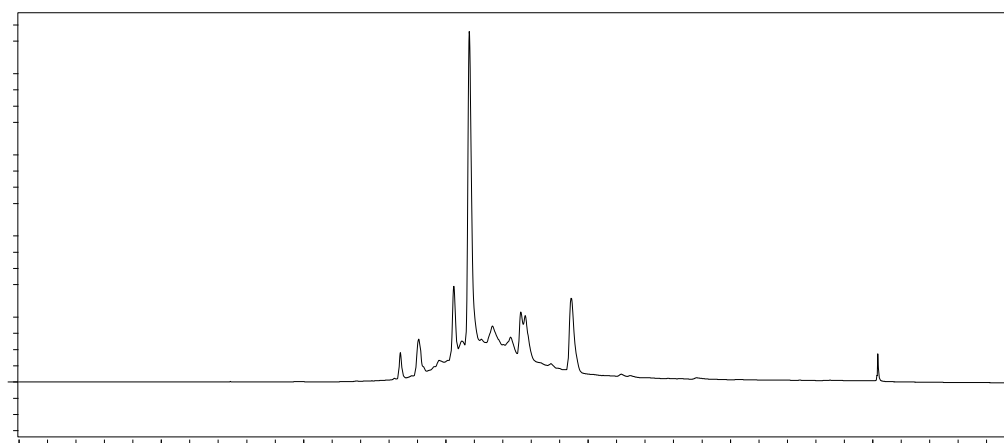
As análises cromatográficas das frações foram analisadas em um UHPLC acoplado a espectrofotômetro de UV-DAD. Para a análise, foram injetados uma alíquota de 20 µL via autoinjeter da amostra preparada na concentração de 1 mg/mL em MeOH, filtrada em filtro de PVDF de 0,45 µm de diâmetro de poro. As análises foram feitas utilizando a coluna de fase reversa C18 analítica, 250 x 4,6 mm, 5 µm de diâmetro de partícula no primeiro momento, e depois esta foi substituída por uma coluna C18 analítica (Athena C18-WP), 4,6 x 150 mm, e um diâmetro de partícula de 5 µm. A vazão da fase móvel foi de 1,0 mL/min de um gradiente de ACN e H<sub>2</sub>O a 0,1% de ácido acético. O gradiente foi de 5% de ACN à 100% em 40 minutos para análise do perfil. Os cromatogramas serão representados conforme a melhor resolução obtida das análises, sendo observadas no comprimento de onda de 320nm. Abaixo os cromatogramas da fração clorofórmica, com comprimento de onda em 320nm.

Figura 9 - Cromatograma da fração clorofórmica coluna analítica, 320 nm



Fonte: Autor (2025).

Figura 10 - Cromatograma da fração clorofórmica, semipreparativa, 320 nm



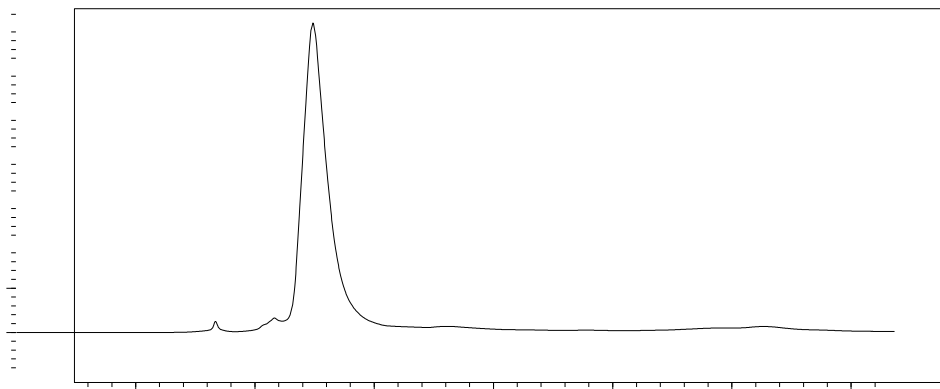
Fonte: Autor (2025).

A análise cromatográfica da fração foi realizada em um UHPLC acoplado a espectrofotômetro de UV-DAD. Para a análise, foi injetada uma alíquota de 20  $\mu\text{L}$  via auto-injetor da amostra preparada na concentração de 1 mg/mL em MeOH, filtrada em filtro de PVDF de 0,45  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro. As análises foram feitas utilizando a coluna de fase reversa C18 analítica, 250 x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$  de diâmetro de partícula no primeiro momento, e depois esta foi substituída por uma coluna C18 analítica (Athena C18-WP), 4,6 x 150 mm, e um diâmetro de partícula de 5  $\mu\text{m}$ . A

vazão da fase móvel foi de 1,0 mL/min de um gradiente de ACN e H<sub>2</sub>O a 0,1% de ácido acético. O gradiente foi de 5% de ACN à 100% em 40 min.

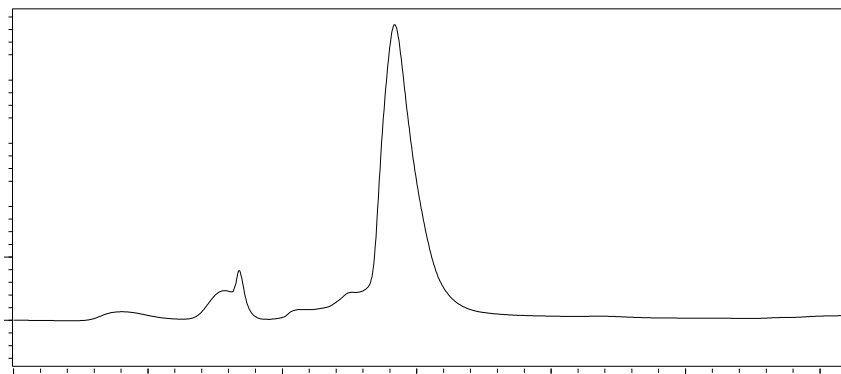
Em decorrência da análise do perfil cromatográfico da fração clorofórmica, foi otimizado um método para realização do isolamento, em que foram escolhidos três picos de maior intensidade, maior massa e maior tempo de retenção, o pico 1 foi coletado com um tempo de corrida de 11 minutos e 40 segundos até 12 minutos e 50 segundos. Em seguida, o pico 2 foi coletado entre 13 minutos e 50 segundos, até 15 minutos e 24 segundos, já o pico 3 foi coletado em seguida, com um tempo de 15 minutos e 26 segundos até 17 minutos e 10 segundos. O pico 3 foi selecionado como pico majoritário, pois possui maior absorção e maior massa. Posterior à análise do perfil cromatográfico da fração clorofórmica ativa, foi escolhido o método para realização do isolamento das substâncias presentes na fração clorofórmica da espécie estudada, o método selecionado foi o isocrático 25% acetonitrila / 75 % água, em 25 minutos, com a coluna semipreparativa. Os cromatogramas do perfil cromatográfico serão representados a seguir nas figuras abaixo.

Figura 11 - Cromatograma do Pico 1, 320 nm



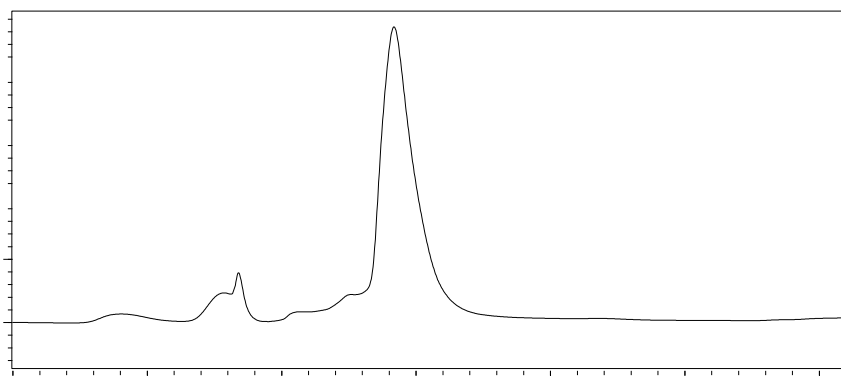
Fonte: Autor (2025).

Figura 12 – Cromatograma do Pico 2, 320 nm



Fonte: Autor (2025).

Figura 13 – Cromatograma do Pico 3, 320 nm



Fonte: Autor (2025).

Este procedimento permitiu isolar três compostos 1 (3,2 mg); 2 (6,6mg) e 3 (7,3 mg), o isolamento foi realizado a partir do extrato bruto de *T. emarginata*. Foi observado que os três picos absorvem em um comprimento de onda de 190-200nm, possivelmente são alcaloides, com base no comprimento de onda da literatura.

