



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA

REBECA LOPES SANTOS

***Deguelia costata* (Benth.) A. M. G. AZEVEDO: TRIAGEM
FITOQUÍMICA, ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS,
ANTIPROTOZOÁRIAS E ANTITUMORAIS**

SALVADOR- BAHIA

2021



REBECA LOPES SANTOS

***Deguelia costata* (Benth.) A. M. G. AZEVEDO: TRIAGEM
FITOQUÍMICA, ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS,
ANTIPROTOZOÁRIAS E ANTITUMORAIS**

**Dissertação apresentada à Universidade do Estado da
Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Química Aplicada, para obtenção do
título de Mestre em Química Aplicada.**

Orientadora: Lourdes Cardoso de Souza Neta

SALVADOR-BAHIA

2021

FICHA CATALOGRÁFICA
Sistema de Bibliotecas da UNEB

S237d

Santos, Rebeca Lopes

Deguelia costata (Benth.) A. M. G. Azevedo: triagem fitoquímica, atividades antimicrobianas, antiprotozoárias e antitumorais / Rebeca Lopes Santos. - Salvador, 2021.

92 fls : il.

Orientador(a): Profª Drª Lourdes Cardoso de Souza Neta.

Inclui Referências

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada - PGQA, Campus I. 2021.

1.Fabaceae. 2.Isoflavonóides. 3.Trypanosoma Cruzi.
4.Leishmanose. 5.Protozoários.

CDD: 547

UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
Autorização Decreto nº 9237/86. DOU 18/07/96. Reconhecimento: Portaria 909/95, DOU 01/08-95

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
CAMPUS I - SALVADOR



FOLHA DE APROVAÇÃO
"DEGUELIA COSTATA (BENTH.) A. M. G. AZEVEDO: TRIAGEM
FITOQUÍMICA, ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS, ANTIPROTOZOÁRIAS
E ANTITUMORAIS."

REBECA LOPES SANTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada – PGQA, em 21 de dezembro de 2021, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química Aplicada pela Universidade do Estado da Bahia, conforme avaliação da Banca Examinadora:

Lourdes Cardoso de Souza Neta

Professor(a) Dr.(a) LOURDES CARDOSO DE SOUZA NETA
UNEB

Doutorado em Química
Universidade Estadual de Campinas

Edson de Jesus Marques

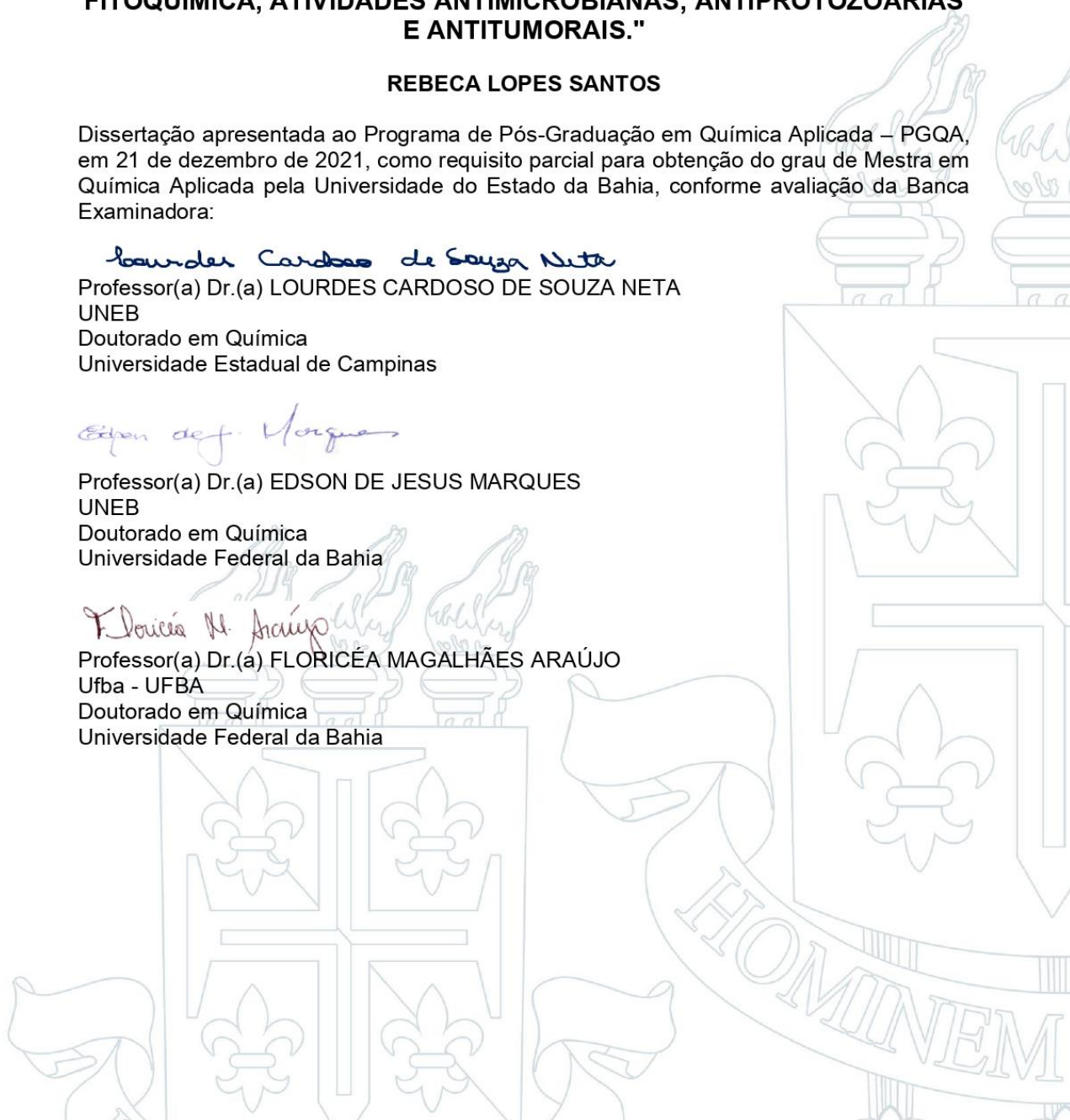
Professor(a) Dr.(a) EDSON DE JESUS MARQUES
UNEB

Doutorado em Química
Universidade Federal da Bahia

Floricéa M. Araújo

Professor(a) Dr.(a) FLORICÉA MAGALHÃES ARAÚJO
Ufba - UFBA

Doutorado em Química
Universidade Federal da Bahia



AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por ter me sustentado e permitido concluir essa etapa;

À minha orientadora, professora Dra. Lourdes Cardoso de Souza Neta, por todo o apoio, paciência, conselhos, cuidado e pelo privilégio de ter recebido sua orientação ao longo desses anos;

Aos meus pais, Edson e Eliana, que com paciência sempre me apoiaram e incentivaram a continuar;

Aos meus irmãos, Rafaela e Raphael, por todo apoio e carinho;

Aos meus amigos do grupo de pesquisa: Andreza Santos, Júlia, Ana Luísa, Rodrigo, Aiane, Lílian e Samantha pelo companheirismo, risadas, conselhos, apoio nos mais diversos momentos dessa jornada e auxílio nos experimentos;

Aos meus amigos pelo carinho, incentivo, suporte emocional e descontração nos meus melhores e piores momentos;

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro;

Ao Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada (PGQA) pelo suporte e apoio financeiro e ao Departamento de Ciências Exatas e da Terra I, da Universidade do Estado da Bahia pela infraestrutura para a realização do trabalho;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida;

Ao mestre Heiter Valverde Magalhães Boness pela realização dos experimentos de RMN feitos no Laboratório Baiano de Ressonância Magnética (LABAREM);

À Profa. Dra. Tanira Matutino Bastos e a Karoline Almeida Felix de Sousa da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública e da Instituto Gonçalo Moniz (Fiocruz-Ba) pela realização dos experimentos com *T. cruzi* e macrófagos peritoneais;

À Profa. Dra. Izaltina Silva-Jardim e a Julyanna Oliveira Castro da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) pelos ensaios com *L. amazonensis*;

A Profa. Dra. Milena Botelho Pereira Soares e ao Prof. Dr. Cássio Santana Meira do Instituto Gonçalo Moniz (Fiocruz-Ba) pela realização do ensaio frente a células tumorais HL-60;

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Ribeiro de Jesus pela realização dos experimentos de RMN feitos no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar);