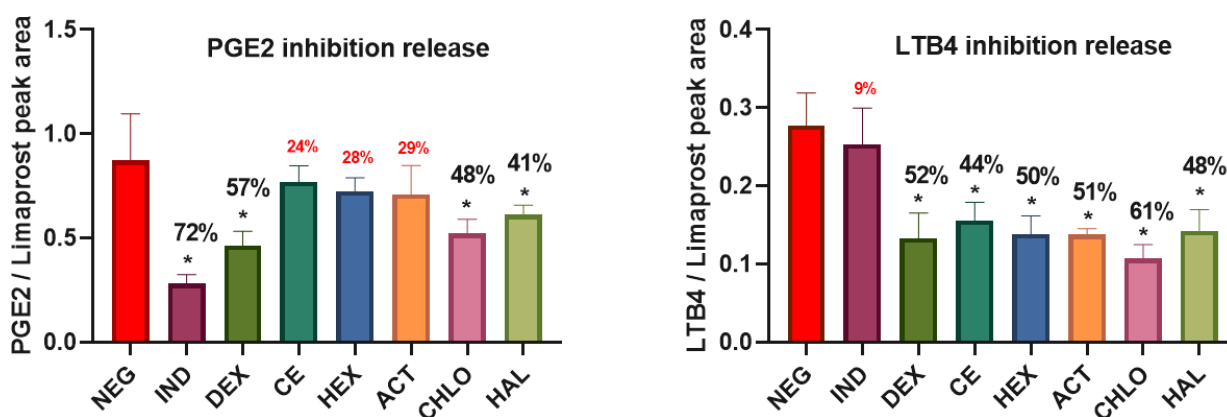
#### 4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA *EX VIVO*

Os resultados da atividade anti-inflamatória *ex vivo* do CE e das frações das folhas de *T. emarginata* foram comparados utilizando análise estatística one-way ANOVA, com teste pós-hoc de comparações múltiplas de Dunnett. Os fármacos de referência avaliados, dexametasona (DEX) e indometacina (IND), exibiram atividade

anti-inflamatória significativa no ensaio de  $PGE_2$ , sendo estatisticamente diferentes do controle negativo (NEG) ( $p < 0,0001$ ). No ensaio de  $LTB_4$ , apenas a DEX apresentou diferença estatística significativa em relação ao controle negativo ( $p < 0,0001$ ), o que é consistente com sua conhecida capacidade de inibir tanto as vias COX quanto LOX conforme Domingos *et al.*, (2019); Rosa *et al.*, (2021), validando assim o protocolo de triagem anti-inflamatória empregado.

No ensaio de  $PGE_2$ , apenas as frações CHLO e HAL apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle negativo ( $p < 0,05$ ), sendo consideradas amostras ativas, com inibição da liberação de  $PGE_2$  de aproximadamente 48% e 41%, respectivamente. Paralelamente, ambas as frações CHLO e HAL também demonstraram potencial inibitório sobre a liberação de  $LTB_4$ , com 61% e 48% de inibição, respectivamente, sendo também estatisticamente diferentes dos controles negativos. Dessa forma, essas frações demonstraram potencial efeito anti-inflamatório dual. Adicionalmente, no ensaio de  $LTB_4$ , o extrato bruto (CE), bem como as frações HEX e ACT, também apresentaram atividade anti-inflamatória significativa ( $p < 0,05$ ).

Figura 14 – Porcentagem de inibição de  $PGE_2$  e  $LTB_4$ , do CE e frações



Fonte: Autor (2025).

Atividade anti-inflamatória *ex vivo* e porcentagem de inibição da liberação de  $PGE_2$  e  $LTB_4$  pelo extrato bruto (CE) e pelas frações das folhas de *T. emarginata*. Os fármacos de referência utilizados foram dexametasona (DEX) e indometacina (IND). Os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (DP). A análise

estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida do teste de comparações múltiplas de Dunnett. Os valores marcados com (\*) indicam diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) em comparação ao controle negativo (NEG).

#### 4.3 PERFIL METABÓLICO POR UPLC-HRMS

Inicialmente, foi realizada a anotação automática utilizando o *TrichiliaDB*, um banco de dados interno desenvolvido para o pareamento das massas monoisotópicas dos precursores (MS1) (Alves; Katchborian-Neto *et al.*, 2024). Essa metodologia favorece a identificação de compostos relacionados à quimiosistemática, que estuda os metabólitos produzidos pelos seres vivos — como alcaloides, terpenoides, flavonoides e outros compostos secundários, é usada como ferramenta para auxiliar na classificação e identificação taxonômica das espécies, uma vez que o banco de dados é composto por produtos naturais previamente isolados de espécies do gênero ou da família (Meliaceae). Essa abordagem contribui para minimizar anotações equivocadas, frequentemente observadas em estratégias de identificação automatizadas (Zanatta *et al.*, 2021; Alves, Katchborian-Neto *et al.*, 2024; Katchborian-Neto *et al.*, 2024).

Além disso, a presente anotação de metabólitos fornece uma base para futuras etapas de isolamento de outros compostos com potencial atividade biológica. Neste estudo, demonstramos a anotação de 27 metabólitos (9 detectados em modo ESI<sup>+</sup>, 18 em ESI<sup>-</sup>, dos quais 3 foram detectados em ambos os modos de ionização), todos observados com áreas de pico relevantes. Estes compostos pertencem principalmente às classes dos limonoides, e foram representados na tabela a seguir.

Tabela 2 – Lista de compostos anotados da *T. emarginata*

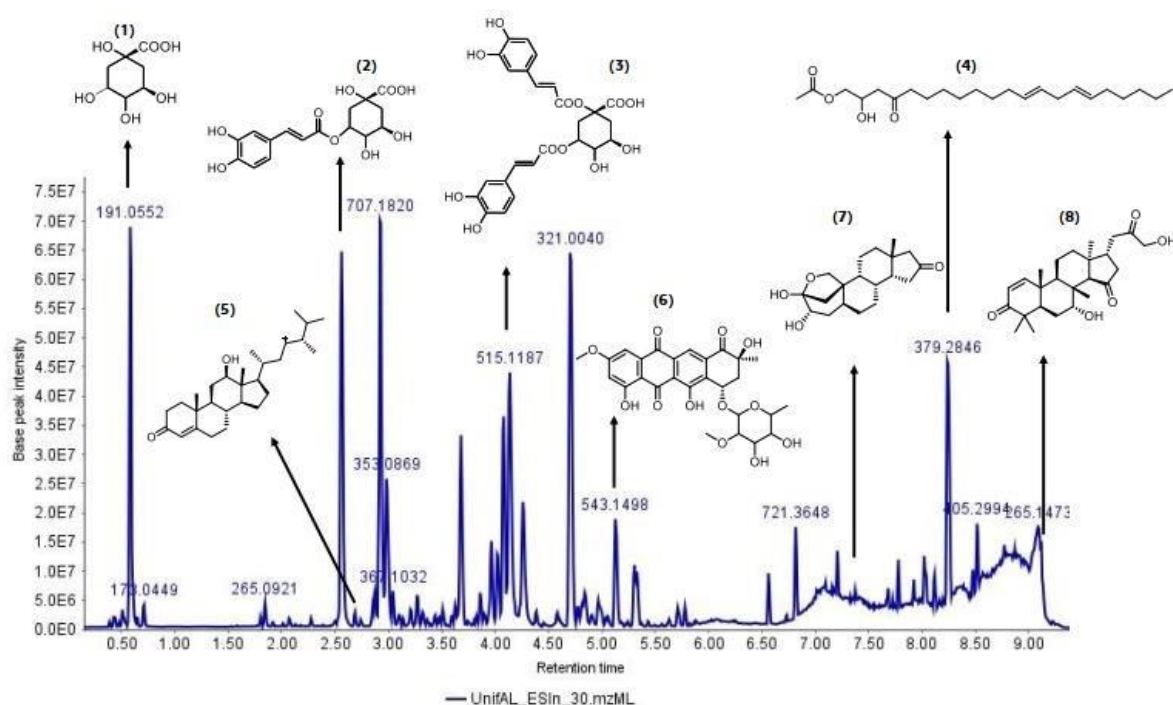
| m/z      | RT <sup>a</sup> | Erro (ppm) |    | Aduto                   | Anotação proposta                 | CE           | ACT              | CHLO         | HAL          |
|----------|-----------------|------------|----|-------------------------|-----------------------------------|--------------|------------------|--------------|--------------|
|          |                 | x          | XX |                         |                                   |              |                  |              |              |
| 707.1822 | 2.92            | x<br>X     | XX | [2M-<br>H] <sup>-</sup> | 5-O-<br>Caffeoylquinic<br>acid    | 1.74E+<br>06 | 1.37E<br>+<br>06 | 2.48E+<br>04 | 3.47E+<br>04 |
| 191.0551 | 0.58            | x<br>X     | XX | [M-<br>H] <sup>-</sup>  | Quinic acid                       | 1.62E+<br>06 | 1.24E<br>+<br>06 | 4.65E+<br>05 | 1.63E+<br>06 |
| 353.0869 | 2.92            | x<br>X     | XX | [M-<br>H] <sup>-</sup>  | 5-O-<br>Caffeoylquinic<br>acid    | 1.28E+<br>06 | 1.12E<br>+<br>06 | 1.34E+<br>05 | 1.96E+<br>05 |
| 451.1024 | 4.23            | x<br>X     | XX | [M-<br>H] <sup>-</sup>  | Cinchonain Ia-c                   | 2.27E+<br>05 | 4.59E<br>+<br>03 | 1.78E+<br>02 | 2.53E+<br>01 |
| 353.0869 | 2.56            | x<br>X     | XX | [M-<br>H] <sup>-</sup>  | 5-O-<br>Caffeoylquinic<br>acid    | 2.02E+<br>06 | 1.04E<br>+<br>06 | 1.90E+<br>05 | 2.95E+<br>05 |
| 335.0764 | 3.63            | x<br>X     | XX | [2M-<br>H] <sup>-</sup> | LTS0182197                        | 2.01E+<br>05 | 1.83E<br>+<br>05 | 2.56E+<br>04 | 4.53E+<br>02 |
| 341.1079 | 0.60            | x<br>X     | XX | [M+B<br>r] <sup>-</sup> | NuBBE_1153                        | 1.15E+<br>05 | 2.61E<br>+<br>03 | 2.64E+<br>04 | 8.97E+<br>04 |
| 515.1190 | 4.14            | x<br>X     | XX | [M-<br>H] <sup>-</sup>  | 5-Di-O-<br>caffeoylquinic<br>acid | 1.75E+<br>06 | 7.58E<br>+<br>05 | 2.75E+<br>04 | 8.36E+<br>03 |
| 413.1654 | 2.68            | x<br>X     | XX | [M+B<br>r] <sup>-</sup> | NuBBE_1548                        | 8.45E+<br>04 | 1.89E<br>+<br>03 | 1.72E+<br>04 | 7.38E+<br>04 |
| 543.2801 | 4.99            | x<br>X     | XX | [2M-<br>H] <sup>-</sup> | LTS0258617                        | 8.15E+<br>04 | 1.66E<br>+<br>03 | 3.55E+<br>05 | 3.59E+<br>04 |
| 543.2804 | 5.70            | x<br>X     | XX | [2M-<br>H] <sup>-</sup> | LTS0258617                        | 5.76E+<br>04 | 2.41E+<br>03     | 5.96E+<br>05 | 7.92E+<br>03 |
| 543.2805 | 4.83            | x<br>X     | XX | [2M-<br>H] <sup>-</sup> | LTS0258617                        | 5.67E+<br>04 | 1.16E+<br>04     | 1.13E+<br>05 | 2.48E+<br>04 |
| 353.2260 | 2.56            | x<br>X     | XX | [M+C<br>l] <sup>-</sup> | NuBBE_1157                        | 5.49E+<br>04 | 3.11E+<br>04     | 4.16E+<br>03 | 6.17E+<br>03 |
| 319.1910 | 7.36            | x<br>X     | XX | [M-<br>H] <sup>-</sup>  | NuBBE_1511                        | 4.76E+<br>04 | 6.77E+<br>02     | 0.00E+<br>00 | 4.74E+<br>02 |
| 197.0450 | 2.29            | x<br>X     | XX | [M-<br>H] <sup>-</sup>  | Syringic acid                     | 1.95E+<br>03 | 3.63E+<br>03     | 3.29E+<br>02 | 4.43E+<br>01 |
| 673.2831 | 5.41            | x<br>X     | XX | [M-<br>H] <sup>-</sup>  | Trichilin A                       | 1.92E+<br>02 | 0.00E+<br>00     | 3.81E+<br>03 | 1.18E+<br>01 |
| 146.0816 | 0.50            | x<br>X     | XX | [M+H<br>] <sup>+</sup>  | NuBBE_1298_                       | 7.46E+<br>05 | 3.64E+<br>05     | 6.76E+<br>05 | 4.78E+<br>05 |
| 130.0867 | 0.57            | x<br>X     | XX | [M+H<br>] <sup>+</sup>  | NuBBE_1297                        | 1.12E+<br>05 | 2.86E+<br>04     | 2.69E+<br>04 | 3.92E+<br>04 |

Tabela 2 – Lista de compostos anotados da *T. emarginata*

|                 |                 |            |    |                    |   |          |          |          | (Conclusão) |  |  |  |
|-----------------|-----------------|------------|----|--------------------|---|----------|----------|----------|-------------|--|--|--|
| m/z             | RT <sup>a</sup> | Erro (ppm) |    | Aduto              | Anotação proposta   | CE       | ACT      | CHLO     | HAL         |  |  |  |
|                 |                 |            |    |                    |   |          |          |          |             |  |  |  |
| 235.1696        | 6.73            | x          | XX | [M+H] <sup>+</sup> | (5S)-8-(hydroxymethyl)-5-isopropyl-3-methyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-ol | 3.14E+04 | 5.10E+04 | 1.72E+04 | 9.25E+03    |  |  |  |
| 235.1696        | 6.52            | x          | XX | [M+H] <sup>+</sup> | (5S)-8-(hydroxymethyl)-5-isopropyl-3-methyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-ol | 8.57E+04 | 1.25E+04 | 5.14E+04 | 1.12E+04    |  |  |  |
| 253.1804<br>549 | 5.94138<br>34   | x<br>X     | XX | [M+H] <sup>+</sup> | NuBBE_984   | 2.20E+04 | 5.83E+04 | 8.37E+04 | 1.71E+04    |  |  |  |

Fonte: Autor (2025).

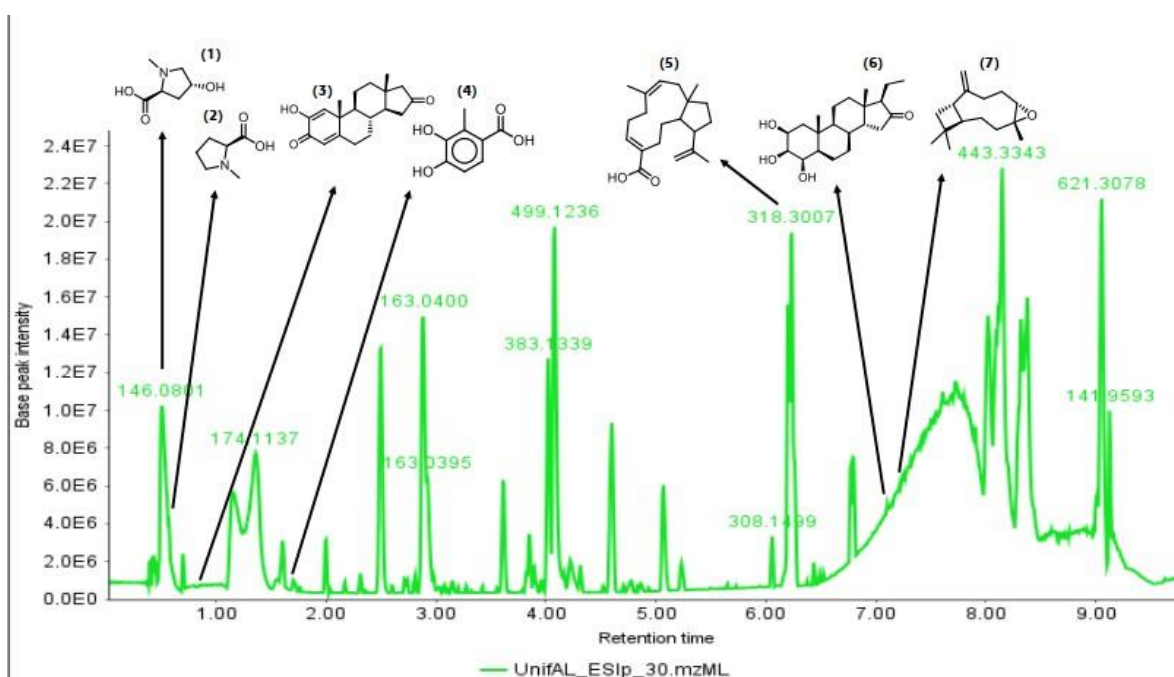
Figura 15 - Cromatograma de íons base do CE, modo negativo



Fonte: Autor (2025).