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

Resumo

As doenças infecciosas e o câncer ainda são responsáveis por altos índices de mortalidade em todo mundo. Estudos que visem a descoberta de potenciais agentes anti-infecciosos, especialmente de espécies de Fabaceae, são necessários para o tratamento destas doenças. Neste trabalho foram investigadas as atividades antiprotozoária, antibacteriana, antifúngica e citotóxica frente a linhagem HL-60 dos extratos em diclorometano (EDFDC) e metanol (EMFDC) das folhas, em etanol das raízes (EERDC), em diclorometano (EDCsDC) e etanol (EECsDC) das cascas, de algumas frações destes extratos e substâncias de *Deguelia costata* (Fabaceae), bem como a análise do perfil químico desses extratos. Os EERDC e EDFDC de *D. costata* e seus respectivos compostos escandenina e 4'-O-metilderrone foram avaliados contra *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania amazonensis*. Todas as amostras testadas foram ativas para a forma amastigota de *T. cruzi* com valores de EC₅₀ na faixa de 34,5 a 9,8 µg mL⁻¹. Destes, apenas o EDFDC inibiu a forma tripomastigota (EC₅₀ de 22,3 µg mL⁻¹). Já quanto a ação leishmanicida contra promastigota de *L. amazonensis*, 4'-O-metilderrone e escandenina apresentaram melhor efeito em relação aos extratos, com valores de IC₅₀ de 43,26 µg mL⁻¹ e 45,92 µg mL⁻¹, respectivamente. As amostras mostraram índice de seletividade acima de 1, para ambos os parasitas e não foram citotóxicas para macrófagos. Os EERDC, EDFDC, EMFDC, frações de EMFDC e as substâncias escandenina, 4'-O-metilderrone e 4'-O-metilalpinumisoflavona foram testados em células HL-60. Desses, o EDFDC e 4'-O-metilalpinumisoflavona foram os mais ativos frente à linhagem HL-60 com IC₅₀ de 19,7 µg mL⁻¹ e 34,9 µg mL⁻¹, respectivamente. Adicionalmente, os EMFDC, EDCsDC, EECsDC e algumas de suas frações foram testados quanto ao efeito antimicrobiano. Desses, o EECsDC e sua fração 5-8 foram ativos frente *Candida albicans* e as frações do EMFDC foram ativos frente *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis* e *C. albicans*. O estudo fitoquímico do EMFDC resultou no isolamento de 4'-O-metilderrone e 4'-O-metilalpinumisoflavona, cujas fórmulas estruturais foram identificadas por RMN de ¹H e comparação com dados da literatura. As atividades biológicas encontradas para os extratos e frações de *D. costata* podem ser inferidas à presença de isoflavonas e 4-hidroxi-3-fenilcumarinas, previamente relatados nesta espécie. Assim, esses resultados indicam que o estudo fitoquímico de *D. costata* é uma estratégia promissora para descoberta de potenciais isoflavonoides para o tratamento do câncer e de doenças infecciosas.

Palavras-chave: Fabaceae, isoflavonoides, *Trypanosoma cruzi*, leishmaniose e protozoários.

Abstract

Infectious diseases and cancer are still responsible for high mortality rates worldwide. Studies aimed at discovering potential anti-infective agents, especially Fabaceae species, are necessary for the treatment of these diseases. In this work, we investigated the antiprotozoal, antibacterial, antifungal and cytotoxic activities against the HL-60 strain of extracts in dichloromethane (EDFDC) and methanol (EMFDC) from leaves, in ethanol from roots (EERDC), in dichloromethane (EDCsDC) and ethanol (EECsDC) from the bark, some fractions of these extracts and substances from *Deguelia costata* (Fabaceae), as well as the analysis of the chemical profile of these extracts. *D. costata* EERDC and EDFDC and their respective compounds scandenin and 4'-O-methylerrone were evaluated against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania amazonensis*. All samples tested were active for the amastigote form of *T. cruzi* with EC₅₀ values ranging from 34.5 to 9.8 µg mL⁻¹. Of these, only EDFDC inhibited the trypomastigote form (EC₅₀ of 22.3 µg mL⁻¹). As for the leishmanicidal action against *L. amazonensis* promastigotes, 4'-O-methylerrone and scandenine showed better effect compared to the extracts, with IC₅₀ values of 43.26 µg mL⁻¹ and 45.92 µg mL⁻¹, respectively. The samples showed a selectivity index above 1 for both parasites and were not cytotoxic to macrophages. EERDC, EDFDC, EMFDC, EMFDC fractions and the substances scandenine, 4'-O-methylerrone and 4'-O-methylalpinumisoflavone were tested in HL-60 cells. Of these, EDFDC and 4'-O-methylalpinumisoflavone were the most active against the HL-60 strain with IC₅₀ of 19.7 µg mL⁻¹ and 34.9 µg mL⁻¹, respectively. Additionally, EMFDC, EDCsDC, EECsDC and some of their fractions were tested for antimicrobial effect. Of these, the EECsDC and its fraction 5-8 were active against *Candida albicans* and the EMFDC fractions were active against *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis* and *C. albicans*. The phytochemical study of EMFDC resulted in the isolation of 4'-O-methylerrone and 4'-O-methylalpinumisoflavone, whose structural formulas were identified by ¹H NMR and comparison with literature data. The biological activities found for *D. costata* extracts and fractions can be inferred from the presence of isoflavones and 4-hydroxy-3-phenylcoumarins, previously reported in this species. Thus, these results indicate that the phytochemical study of *D. costata* is a promising strategy for the discovery of potential isoflavonoids for the treatment of cancer and infectious diseases.

Keywords: Fabaceae, isoflavonoids, *Trypanosoma cruzi*, leishmaniasis and protozoa.

Lista de Espectros

E.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 7.....	72
E.2. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 7.8 (4'-O-metilalpinumisoflavona)	73
E.3. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 8.....	74
E.4. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 8.6 (4'-O-metilderrone)	75
E.5. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 8.7 (4'-O-metilalpinumisoflavona)	76
E.6. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 9.....	77
E.7. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 9.3-5 (4'-O-metilderrone)	78
E.8. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 9.14.....	79
E.9. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 10.....	80
E.10. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 10.4 (4'-O-metilderrone)	81
E.11. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da fração EMFDC 10.11-12.0.....	82
E.12. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da fração EMFDC 10.11-12.3.....	83
E.13. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 12.....	84
E.14. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 12.5 (4'-O-metilderrone)	85
E.15. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da fração EMFDC 12.8-9.0.....	86
E.16. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 13.....	87
E.17. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da fração EMFDC 13.20.0'.0.....	88
E.18. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 15.....	89
E.19. Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) da fração EMFDC 16.....	90
E.20. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do extrato em etanol das cascas de <i>D. costata</i> (EECs).....	91
E.21. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EECsDC 5-8.....	92

Lista de Figuras

Figura 1. Ciclo evolutivo da leishmaniose.....	16
Figura 2. Ciclo evolutivo do <i>Trypanosoma cruzi</i>	17
Figura 3. Fórmulas estruturais dos quimioterápicos utilizados no tratamento da doença de Chagas e de leishmaniose.....	18
Figura 4. Fórmulas estruturais dos quimioterápicos utilizados no tratamento dos diversos tipos de câncer.....	21
Figura 5. Fórmulas estruturais de alguns medicamentos anticâncer aprovados no período de 1946-2019 derivados de produtos naturais.....	22
Figura 6. Fórmulas estruturais dos derivados de isoflavonoides com atividade frente a HL-60.....	25
Figura 7. Fórmulas estruturais dos compostos isolados de <i>D. costata</i>	27
Figura 8. Fórmulas estruturais das substâncias isoladas do extrato metanólico das folhas de <i>D. costata</i>	45

Lista de Fluxogramas

Fluxograma 1: Grupos de frações obtidas a partir do fracionamento do Extrato em Metanol das Folhas de <i>D. costata</i>	31
Fluxograma 2: Subfrações obtidas da análise cromatográfica de EMFDC 7.....	32
Fluxograma 3: Subfrações obtidas da análise cromatográfica de EMFDC 8.....	33
Fluxograma 4: Subfrações obtidas da análise cromatográfica do EMFDC 9.....	33
Fluxograma 5: Subfrações obtidas após análise cromatográfica de EMFDC 10.....	34
Fluxograma 6: Análise cromatográfica de EMFDC 10.11-12.....	34
Fluxograma 7: Análise cromatográfica de EMFDC 12.....	35
Fluxograma 8: Análise cromatográfica de EMFDC 13.....	36
Fluxograma 9: Grupos de frações obtidas a partir do fracionamento do Extrato em Etanol das cascas do caule de <i>D. costata</i>	37

Lista de Tabelas

Tabela 1. Informações sobre as amostras de <i>D. costata</i> que foram selecionadas para os ensaios biológicos.....	40
Tabela 2. Comparação dos dados de RMN de ¹ H de EMFDC 7.8 com os dados da 4'-O-metilalpinumisoflavona da literatura (MIGUEZ, 2018) e (MOHAN RAO; IYER; IYER, 1987)	47
Tabela 3. Comparação dos dados de RMN de ¹ H de EMFDC 8.6 com os dados da 4'-O-metilderrone da literatura (MIGUEZ, 2018) e (NDEMANGOU et al., 2013)	49
Tabela 4. Atividade antimicrobiana de extratos, frações e substâncias de <i>D. costata</i> (valores de CIM, CBM e CFM em µg mL ⁻¹)	53
Tabela 5. Atividades antiprotozoárias e citotóxicas dos extratos e compostos.....	54
Tabela 6. Atividade citotóxica das amostras de <i>D. costata</i> contra células HL-60.....	56