Cromatograma obtido por LC-MS do extrato (30 mg/mL), no qual é possível observar a distribuição dos principais picos referentes aos metabólitos presentes na amostra. Os tempos de retenção destacados correspondem aos compostos identificados ou putativamente atribuídos com base em suas massas exatas e padrões de fragmentação. A representação das estruturas químicas acima de cada pico evidencia a diversidade de classes presentes no extrato, incluindo derivados fenólicos, ácidos orgânicos, lipídeos e esteroides. Esses resultados confirmam a complexidade química do material analisado e fornecem suporte para a interpretação dos dados apresentados nos capítulos seguintes.

Figura 16 - Cromatograma de íons base do CE, modo positivo

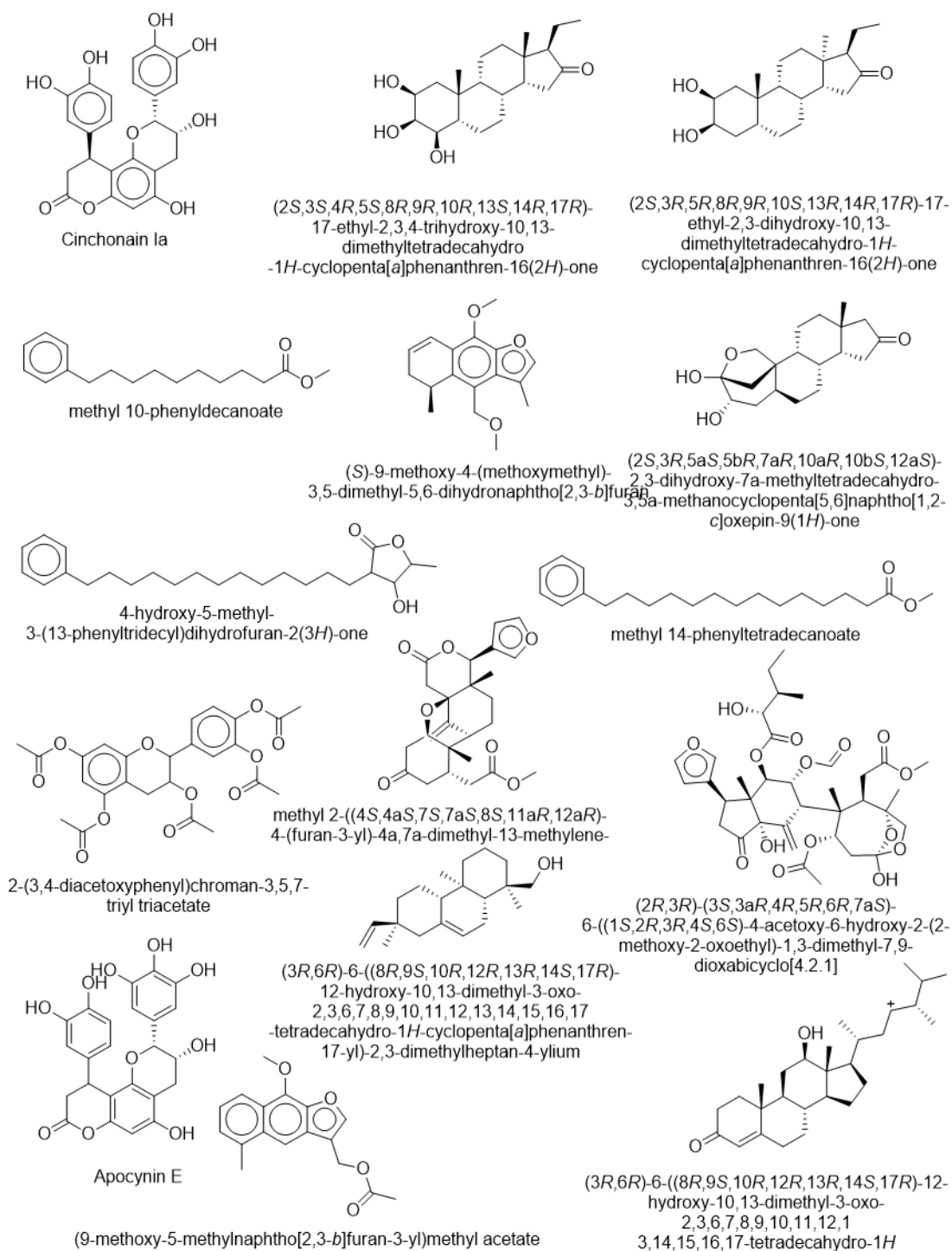


Fonte: Autor (2025).

Cromatograma representativo obtido por LC-MS, evidenciando os picos majoritários do extrato analisado. Os compostos destacados apresentam suas respectivas estruturas químicas e massas exatas (m/z), indicando a diversidade de metabólitos detectados ao longo do tempo de retenção. A distribuição dos sinais demonstra a complexidade química da amostra e a presença de diferentes classes

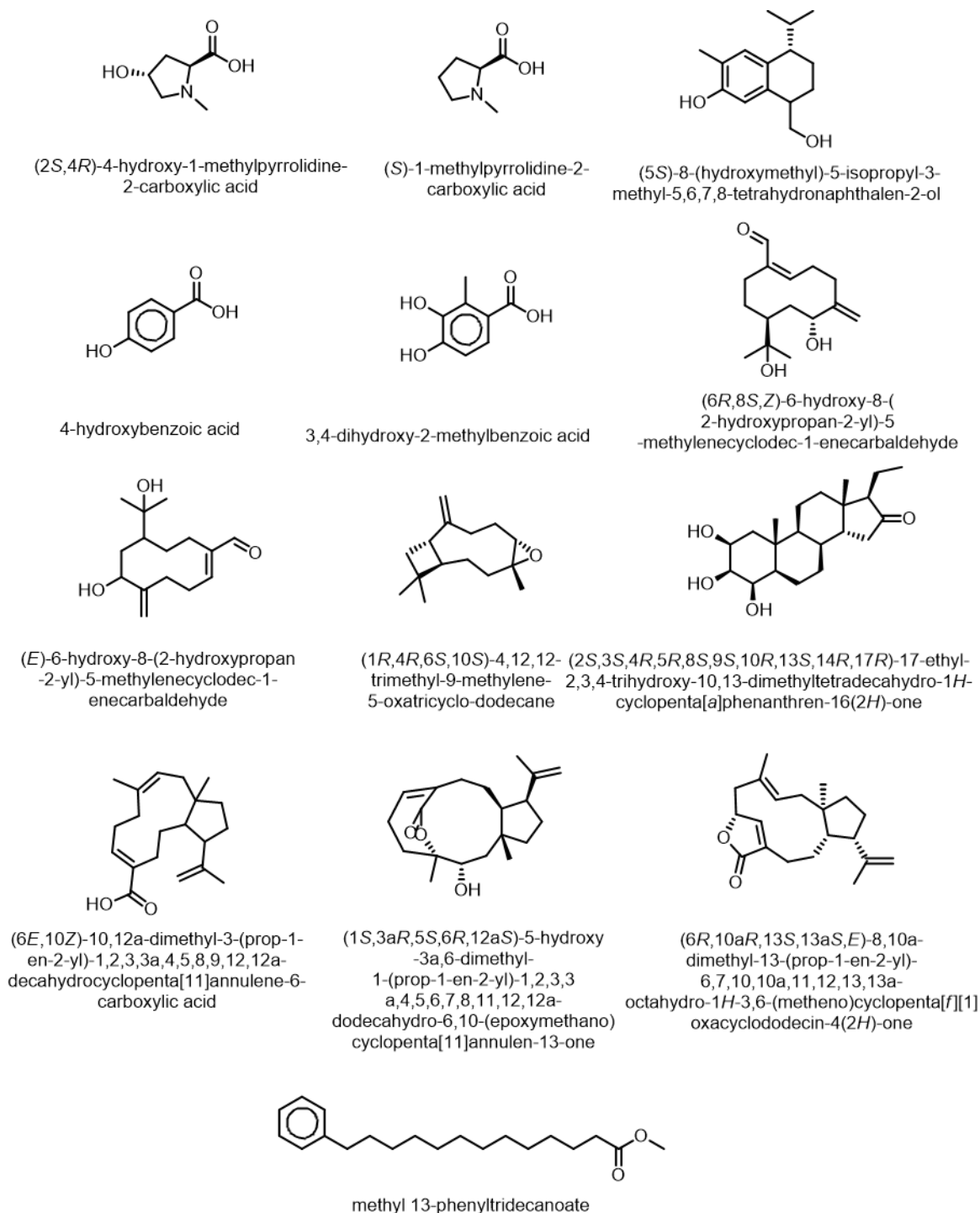
de moléculas.

Figura 17 - Metabólitos anotados no modo de ionização negativo ESI.