Lista de Abreviaturas e Símbolos

- CBM** Concentração Bactericida Mínima
- CC** Cromatografia em Coluna
- CC₅₀** Concentração Citolóxica 50%
- CCF** Cromatografia em Coluna Filtrante
- CCD** Cromatografia em Camada Delgada
- CCDP** Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
- CFM** Concentração Fungicida Mínima
- CIM** Concentração Inibitória Mínima
- CLSI** Clinical and Laboratory Standards Institute
- d* Dupleto
- DTN** Doença Tropical Negligenciada
- EC₅₀** Concentração Efetiva 50%
- EDF** Extrato em Diclorometano das Folhas
- EECs** Extrato em Etanol das Cascas
- EER** Extrato em Etanol das Raízes
- EMF** Extrato em Metanol das Folhas
- Hz** Hertz
- IC₅₀** Concentração Inibitória de 50% de uma população
- IDH** Índice de Desenvolvimento Humano
- INCA** Instituto Nacional do Câncer
- J* Constante de Acoplamento
- OGC** Observatório Global do Câncer
- OMS** Organização Mundial de saúde
- RMN ¹H** Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
- s* Singleto
- δ Deslocamento químico

SUMÁRIO

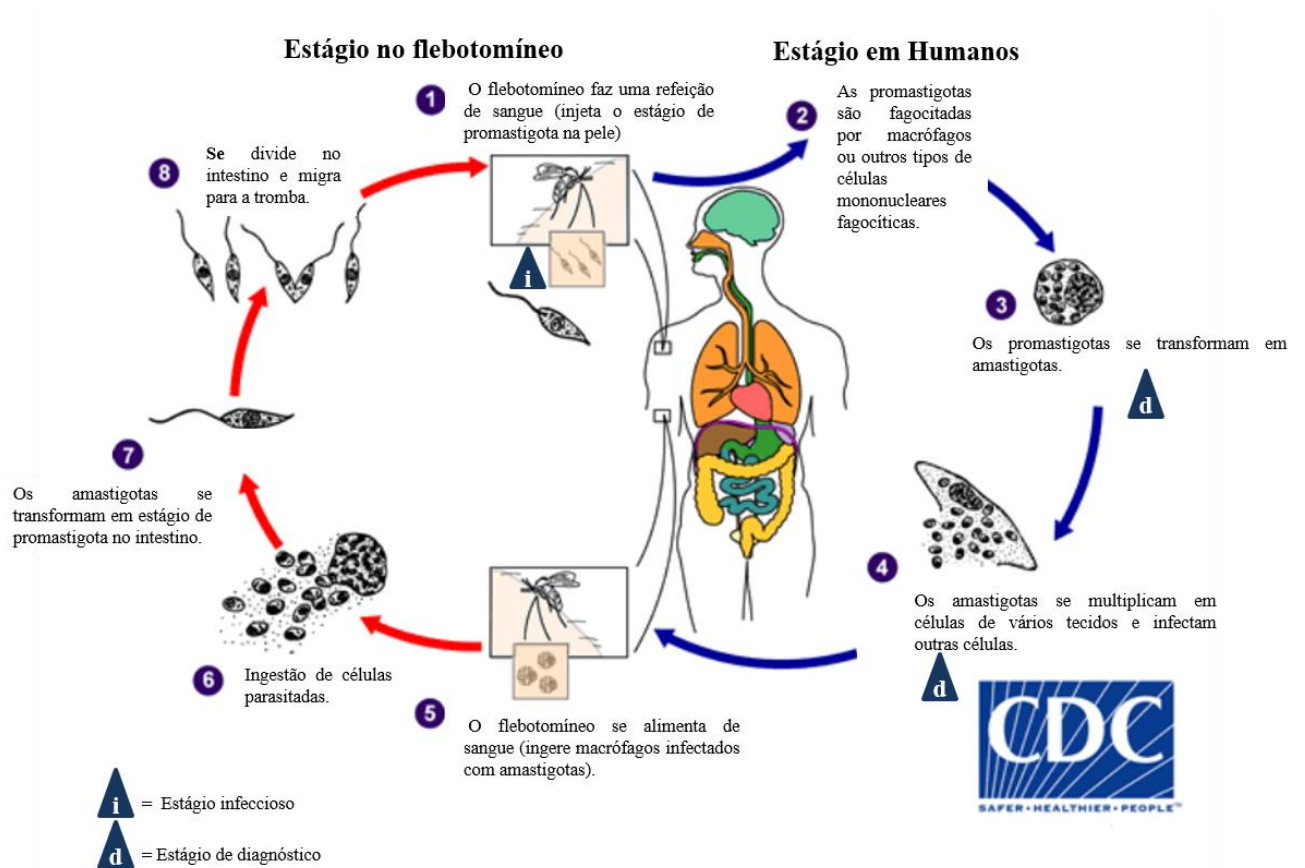
1.0 INTRODUÇÃO	15
2.0 OBJETIVOS	29
2.1 Objetivo geral	29
2.2 Objetivos específicos	29
3.0 MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1 Estudo Fitoquímico	30
3.1.1 Obtenção dos extratos	30
3.1.2 Materiais utilizados	30
3.1.3 Fracionamento do extrato metanólico das folhas	31
3.1.4. Análises cromatográficas do extrato metanólico das folhas (EMFDC) .	32
3.1.4.1. Isolamento de 4'-O-metilderrone e 4'-O-metilalpinumisoflavona do	
extrato metanólico das folhas (EMFDC).....	32
3.1.4.2. Análises cromatográficas de frações selecionadas para avaliação	
biológica.....	34
3.1.5 Fracionamento do extrato em etanol da casca do caule	36
3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	38
3.3 Atividades antibacteriana e antifúngica	38
3.4 Atividade antileishmania	41
3.5 Atividade anti- <i>Trypanosoma cruzi</i>	41
3.6 Toxicidade em células de mamíferos	43
3.7 Determinação dos conteúdos de taninos	43
3.8 Atividade antitumoral para linhagens celulares	44
3.8.1 Ensaio de atividade citotóxica frente a linhagem celular HL-60	44
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Identificação da 4'-O-metilalpinumisoflavona	45
4.2 Identificação da 4'-O-metilderrone	47
4.3 Atividade antimicrobiana	50
4.4 Atividades antiprotozoárias e citotóxicas	54
4.4.1. Atividade antiprotozoária e citotoxicidade em macrófagos	54
4.3.2 Atividade citotóxica em linhagem HL-60	56
5.0 CONCLUSÕES	58
6.0 PERSPECTIVAS	59
REFERÊNCIAS	60
ANEXO A	72

1.0 INTRODUÇÃO

As doenças tropicais negligenciadas (DTN's) atingem pessoas de baixa renda, principalmente, que vivem em condições precárias de moradia, onde o acesso ao saneamento básico ainda é inadequado (DIAS *et al.*, 2013; ENGELS; ZHOU, 2020; FEASEY *et al.*, 2010; HOTEZ; FUJIWARA, 2014). Segundo a OMS, as DTN's afetam mais de 1 bilhão de pessoas em 149 países por diversos agentes etiológicos, como bactérias, vermes filariais, helmintos, micobactérias e protozoários, transmitidos por vetores (ENGELS; ZHOU, 2020; FEASEY *et al.*, 2010; HOTEZ; FUJIWARA, 2014).

A leishmaniose é uma DTN causada por protozoários do gênero *Leishmania*, cujos vetores são fêmeas de flebotomíneos (CHEUKA *et al.*, 2017; OMS, 2021a; RODRIGUES *et al.*, 2015). As principais espécies de *Leishmania* responsáveis pelas formas clínicas visceral, ou kala-azar, são *Leishmania donovani* (Índia, Ásia e África Oriental) e *L. infantum* (Europa, Norte da África e América Latina). Dentre as leishmanioses, ainda há em muitos países incidência de leishmaniose cutânea, ou tegumentar americana, cujos agentes etiológicos são *Leishmania major*, *L. tropica*, *L. braziliensis*, *L. amazonensis*, *L. mexicana*; da mucocutânea, a qual é decorrente de infecção por *L. braziliensis*, *L. amazonensis*, *L. panamensis* e *L. guyanensis*; e da visceral, causada pelas espécies *L. donovani* e *L. infantum* (BEKHIT *et al.*, 2018; CHEUKA *et al.*, 2017). O ciclo evolutivo do protozoário e o modo de transmissão constam na figura 1.

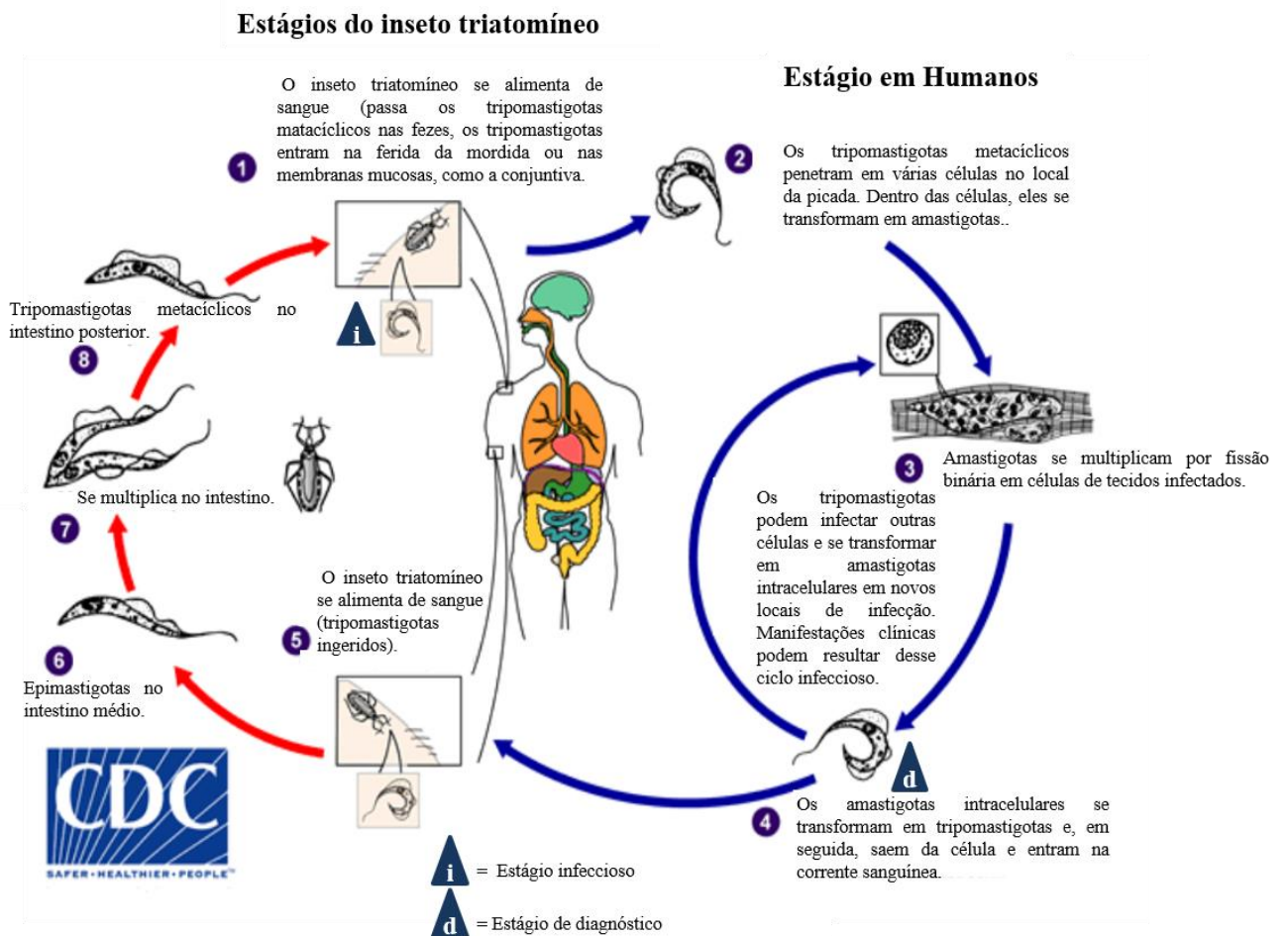
Figura 1. Ciclo evolutivo da leishmaniose.



Fonte: CDC, 2020.

Outra DTN é a Doença de Chagas, também conhecida como Tripanossomíase americana, cujo agente etiológico é o *Trypanosoma cruzi*, o qual é transmitido ao ser humano por dejetos de insetos triatomíneos infectados, transfusão sanguínea, vias congênita e oral (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; SANTOS, Soraya *et al.*, 2020; STANAWAY; ROTH, 2015; ZINGALES, 2018). O ciclo de vida do protozoário e a transmissão se encontram na figura 2.

Figura 2. Ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*.



Fonte: CDC, 2019.

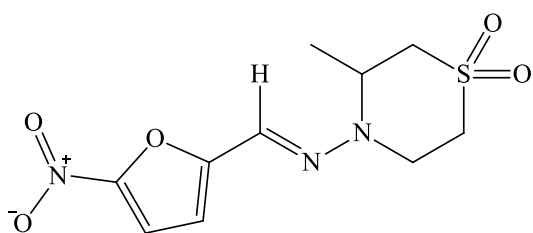
Uma pessoa infectada por *T. cruzi* pode desenvolver as formas clínicas aguda e crônica. A fase aguda é, geralmente, assintomática, mas alguns sintomas como febre, mal-estar, anorexia, edema, arritmia, mialgia e erupção cutânea podem ser observados. Dentre os infectados cerca de 30% entram na fase crônica, esta é caracterizada por sequelas cardiovasculares e digestivas (ECHEVERRIA; MORILLO, 2019; SANTOS, Soraya *et al.*, 2020; STANAWAY; ROTH, 2015).

A OMS (2021a, 2021b) estima que 30 mil novos casos de leishmaniose visceral e 1 milhão de leishmaniose cutânea ocorram no mundo anualmente e que cerca de 6 a 7 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas por *T. cruzi*, em sua maioria, de forma assintomática. No Brasil, segundo o Ministério da Saúde, no período de 2003 a 2018, cerca de 300 mil pessoas foram acometidas por leishmaniose cutânea e 51 mil pessoas por leishmaniose visceral, onde as regiões Norte e Nordeste apresentaram os maiores índices. Em 2019 foram notificados 2.827 casos de leishmaniose visceral e 16.922 casos

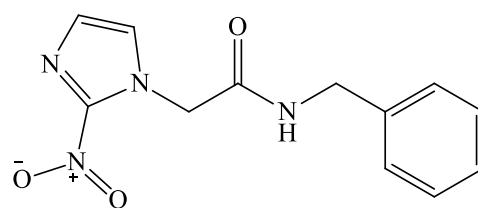
de leishmaniose cutânea (BRASIL, 2020a, 2020b). Em relação a Doença de Chagas, entre 2003-2018, o Brasil registrou 4.556 casos da fase aguda, com registros de 383, 386 e 142 casos em 2018, 2019 e 2020, respectivamente, com maior incidência na região Norte, desde 2007 (BRASIL, 2019, 2020c).

A quimioterapia para o tratamento de doença de Chagas é realizada com nifurtimox (1) e benzonidazol (2), enquanto para Leishmaniose são administrados antimoniais pentavalentes (3 e 4), miltefosina (5), paramomicina (6), pentamidina (7), anfotericina B (8) ou anfotericina B lipossômica, contudo esses apresentam alta toxicidade e diversos efeitos colaterais, tais como cardiotoxicidade, náusea, nefrotoxicidade, febre, anorexia, distúrbios neurológicos, dentre outros (CHEUKA *et al.*, 2017; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; SANTOS, Soraya *et al.*, 2020; TIWARI *et al.*, 2019; ZINGALES, 2018; ZULFIQAR; SHELPER; AVERY, 2017).

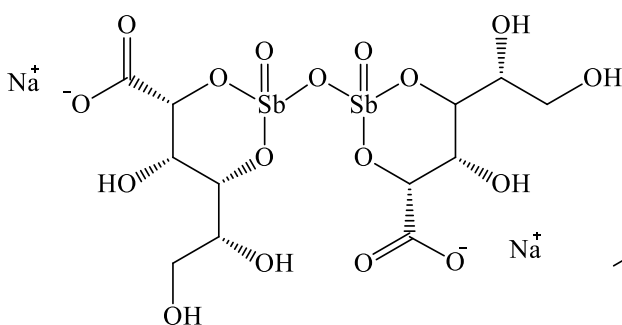
Figura 3. Fórmulas estruturais dos quimioterápicos utilizados no tratamento da doença de Chagas e de leishmaniose.