Fonte: Autor (2025).

Figura 18 - Metabólitos anotados no modo de ionização positivo ESI<sup>+</sup>.

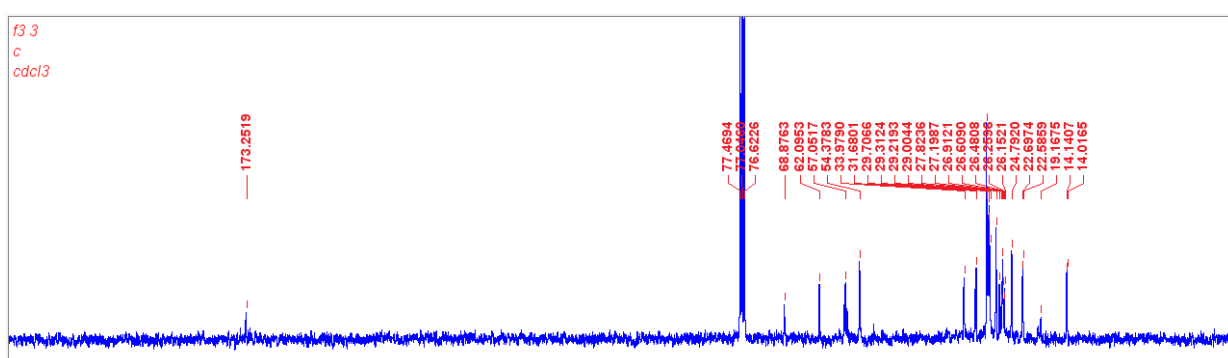


Fonte: Autor (2025).

#### 4.4 ISOLAMENTO DO LIMONOIDE TRITERPENO

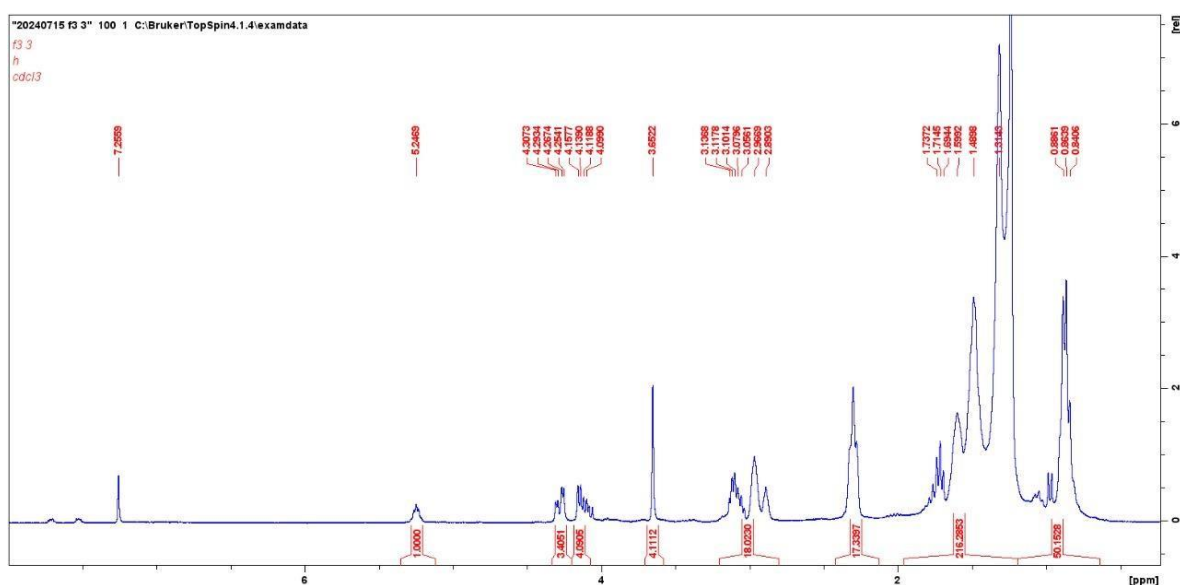
As figuras a seguir apresentam os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  do Composto 1, obtido da amostra isolada F3 e, em seguida, seu respectivo esqueleto carbônico. Um triterpenoide do tipo limonoide com fórmula molecular  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_2$  ( $m/z$   $[\text{ESI}^-] = 413,1654$ , Rt 2,4–2,8 min) foi isolado e caracterizado.

Figura 19 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 1



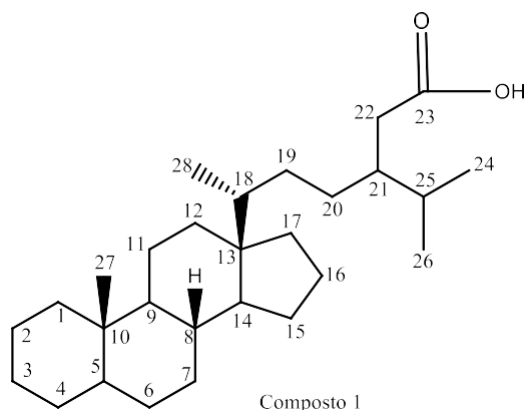
Fonte: Autor (2025).

Figura 20 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 1



Fonte: Autor (2025).

Figura 21 - Esqueleto carbônico do composto 1



(6*R*)-3-isopropyl-6-((8*R*,10*S*,13*S*)-10-methylhexadecahydro-1*H*-cyclopenta[*a*]phenanthren-13-yl)heptanoic acid

Chemical Formula: C<sub>28</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub>

Exact Mass: 416.36543

Molecular Weight: 416.67952

*m/z*: 416.36543 (100.0%), 417.36879 (30.3%), 418.37214 (4.4%)

Elemental Analysis: C, 80.71; H, 11.61; O, 7.68

Fonte: Autor (2025).

No espectro de <sup>13</sup>C, o carbono da função ácido carboxílico da posição 23 ocorre em  $\delta$ C 173,2. Os carbonos metilênicos das posições 4 e 6 estão ressonando no sinal  $\delta$ C 29,5. O sinal  $\delta$ C 24,7 representa os carbonos metilênicos 11 e 16. Os carbonos sp<sup>3</sup> das posições 18 e 25 são representados pelo sinal  $\delta$ C 29,2. Os carbonos metilênicos das posições 1, 2 e 3 são representados, respectivamente, pelos sinais  $\delta$ C 31,6;  $\delta$ C 19,1 e  $\delta$ C 26,4. Os carbonos sp<sup>3</sup> das posições 5 e 9 são representados pelos sinais  $\delta$ C 54,2 e 62,0. Os sinais  $\delta$ C 31,8 e  $\delta$ C 33,9 representam os carbonos das posições 7 e 8. Os carbonos metílicos das posições 24, 26, 27 e 28 são representados, sequencialmente, pelos sinais  $\delta$ C 22,5;  $\delta$ C 22,6;  $\delta$ C 14,0 e  $\delta$ C 14,1. Os carbonos metilênicos das posições 12 e 15 são observados nos sinais  $\delta$ C 32,9 e  $\delta$ C 26,1. Os carbonos metilênicos das posições 19, 20 e 22 estão representados pelos sinais  $\delta$ C 29,3;  $\delta$ C 29,7 e  $\delta$ C 33,9. Os carbonos sp<sup>3</sup> das posições 10, 13, 14 e 21 são observados, respectivamente, nos sinais  $\delta$ C 29,0;  $\delta$ C

57,0;  $\delta$ C 57,2 e  $\delta$ C 54,2. Por fim, o carbono metilênico da posição 17 é representado pelo sinal  $\delta$ C 31,6. A tabela a seguir resume os sinais do espectro de  $^{13}\text{C}$ .

Tabela 3 - Valores de deslocamento dos sinais de  $^{13}\text{C}$  no espectro de RMN

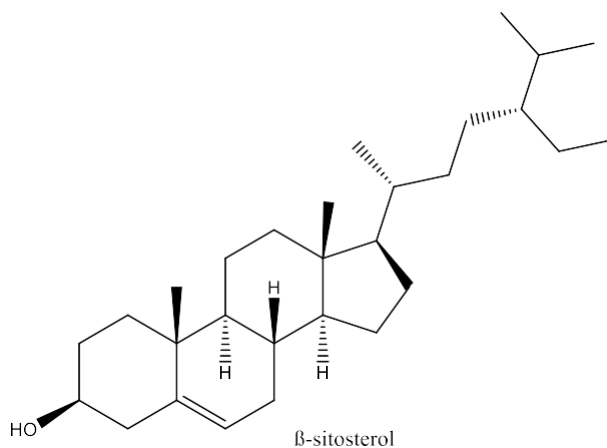
| Posição | $^{13}\text{C}$ (100 Hz) |
|---------|--------------------------|
| 1       | 31,6                     |
| 2       | 19,1                     |
| 3       | 26,4                     |
| 4       | 29,5*                    |
| 5       | 54,2                     |
| 6       | 29,5*                    |
| 7       | 31,8                     |
| 8       | 33,9                     |
| 9       | 62,0                     |
| 10      | 29,0                     |
| 11      | 24,7*                    |
| 12      | 32,9                     |
| 13      | 57,0                     |
| 14      | 57,2                     |
| 15      | 26,1                     |
| 16      | 24,7*                    |
| 17      | 31,6                     |
| 18      | 29,2*                    |
| 19      | 29,3                     |
| 20      | 29,7                     |
| 21      | 54,2                     |
| 22      | 33,9                     |
| 23      | 173,2                    |
| 24      | 22,5                     |
| 25      | 29,2*                    |
| 26      | 22,6                     |
| 27      | 14,0                     |
| 28      | 14,1                     |

Fonte: Autor (2025).