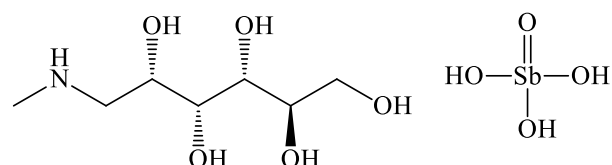
Nifurtimox (1)



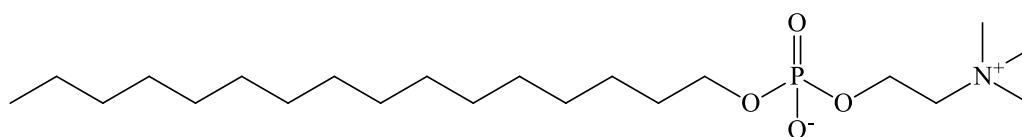
Benzonidazol (2)



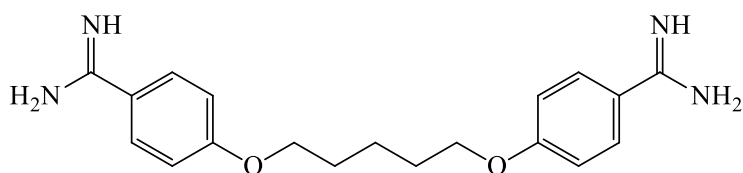
Estibogluconato de sódio (3)



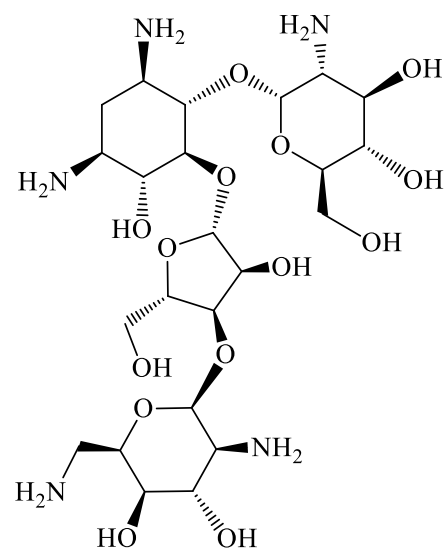
Antimoniato de meglumina (4)



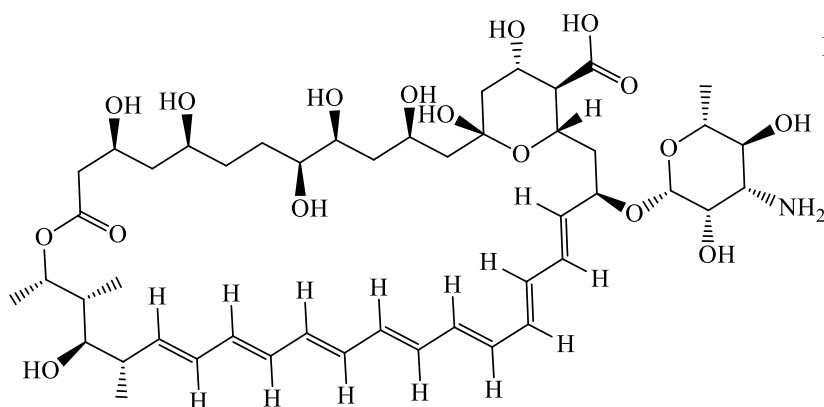
Miltefosina (5)



Pentamidina (7)



Paramomicina (6)



Anfotericina B (8)

A busca por novos quimioterápicos se faz necessária devido aos efeitos adversos destes e ao surgimento de cepas de protozoários resistentes (DE FUENTES-VICENTE *et al.*, 2018; DIAS *et al.*, 2013; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; PONTE-SUCRE *et al.*, 2017; SANTOS, Soraya *et al.*, 2020; TIWARI *et al.*, 2019; ZINGALES, 2018). Além das doenças tropicais negligenciadas, o câncer é outra doença que atinge milhões de pessoas anualmente e está entre as principais causas de mortes antecipadas da população. Essa doença decorre do crescimento desordenado de células no corpo que podem se espalhar formando os tumores e afeta pessoas de diversas classes sociais que residem em países com diferentes Índices de Desenvolvimento Humano (IDH).

Atualmente, existem mais de 100 tipos de câncer que se formam em tecidos e/ou órgãos e o número de casos e mortes vem crescendo ao longo dos anos, o que pode ser associado, em alguns casos, ao desenvolvimento socioeconômico da população (BRAY *et al.*, 2018; INCA, 2019, 2020; NCI, 2021; SINGH *et al.*, 2018). O Observatório Global do Câncer (OGC) estimou cerca de 19,3 milhões de novos casos com 9,96 milhões de mortes em 2020 e prevê que em 2040 sejam 30,2 milhões novos casos com 16,3 milhões de morte em todo o mundo. Dentre os tipos de câncer, o de mama é o que teve maior incidência de

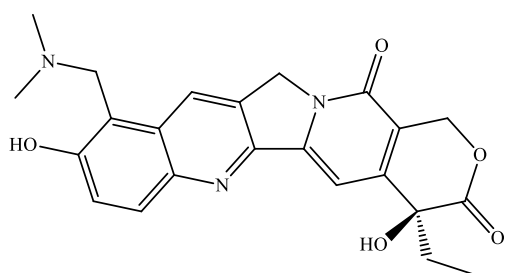
2,26 milhões, com taxa de mortalidade em torno de 685 mil, seguido do câncer de traqueia, brônquio e pulmão com incidência de 2,21 milhões e com número de mortes estimado em 1,80 milhões em 2020 (OGC, 2020a).

Outros tipos de câncer, além destes, como o de fígado e dutos biliares intra-hepáticos mostraram 906 mil casos em 2020, com previsão de até 1,44 milhões de novos casos em 2040, com estimativa de taxa de mortalidade de 1,33 milhões, em 2040. Já a leucemia mostrou uma incidência de 474 mil casos em 2020 e uma previsão de 647 mil novos casos com taxa de mortalidade de 460 mil, para 2040 (OGC, 2020a).

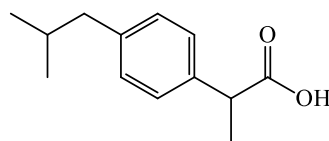
A estimativa do OGC é de que em 2040 o Brasil registre 995 mil novos casos, sendo o câncer de próstata com maior incidência (178 mil) seguido do câncer de mama (130 mil). Para esse mesmo ano são esperados 470 mil óbitos, desses, 65 mil associados ao câncer de traqueia, brônquio e pulmão, 41 mil ao câncer de próstata, 33 mil ao câncer de mama, 22 mil ao câncer de fígado e dutos biliares intra-hepáticos e 14 mil a leucemia (OGC, 2020b, 2020c).

As principais estratégias utilizadas para o tratamento do câncer são a cirurgia, quimioterapia, terapia imunológica, terapia de radiação, terapia hormonal e terapia direcionada e outros tipos de terapia estão sendo sugeridas com base no tipo de câncer e do seu avanço, como por exemplo o desenvolvimento e modo de ação das células cancerígenas. Dentre os medicamentos usados na quimioterapia (Figura 4) tem-se topotecano (9), ibuprofeno (10), aspirina (11), emetina (12), androstenediona (13) (SINGH *et al.*, 2018), cisplatina (14), doxorubicina (15), citarabina (16), idarrubicina (17) etc (ONCOGUIA, 2020a, 2020b). Esses possuem alvos diferentes e tem por efeitos colaterais diarreia, náusea, vômito, anemia, disfunção hepática, alopecia, dano gastrointestinal, dor nas articulações e músculos. Contudo, mesmo com a quimioterapia disponível, os tumores podem não responder de imediato ao tratamento e/ou podem apresentar resistência (ADEM *et al.*, 2019; KRUSHKAL *et al.*, 2021). Dos quimioterápicos supracitados a citarabina e a idarrubicina são utilizadas no tratamento da leucemia mieloide aguda (ONCOGUIA, 2020b).

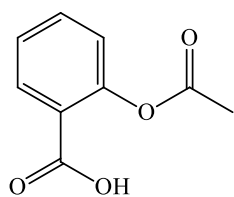
Figura 4. Fórmulas estruturais dos quimioterápicos utilizados no tratamento dos diversos tipos de câncer.



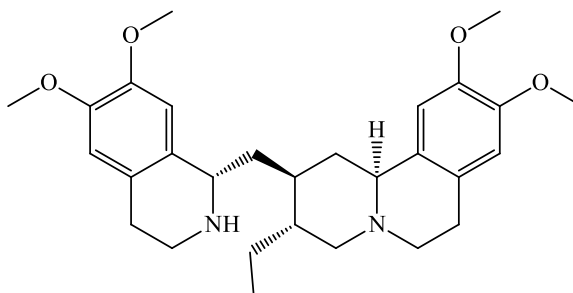
Topotecano (9)



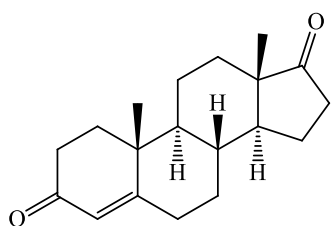
Ibuprofeno (10)



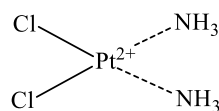
Aspirina (11)



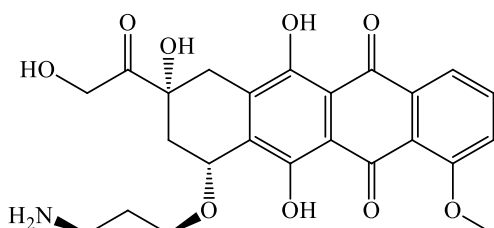
Emetina (12)



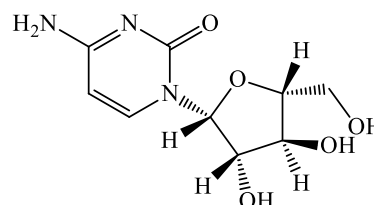
Androstenediona (13)



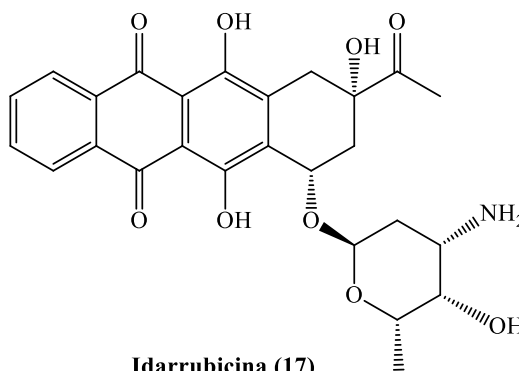
Cisplatina (14)



Doxorubicina (15)



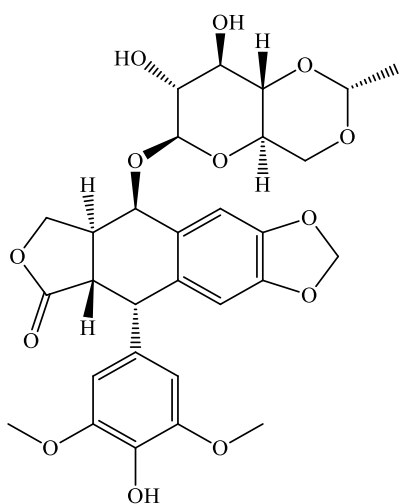
Citarabina (16)



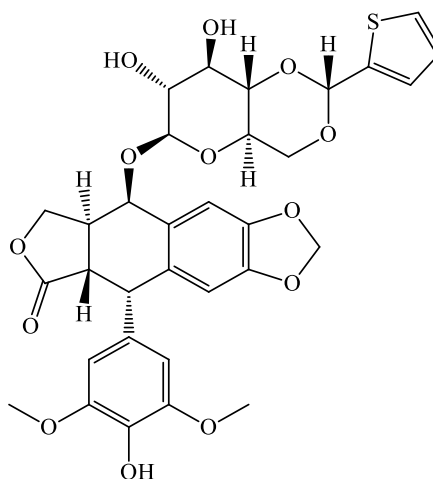
Idarrubicina (17)

De todos os medicamentos anticâncer produzidos e aprovados de 1946 até 2019 (Figura 5) cerca de 79,53% possuem relação direta ou indireta com o produto natural (NEWMAN; CRAGG, 2020).

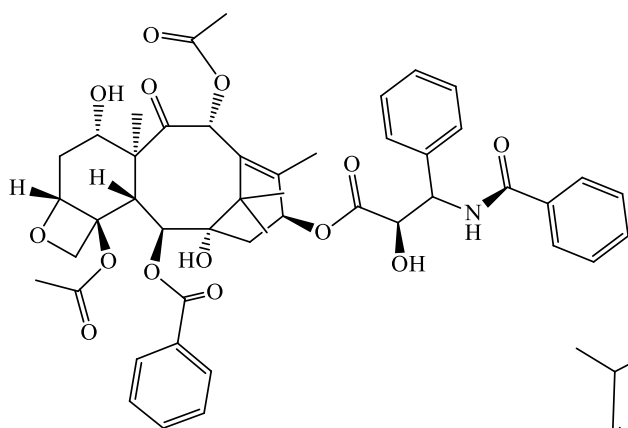
Figura 5. Fórmulas estruturais de alguns medicamentos anticâncer aprovados no período de 1946-2019 derivados de produtos naturais.



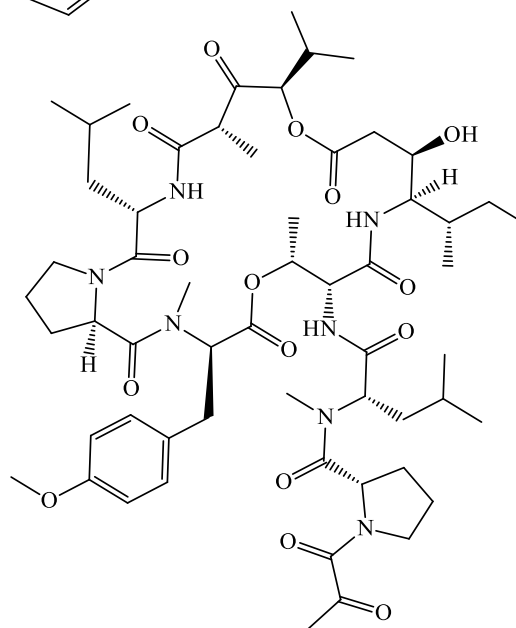
Etoposídeo (18)



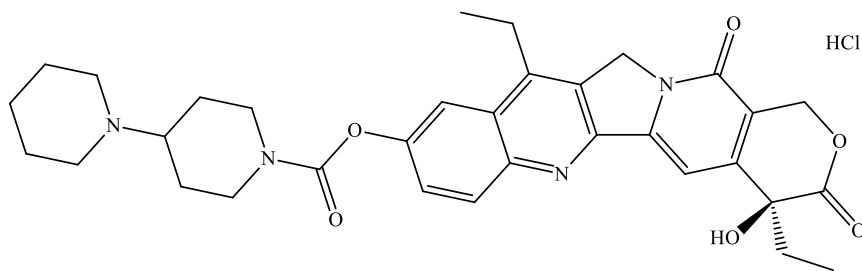
Teniposídeo (19)



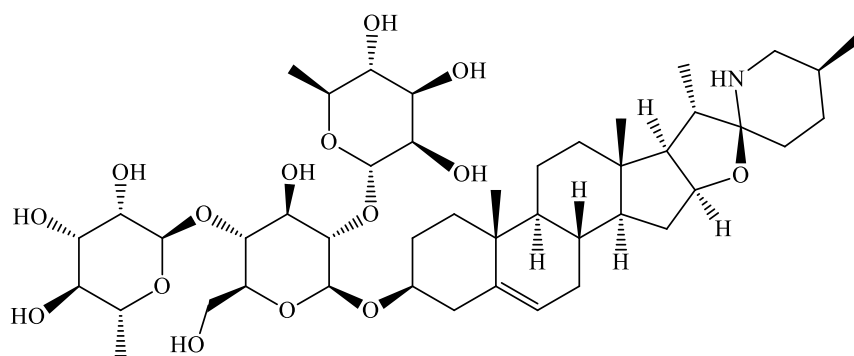
Paclitaxel (20)



Aplidina (21)



Cloridrato de irinotecano (22)



Solamargina (23)

Além dos protozoários e das células cancerígenas, as bactérias também desenvolvem resistência aos medicamentos administrados dificultando o tratamento de doenças infecciosas ao longo dos anos. A resistência é decorrente de um processo natural, geralmente, de alteração do DNA desses microrganismos, porém vem sendo acelerada, principalmente, pelo uso indiscriminado de antibióticos (BALSALOBRE; DROPA; MATTÉ, 2014; BIHAREE *et al.*, 2020; GONZÁLEZ-BELLO, 2017; SILVA *et al.*, 2020). Como consequências dessa resistência tem-se o prolongamento do tempo de internação dos pacientes, elevação dos custos no tratamento (BALSALOBRE; DROPA; MATTÉ, 2014; BIHAREE *et al.*, 2020) e altos índices de mortalidade (BIHAREE *et al.*, 2020).

Doenças resistentes a medicamentos representam cerca de 700 mil mortes por ano, com estimativa de que em 2050 sejam 10 milhões de óbitos por ano, segundo a OMS (2019) (BIHAREE *et al.*, 2020). Esse aumento nos índices de mortalidade indica que a resistência antimicrobiana é uma ameaça à saúde pública e que medidas como a busca por novas fontes de medicamentos precisam ser tomadas (BALSALOBRE; DROPA; MATTÉ, 2014; BIHAREE *et al.*, 2020; GONZÁLEZ-BELLO, 2017).