O composto 1 (nome IUPAC Ácido (6R) -3-isopropil-6-((8R,10S,13S) -10-metil- hexadecahidro-13H-ciclopentafenantreno-13-il) heptanóico) é derivado do  $\beta$ -sitosterol, um fitoesterol conhecido na literatura por sua ampla gama de atividades biológicas, como a redução da lipoproteína LDL, conhecida popularmente como

“colesterol ruim” e que é o principal agente causador de aterosclerose em humanos (Jiang *et al.*, 2020).

Figura 22 - Estrutura química do  $\beta$ -sitosterol



Fonte: Autor (2025).

Não foram encontrados dados na literatura sobre a atividade biológica do composto 1. Entretanto, por ser uma molécula derivada do  $\beta$ -sitosterol, estima-se que possua atividade semelhante. O  $\beta$ -sitosterol é um fitoesterol, um tipo de esterol vegetal com estrutura química semelhante ao colesterol, caracterizado por um grupo etil na posição 24 do anel de esterol. Quimicamente, é um pó branco e ceroso, hidrofóbico e solúvel em álcoois. Biologicamente, o  $\beta$ -sitosterol é amplamente distribuído em plantas como abacate, nozes e sementes. Suas propriedades incluem a capacidade de competir com o colesterol pelos sítios de absorção no intestino, resultando em menor absorção de colesterol e redução dos níveis de LDL no sangue. Além disso, inibe a enzima  $5\alpha$ -redutase, diminuindo a conversão de testosterona em di-hidrotestosterona (DHT), o que é benéfico para pacientes com hiperplasia prostática benigna (HPB). Suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes também contribuem para a redução da inflamação e proteção contra danos celulares (Ambavade *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2022).

O estudo conduzido por Gupta (2020), explora as propriedades terapêuticas do  $\beta$ -sitosterol, destacando sua capacidade de reduzir os níveis de colesterol LDL,

sua eficácia no tratamento da hiperplasia prostática benigna (HPB) e seu potencial antioxidante. Na discussão, o autor detalha como o  $\beta$ -sitosterol compete com o colesterol pelos sítios de absorção no intestino, resultando em menor absorção de colesterol e, conseqüentemente, na redução dos níveis de LDL no sangue. Além disso, o  $\beta$ -sitosterol inibe a enzima  $5\alpha$ -redutase, diminuindo a conversão de testosterona em di-hidrotestosterona (DHT), o que é benéfico para pacientes com HPB. O estudo também aborda as propriedades anti-inflamatórias do  $\beta$ -sitosterol, que ajudam a reduzir a inflamação na próstata e em outras partes do corpo. Na conclusão, o autor enfatiza a relevância do  $\beta$ -sitosterol na indústria alimentícia e farmacêutica, destacando seu potencial como componente funcional em alimentos e suplementos dietéticos. A pesquisa conclui que o  $\beta$ -sitosterol possui um amplo espectro de benefícios para a saúde, incluindo a modulação do sistema imunológico, tornando-o um composto de interesse significativo para futuras inovações tecnológicas e terapêuticas.

Já o estudo conduzido por Nandi *et al.* (2024) investiga as propriedades anticancerígenas e outras propriedades biomédicas do  $\beta$ -sitosterol, o artigo destaca a capacidade do  $\beta$ -sitosterol de interferir em múltiplas vias de sinalização celular, incluindo proliferação, ciclo celular, apoptose, sobrevivência, invasão metastática, angiogênese e inflamação. Especificamente, o  $\beta$ -sitosterol modula a expressão de genes e proteínas envolvidos na regulação do ciclo celular e na indução de apoptose, promovendo a morte programada de células cancerígenas. Além disso, o  $\beta$ -sitosterol exerce efeitos quimiossensibilizantes, aumentando a eficácia de tratamentos quimioterápicos ao tornar as células cancerígenas mais suscetíveis aos agentes quimioterápicos. O estudo também aborda as propriedades antioxidantes do  $\beta$ -sitosterol, que ajudam a neutralizar os radicais livres e a proteger as células contra danos oxidativos. Suas propriedades anti-inflamatórias são destacadas pela capacidade de reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias, contribuindo para um ambiente celular menos propício ao desenvolvimento e progressão do câncer. Os autores sugerem que o  $\beta$ -sitosterol pode ser integrado em estratégias terapêuticas combinadas, visando melhorar a eficácia dos tratamentos existentes e reduzir os efeitos colaterais associados à quimioterapia.

## 5 CONCLUSÃO

A busca por alternativas naturais para o tratamento de doenças inflamatórias é uma necessidade crescente, dada a prevalência dessas condições e os efeitos adversos associados ao uso prolongado de anti-inflamatórios tradicionais. A *T. emarginata*, pertencente à família Meliaceae, se destaca por seu potencial terapêutico. Os resultados obtidos indicam que os metabolitos especializados da *T. emarginata* possuem grande potencial farmacológico, justificado pela presença de ação anti-inflamatória *ex vivo*. As frações HEX, ACT, CHLO e HAL obtida do extrato da *T. emarginata* apresentaram atividade anti-inflamatória, atuando na via da inibição da produção de PGE2 e de LTB4. Em relação a composição química, compostos fenólicos, particularmente ácidos clorogênicos, foram predominantemente anotados na fração HAL e no extrato bruto (CE). Paralelamente, limonoides, juntamente com uma variedade de outros terpenos, incluindo triterpenos não limonoides e fitoesteróides, foram confirmados nas frações CHLO e acetato (ACT). Além disso, um limonoide com fórmula molecular  $C_{28}H_{46}O_2$  ( $m/z$  [ESI<sup>-</sup>] = 413,1654, Rt 2,4–2,8 min) foi isolado e caracterizado. Este estudo também destaca a relevância da biodiversidade brasileira como fonte de novos fármacos, e a necessidade de políticas que incentivem tanto a conservação dessas espécies quanto o investimento em pesquisa científica. Assim, este trabalho contribui para o avanço da bioprospecção de plantas medicinais e para o desenvolvimento de novos tratamentos com base em substâncias naturais.

## REFERÊNCIAS

- ABDULKHALEQ, L. A. *et al.* The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. **Veterinary World**, v. 11, n. 5, p. 627-635, 2018.
- AFSHAR, K. *et al.* Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and nonopioids for acute renal colic (Protocol). **Cochrane Library**, v. 2, p. 1-9, 2010.
- AHMADU, A. A.; ONANUGA, A.; AQUINO, R. Flavonoide glycosides from the leaves of *Cissus ibuensis* Hook (Vitaceae). **The African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 7, n. 3, p. 225-230, 2010.
- AHMED, S.; HASAN, M. M.; MAHMOOD, A. Z. Antiurolithiatic plants in different countries and cultures. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 5, n. 1, p. 102-115, 2016.
- AHMED, S.; HASAN, M. M. Exploring globally used antiurolithiatic plants of S to Z families: Including Saxifragaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae, Urticaceae, Vitaceae, Zingiberaceae and Zygophyllaceae. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, n. 4, p. 1430-1436, 2017.
- ALBERT, A. *et al.* Expression of heterologous oxalate decarboxylase in HEK293 cells confers protection against oxalate induced oxidative stress as a therapeutic approach for calcium oxalate stone disease. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 426-433, 2017.
- ALELIGN, T.; PETROS, B. Kidney stone disease: an update on current concepts. **Advances in Urology**, p. 1-12, 2018.
- ALMEIDA, G.S.S.A. *et al.* Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pela comunidade do sisal no município de Catu, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 4, p. 856-865, 2014.

ANDRADE, E. C. B.; ALVES, S. P.; TAKASE, I. Extração sequencial de cobre, ferro e zinco em ervas medicinais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 844-848, 2005.

ANSARALI, S.; MANIKANDAN, S.; LAKSHMANAN, M. G. G. Review on phytochemical and pharmacological activities of the genus *Cissus* Linn. **International Journal of Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 4, p. 1-7, 2016.

ASEM, B. D. *et al.* Isolation of compounds from the aqueous methanol extract of *Cissus javana* DC leaves and determination of its trace element content through wet digestion. **Current Advances in Chemistry and Biochemistry**, v. 5, p. 140-146, 2014.

BARROS, M.E.; SCHOR, N.; BOIM, M.A. Effects of an aqueous extract from *Phyllanthus niruri* on calcium oxalate crystallization *in vitro*. **Urological Research**, v. 30, p. 374-9, 2003.

BELTRAME, F.L. *et al.* Estudo Fitoquímico e avaliação do potencial antiabético do *Cissus sicyoides* L. (Vitaceae). **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 783-785, 2001.

BELTRAME, F.; FERREIRA, A.; CORTEZ, D. Coumarin glycoside from *Cissus sicyoides*. **Natural Product Letters**, v. 16, n. 4, p. 213-216, 2002.

BESERRA, F. P. *et al.* *Cissus sicyoides*: pharmacological mechanisms involved in the antiinflammatory and antidiarrheal activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 2, p. 149, 2016.

CARBALLO, D. E. *et al.* The effects of storage and hop extract on aroma and flavour compounds in Balkan-style sausages packed under a CO<sub>2</sub>-containing anaerobic atmosphere. **Heliyon**, v. 6, n. 10, 2020.

CARDINAL, S. *et al.* Anti-inflammatory properties of quebecol and its derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 2, p. 440-444, 2016.

CALIXTO, J. B.; OTUKI, M. F.; SANTOS, A. R. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part I. Action on arachidonic acid pathway, nitric oxide and nuclear factor kappa B (NF-kappaB). **Planta Medica**, v. 69, p. 973-983, 2003.

CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. **Anais Da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 3, p. 1-7, 2019.

CHAGAS-PAULA, D. A. *et al.* Chlorogenic acids from *Tithonia diversifolia* demonstrate better antiinflammatory effect than indomethacin and its sesquiterpene lactones. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 2, p. 355-362, 2011.

CHAGAS-PAULA, D. A.; ZHANG, T.; EDRADA-EBEL, R. A Metabolomic approach to target compounds from the asteraceae family for dual cox and lox inhibition. **Metabolites**, v. 5, p. 404-430, 2015.

CHANG, C-W. *et al.* Analgesic and anti-inflammatory activities of methanol extract of *Cissus repens* in mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, n.135379, p. 1-10, 2012.

DAS, P. *et al.* Potential therapeutic activity of *Phlogacanthus thyriformis* Hardow (Mabb) flower extract and its biofabricated silver nanoparticles against chemically induced urolithiasis in male wistar rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 621-629, 2017.

DOS SANTOS VARJÃO, M. T. *et al.* Leishmanicidal activity of fungal bioproducts: A systematic review. **Fungal Biology Reviews**, v. 40, p. 91–113, 2022.

DUAN, X. *et al.* Differentiation of calcium oxalate monohydrate and calcium oxalate dihydrate stones using quantitative morphological information from micro-computerized and clinical computerized tomography. **Journal of Urology**, v. 189, p. 2350-2356, 2013.

ERICKSON, S. B.; VRTISKA, T. J.; LIESKE, J. C. Effect of Cystone® on urinary composition and stone formation over a one year period. **Phytomedicine**, v. 18, n. 10, p. 863-867, 2011.

EVAN, A. P. Physiopathology and etiology of stone formation in the kidney and the urinary tract. **Pediatric Nephrology**, v. 25, p. 831-841, 2010.

FERNANDES, G.; BANU, J. Medicinal properties of plants from the genus *Cissus*: A review. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 16, p. 3080-3086, 2012.

FROCHOT, V.; DAUDON, M. Clinical value of crystalluria and quantitative morphoconstitutional analysis of urinary calculi. **International Journal of Surgery**, v. 36, p. 624-632, 2016.

GARCIA, M.D. *et al.* Anti-inflammatory activity of *Agave intermixta* Trel. and *Cissus sicyoides* L., species used in the caribbean traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 71, p. 395400, 2000.

GERAGHTY, R.; WOOD, K.; SAYER, J. A. Calcium oxalate crystal deposition in the kidney: identification, causes and consequences. **Urolithiasis**, v. 48, n. 5, p. 377-384, 2020.

GHELANI, H; CHAPALA, M; JADAV, P. Diuretic and antiurolithiatic activities of an ethanolic extract of *Acorus calamus* L. rhizome in experimental animal models. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 6, n. 4, p. 431-436, 2016.

GOMES, P. N. *et al.* Profilaxia da litíase renal. **Acta Urológica**, v. 22, n. 3, p. 47-56, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 10, n. 2, p. 374-381, 2007.

GROSS, A. V. *et al.* Medicinal Plants for the “ Nerves ”: A review of ethnobotanical studies carried out in south Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 33, n. 2, p. 269-282, 2019.

GUL, Z. MONGA, M. Medical and dietary therapy for kidney stone prevention. **Jornal Coreano de Urologia**, v. 55, n. 12, p.775-779, 2014.

GUPTA, A. K.; KOTHIYAL, P.; PANDEY, S. Evaluation of antiurolithiatic potential of *Kigelia africana* fruits in albino rats. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 36, p. 197-205, 2011.

JAINU, M. DEVI, C. S. S. *In vitro.* and *in vivo.* evaluation of free-radical scavenging potential of *Cissus quadrangularis*. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 9, p. 773-779, 2005.

JAMES, O. *et al.* Anti-ulcerogenic and anti-inflammatory activity of *Cissus multistriata* extract in experimental animals. **British Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 4, n. 3, p. 74-79, 2013.

KALEESWARAN, B. *et al.* Evaluation of anti-urolithiatic potential of ethyl acetate extract of *Pedaliium murex* L. on struvite crystal (kidney stone). **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 9, n. 1, p. 24-37, 2018.

KARAMAKAR, D.; PATKI, P. S. Evaluation of efficacy and safety of a herbal formulation Cystone<sup>®</sup> in the management of urolithiasis: Meta-analysis of 50 clinical studies. **The Internet Journal of Alternative Medicine**, v. 8, n. 1, 2010.

KHAN, S. R. *et al.* Kidney stones. **Nature**, v. 2, p. 37-54, 2016.

KUMAR, V. S. *et al.* *In-vivo* Anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Cissus repanda*. **Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology**, v. 1, n. 5, p. 668, 2013.

LAIKANGBAM, R. *et al.* Phytomedicine for controlling urolithiatic agents. **Journal of Experimental Sciences**, v. 1, n. 10, 2010.

LEKSHMI, R K; RAJESH, R; MINI, S. Ethyl acetate fraction of *Cissus quadrangularis* stem ameliorates hyperglycaemia-mediated oxidative stress and suppresses inflammatory response in nicotinamide/streptozotocin induced type 2 diabetic rats. **Phytomedicine**, v. 14, n. 9, p. 1-9, 2015.

LOMBARDI, J. A. Typification of names of South American Cissus (Vitaceae). **Taxon**, v. 44, n. 2, p. 193-206, 1995.

LOMBARDI, J. A. Types of names in Ampelocissus and Cissus (Vitaceae) referring to taxa in the Caribbean, Central and N. America. **Taxon**, v. 46, p. 423-432, 1997.

LOMBARDI, J. A. Vitaceae: gêneros Ampelocissus, Ampelopsis e Cissus. **Flora neotropica monograph 80**. New York Botanical Garden, Bronx, New York, USA, 2000.

LOMBARDI, J. A. Systematics of vitaceae in south america. **Botany**, v. 85, n. 8, p. 712-721, 2007.

LUZ, J.M.Q; EHLERT, P.A.D; INNECCO, R. Horário de colheita e tempo de secagem da alfavacacravo. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 539-542, 2009.

MADALENO, I. M. Traditional Medicinal Knowledge in India and Malaysia. **Pharmacognosy Communications**, v. 5, n. 2, 2015.

MAIER, M. E. Design and synthesis of analogues of natural products. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 13, p. 5302-5343, 2015.

MARTEL-PELLETIER, J. *et al.* Therapeutic role of dual inhibitors of 5-lox and cox, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 62, p. 501-509, 2003.

MEDZHITOV, R. Overview essay inflammation, new adventures of an old flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771-776, 2010.

MEIRER, K.; STEINHILBER, D.; PROSCHAK, E. Inhibitors of the arachidonic acid cascade: Interfering with multiple pathways. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, v. 114, n. 1, p. 83-91, 2014.