Os produtos naturais de origem vegetal são uma fonte promissora de compostos bioativos (ATANASOV *et al.*, 2015; NEWMAN; CRAGG, 2020; PATRIDGE *et al.*, 2016; SINGH

et al., 2018). Plantas da família Fabaceae vêm se demonstrando como uma dessas possíveis fontes, com atividades relatadas contra protozoários como *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei brucei* (RAJEMIARIMIRAHU *et al.*, 2014), formas promastigota de *L. donovani* (ARMAH *et al.*, 2018; CHOUDHURY *et al.*, 2016; RAJEMIARIMIRAHU *et al.*, 2014), *L. amazonensis* (ARAUJO *et al.*, 2018; SANTANA *et al.*, 2015) e *L. chagasi* (ARAUJO *et al.*, 2018) as formas contra *T. cruzi*. as formas epimastigota, tripomastigota (BORTOLUZZI *et al.*, 2021; GUZMÁN *et al.*, 2004) e amastigota (BORTOLUZZI *et al.*, 2021) de

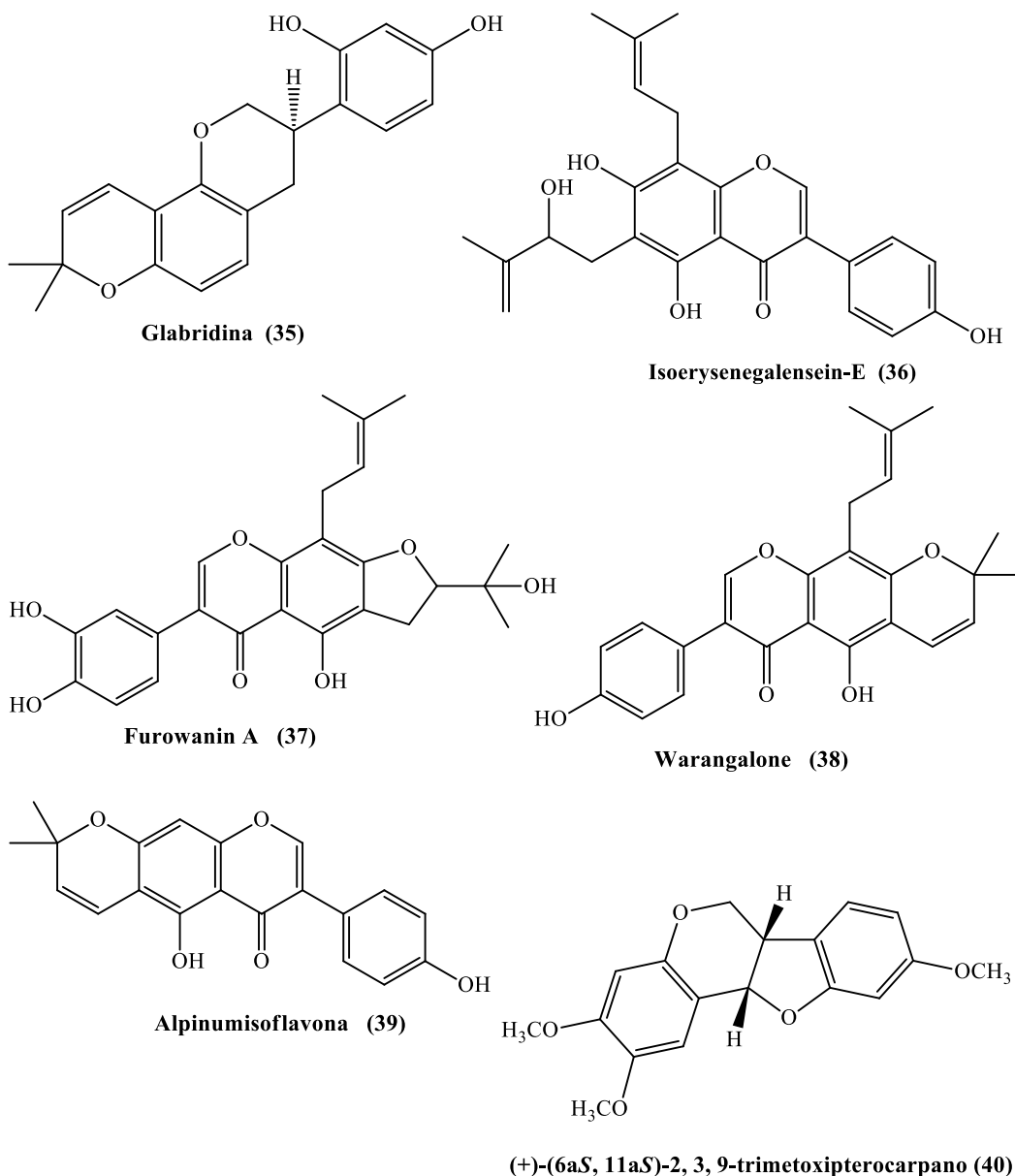
Compostos isolados de Fabaceae também mostram reconhecidas propriedades antifúngica (CHOUDHURY *et al.*, 2016; DO NASCIMENTO *et al.*, 2020; ERHABOR *et al.*, 2020; MARTINS *et al.*, 2019; SANTANA *et al.*, 2015) e antibacteriana (CHOUDHURY *et al.*, 2016; CUELLAR *et al.*, 2020; DO NASCIMENTO *et al.*, 2020; DZOYEM; MCGAW; ELOFF, 2014; ERHABOR *et al.*, 2020), dentre outras.

Alguns destes compostos são isoflavonoides, principalmente na subfamília Papilionoideae (VEITCH, 2013), que apresentaram atividades antibacterianas, antifúngicas (ALMAHARIK, 2019; CHOUDHURY *et al.*, 2016; VEITCH, 2013), citotóxicas (ALMAHARIK, 2019; MOREL *et al.*, 2013), antiparasitárias, frente a *P. falciparum* (MOREL *et al.*, 2013), a formas promastigotas de *L. major* (MOREL *et al.*, 2013), *L. donovani* (CHOUDHURY *et al.*, 2016), e tripomastigota de *T. cruzi* (GANAPATY *et al.*, 2008b; VEITCH, 2013).

Outro efeito bem investigado para os derivados de isoflavonoides é o antitumoral em diferentes linhagens de células, como SNU-182 (câncer de fígado) (XU *et al.*, 2021), HeLa (células de câncer cervical), AML-193 (leucemia monocítica humana), MDA-MB-231 (câncer de mama) (CAYETANO-SALAZAR *et al.*, 2021), PC3 (câncer de próstata) (CAYETANO-SALAZAR *et al.*, 2021; GBWENG *et al.*, 2018), DU145 (câncer de próstata) (GBWENG *et al.*, 2018), A549 (carcinoma de pulmão humano), KB (carcinoma epidermóide), Colo205 (carcinoma colorretal) e NALM-6 (leucemia linfoblástica aguda humana) (ITO *et al.*, 2021), HepG2 (células de câncer de fígado) (CAYETANO-SALAZAR *et al.*, 2021; LIU, Yang *et al.*, 2021; XU *et al.*, 2021), HL-60 (leucemia promielocítica aguda humana) (HIKITA *et al.*, 2018; HSIAO *et al.*, 2019; HUANG *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2011).

Dentre os isoflavonoides com atividade frente a HL-60 a glabridina (35), uma isoflavana, inibe o crescimento e induz a apoptose celular (HUANG *et al.*, 2014). As isoflavonas, isoerysenegalensein-E (36), furowanin A (37) e warangalone (38) induzem a apoptose celular (ITO *et al.*, 2006), a alpinumisoflavona (39) foi citotóxica (LI *et al.*, 2021), 3',7-dimetoxiisoflavanona-4',5-di-O, β -D-glucopiranosídeo (29) inibe as células tumorais (ZHANG; YIN; LIANG, 2013) e a genisteína (26) causa a apoptose das células e redução do tumor (HSIAO *et al.*, 2019; SINGH *et al.*, 2018). O pterocarpano (+)-(6aS, 11aS)-2,3,9-trimetoxipterocarpano (40) causa a inibição da síntese do DNA e indução da apoptose (FARIAS *et al.*, 2020).

Figura 6. Fórmulas estruturais dos derivados de isoflavonoides com atividade frente a HL-60.



As espécies do gênero *Deguelia* (Papilionoideae, Fabaceae) são distribuídas em duas seções: *Deguelia* e *Multiovulis*, conforme características de inflorescência e no número de óvulos por ovários. Essas espécies, em relação ao perfil fitoquímico, são reconhecidamente produtoras de isoflavonoides, segundo Marques e colaboradores (2015). Este comportamento biossintético tem sido confirmado pelo estudo fitoquímico de *D. costata* (seção *Multiovulis*), que resultou no isolamento de nove derivados de isoflavonoides (LEMES *et al.*, 2019). Contudo, o estudo fitoquímico de *D. duckeana* (seção *Deguelia*) mostrou uma exceção ao padrão observado no gênero, onde foram isolados alguns derivados de flavonoides (CURSINO *et al.*, 2016; LIMA *et al.*, 2018). As espécies da seção *Deguelia* produzem, majoritariamente, rotenoides, estilbenos, chalconas e flavanonas (CURSINO *et al.*, 2016; LIMA *et al.*, 2018, 2017; MAGALHÃES *et al.*, 2001; MARQUES *et al.*, 2015) que são encontradas, em sua maioria, na floresta Amazônica, Norte do Brasil.