MENG, H.; LIU, Y.; LAI, L. Diverse ways of perturbing the human arachidonic acid metabolic network to control inflammation. **Accounts of Chemical Research**, v. 48, n. 8, p. 2242-2250, 2015.

MÉNDEZ-LÓPEZ, L. F. *et al.* Metabolic profile and evaluation of biological activities of extracts from the stems of *Cissus trifoliata*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, p. 930, 2020.

MIKAWLRANG, K; HUMAR, S. VANDANA. Current scenario of urolithiasis and the use of medicinal plants as antiurolithiatic agents in Manipur (North East India): A Review. **International Journal of Herbal Medicine**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2014.

MULAY, S. R.; ANDERS, H-J. Crystal nephropathies: mechanisms of crystal-induced kidney injury. **Nature**, v. 13, p. 226-240, 2014.

MULAY, S. R.; EVAN. A.; ANDERS, H-J. Molecular mechanisms of crystal-related kidney inflammation and injury. Implications for cholesterol embolism, crystalline nephropathies and kidney stone disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v.29, p. 507-514, 2014.

NAVARRO, F. F. ***Cissus gongyloides*: Caracterização farmacognóstica e investigação de aspectos preliminares da seguridade da utilização de extratos aquosos das folhas e caules**. 2009. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, SP, 2009.

NEWMAN, D. J; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 629-661, 2016.

NINGOMBAM, D.; LYNGDOH, T. S.; DEVI, M. D. The evaluation of calcium oxalate crystal nucleation, aggregation and phytochemical compositions of *Cissus adnata* roxb. and *Cissus discolor* blume. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 12, n. 1, 2022.

PACHALY, M. A.; BAENA, C. P.; CARVALHO, M. Therapy of nephrolithiasis: where is the evidence from clinical trials? **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 38, n. 1, p. 99-106, 2016.

PALLIO, G. *et al.* Use of a balanced dual cyclooxygenase-1/2 and 5-lipoxygenase inhibitor in experimental colitis. **European Journal of Pharmacology**, v. 789, p. 152-162, 2016.

PANTHONG, A. *et al.* Analgesic, anti-inflammatory and venotonic effects of *Cissus quadrangularis* Linn. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 264-270, 2007.

PATHOMWICHAIWAT, T. *et al.* Alkaline phosphatase activity-guided isolation of active compounds and new dammarane-type triterpenes from *Cissus quadrangularis* hexane extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 160, p. 52-60, 2015.

PINTO, A. *et al.* Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002.

PIRKER, H. *et al.* Transformation of traditional knowledge of medicinal plants: the case of Tyroleans (Austria) who migrated to Australia, Brazil and Peru. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 8, n. 44, p. 1-26, 2012.

POLO, M. M. A.; MARTIN, M. A.; GOMES, J. G. Calcium renal lithiasis: metabolic diagnosis and medical treatment. **São Paulo Medical**, v. 131, n. 1, p. 46-53, 2013.

PRANCE, G. T. What is ethnobotany today? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 32. p. 209-216, 1991.

RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koognan, 1996.

RODRIGUES, J. G.; LOMBARDI, A. J.; LOVATO, B. M. Phylogeny of *Cissus* (Vitaceae) focusing on South American species. **Taxon**, v. 63, n. 2, p. 287-298, 2014.

ROSA, W. *et al.* *In vivo* anti-inflammatory activity of Fabaceae species extracts screened by a new *ex vivo* assay using human whole blood. **Phytochemical Analysis**, v. 1, p. pca.3031, 2021.

SAHA, S.; VERMA, R. J. Inhibition of calcium oxalate crystallisation *in vitro* by an extract of *Bergenia ciliata*. **Journal of Urology**, v. 11, n. 2, p. 187-192, 2013.

SAIFAH, E.; KELLEY, C. J.; LEARY, J. D. Constituents of the leaves of *Cissus rheifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 46, n. 3, p. 353-358, 1983.

SALGADO, M. J.; MANSI, N. D.; GAGLIARDI, A. *Cissus sicyoides*: Analysis of Glycemic Control in Diabetic Rats Through Biomarkers. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 4, p. 722-727, 2009.

SANTO, A. *et al.* Gas exchange of two CAM species of the genus *Cissus* (vitaceae) differing in morphological features. **Photosynthesis Research**, v. 13, n. 2, p. 113-124, 1987.

SANTOS, M. F. C. *et al.* New bicyclic [3.2.1] octane neolignans derivatives from *Aniba firmula* with potent *in vivo* anti-inflammatory activity on account of dual inhibition of PGE2 production and cell recruitment. **Phytochemistry Letters**, v. 30, p. 31-37, 2019.

SALEM, P. P. O. *et al.* Anti-urolithiatic and anti-inflammatory activities through a different mechanism of actions of *Cissus gongylodes* corroborated its ethnopharmacological historic. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 253, n. 112655, p. 1-11, 2020.

SCARDELATO, A. J.; LEGRAMANDI, V. H. P.; DO SACRAMENTO, L. V. S. Ocorrência de cristais em plantas medicinais utilizadas no tratamento da nefrolitíase: Paradoxo?. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 2, p. 161-168, 2013.

SERHAN, C. N.; CHIANG, N.; DYKE, T. E. Van. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators, **Nature**, v. 8, 2008.

SHARMA, I.; KHAN, W.; AHMAD, S. *In vitro* and *ex vivo* approach for anti-urolithiatic potential of bioactive fractions of gokhru with simultaneous HPLC analysis of six major metabolites and their exploration in rat plasma. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n.1, p. 701-711, 2016.

SILVA, J. D. *et al.* Evaluation of the *in vitro* release and permeation of *Cordia verbenacea* DC essential oil from topical dosage forms. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 53, p. 1-9, 2019.

SILVA, D. T. *et al.* Análise do efeito da sazonalidade sobre o rendimento do óleo essencial das folhas de *Nectandra grandiflora* Nees. **Revista Árvore**, v. 39, n. 6, p. 1035-1072, 2015.

SINGH, O. I.; DEVI, A. B. Comparative study of the antiurolithiatic activity of plant hydroalcoholic extract of *Argemone mexicana*, *Cissus javana* DC and *Garcinia pendunculata*. **International Journal of Science and Research**, v. 5, n. 5, p. 2066-2070, 2016.

SRISSOK, K. *et al.* Anti-inflammatory effect of ethyl acetate extract from *Cissus quadrangularis* Linn may be involved with induction of heme oxygenase-1 and suppression of NF-kB activation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 1008-1014, 2011.

TISELIUS, H-G; FORNANDER, A.M.; NILSSON, M.A. Effects of citrate and urinary macromolecules on crystal aggregation. **Urolithiasis** 2, p. 213-214, 1994.

TISELIUS, H-G. A hypothesis of calcium stone formation: an interpretation of stone research during the past decades. **Urological Research**, v. 39, n. 4, p. 231-243, 2011.

THONGBOONKERD, V.; YASUI, T.; KHAN, S. R. Editorial: immunity and inflammatory response in kidney stone disease. **Frontiers in Immunology**, v. 12, n. 795559, p. 1-2, 2021.

TOSTES, V.; CARDOSO, L. R. Revisão: Recentes avanços em litíase urinária. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 23, n. 3, p. 166-173, 2001.

VELU, V. *et al.* Evaluation of *in vitro* and *in vivo* anti-urolithiatic activity of silver nanoparticles containing aqueous leaf extract of *Tragia involucrata*. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 7, n. 3, p. 439-449, 2017.

VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H.; KIM, H. K. Ethnopharmacology and systems biology: A perfect holist match. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 53-56, 2005.

WAN, L. *et al.* Flow chemistry in the multi-step synthesis of natural products. **Green Synthesis and Catalysis**, v. 3, n. 3, p. 243–258, 2022.

WANG, N. *et al.* Endothelium corneum gigeriae galli extract inhibits calcium oxalate formation and exerts anti-urolithic effects. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 231, n. September 2018, p. 80-89, 2019.

XU, F. *et al.* Structures of new flavonoids and benzofuran-type stilbene and degranulation inhibitors of rat basophilic leukemia cells from the brazilian herbal medicine *Cissus sicyoides*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 10, p. 1089-1095, 2009.

YI-JIE, L. *et al.* Anti-inflammatory polyphenol constituents derived from *Cissus pteroclada* Hayata. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 15, p. 3425-3428, 2016.

YOO, M. H. *et al.* Efficacy of indoor plants for the removal of single and mixed volatile organic pollutants and physiological effects of the volatiles on the plants. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 131, n. 4, p. 452-458, 2006.

ZAMORA-MARTÍNEZ, M. C.; POLA, C. N. P. Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, **Mexico**. **Journal of ethnopharmacology**, v. 35, n. 3, p. 229-257, 1992.