Algumas espécies são empregadas tradicionalmente por povos indígenas desta região por apresentarem efeitos inseticida, ictiotóxico (CAMARGO; DE AZEVEDO TOZZI, 2014; LIMA *et al.*, 2013, 2017; MARQUES *et al.*, 2015) e antimalárico (KFFURI *et al.*, 2016; LIMA *et al.*, 2017). Enquanto as espécies da seção *Multiovulis* produzem derivados de 4-hidroxi-3-fenilcumarinas e de isoflavonas, preferencialmente (LEMES *et al.*, 2019; LIMA *et al.*, 2017; MAGALHÃES *et al.*, 2001; MARQUES *et al.*, 2015). Estes mostraram efeitos antibacteriano (MAGALHÃES *et al.*, 2006, 2001; MARQUES *et al.*, 2015), antifúngico (MAGALHÃES *et al.*, 2006, 2001) e antiprotozoário (DOS SANTOS, Djalma *et al.*, 2009), em ensaios *in vitro*.

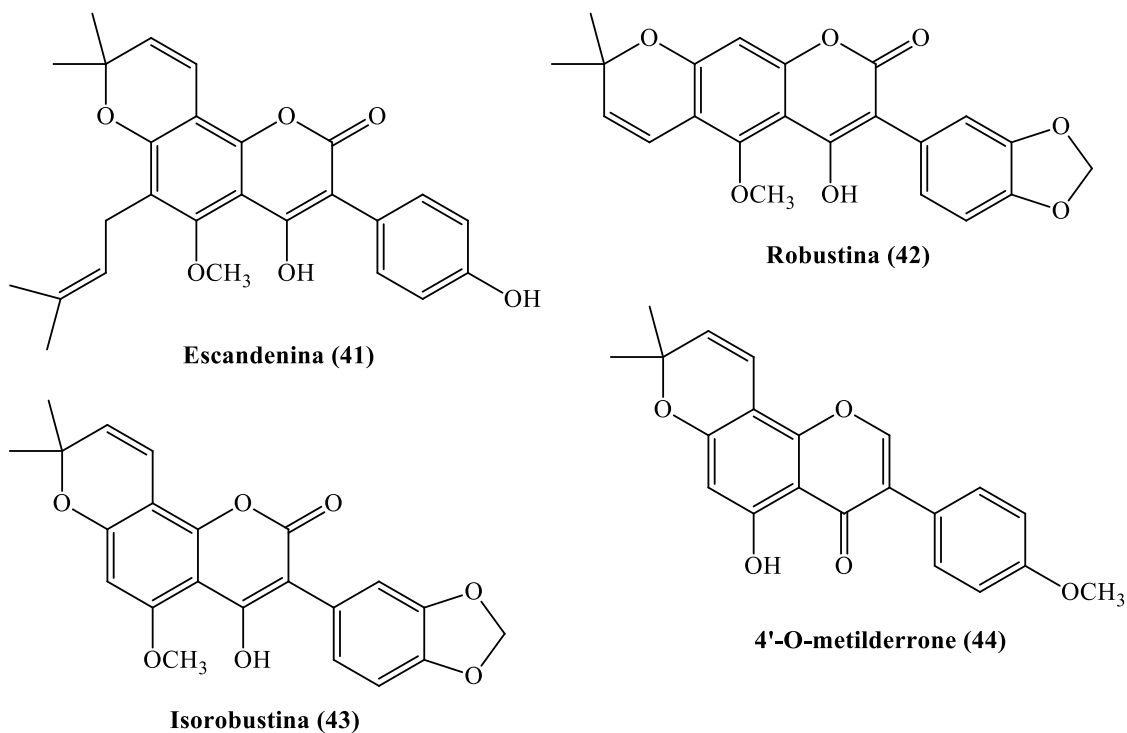
O estudo fitoquímico prévio de *D. costata*, espécie pertencente a seção *Multiovulis*, resultou no isolamento de onze compostos (Figura 7): três 4-hidroxi-3-fenilcumarinas: escandenina (41), robustina (42) e isorobustina (43); seis isoflavonas (4-O-metilderrone (44), 5-hidroxi-3',4'-dimetoxi-2'',2''-dimetilpirano [5'',6'':7,6] isoflavona (45), 4-O-metilalpinumisoflavona (46), gancaonina M (47), costatina A (48) e costatina B (49) e dois derivados de triterpenos pentacíclicos (lupeol (50) e ácido betulínico (51) (LEMES *et al.*, 2019).

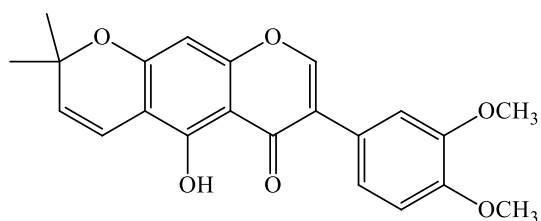
Triterpenos pentacíclicos possuem atividades antifúngica, antibacteriana (GALLO; SARACHINE, 2009; SHAI *et al.*, 2008) antiprotozoárias e antitumorais, com o lupeol que foi ativo frente as formas epimastigota e tripomastigota de *T. cruzi* e amastigota e

promastigota de *L. amazonensis*, *L. donovani* e *L. braziliensis* (GALLO; SARACHINE, 2009) e antitumorais (LIU, Kai *et al.*, 2021), frente as linhagens HepG2 (LIU, Kai *et al.*, 2021; SIVEEN *et al.*, 2014) e HL-60 (LIU *et al.*, 2015). Já o ácido betulínico teve efeito sobre as formas epimastigota e tripomastigota de *T. cruzi* (SOUSA *et al.*, 2017), amastigota de *L. donovani* (ALAKURTTI *et al.*, 2010) e promastigota de *L. major*. (TAKAHASHI *et al.*, 2004) e frente as diversas linhagens tumorais, dentre elas HepG2 (ORIAKHI *et al.*, 2021; WANG, *et al.*, 2019) e HL-60 (KHAN *et al.*, 2016).

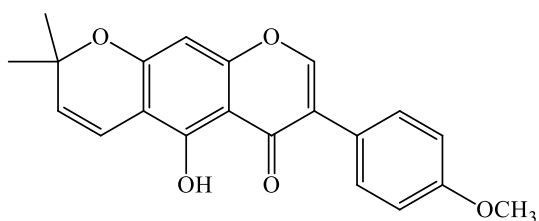
Já os derivados de isoflavonoides isolados de *D. costata*, como robustina, isorobustina e escandenina apresentam atividade antibacteriana (HUSSAIN *et al.*, 2015; MAGALHÃES *et al.*, 2006). A escandenina foi antifúngica (HUSSAIN *et al.*, 2015) e antiprotozoária frente à *T. brucei rhodesiense* e *P. falciparum* (DOS SANTOS, Djalma *et al.*, 2009); a 4-O-metillalpinumisoflavona possui atividade antibacteriana (POUMALE *et al.*, 2009) e anti-inflamatória (LIM *et al.*, 2012) e 5-hidroxi-3',4'-dimetoxi-2'',2''-dimetilpirano [5'',6'':7,6] isoflavona apresenta efeito citotóxico frente as linhagens de células cancerígenas C26 e LL2.

Figura 7. Fórmulas estruturais dos compostos isolados de *D. costata*.

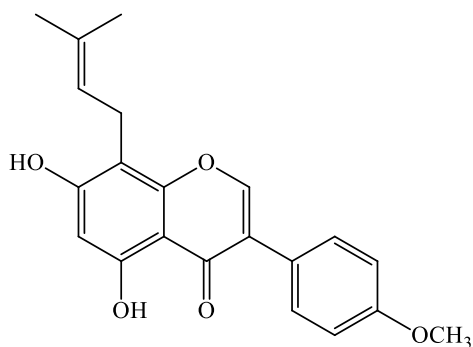




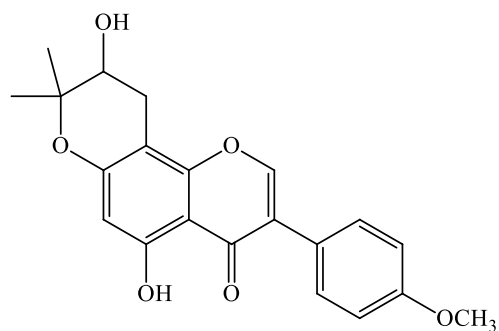
**5-hidroxi-3',4'-dimetoxi-2'',2''-dimetilpirano
[5'',6''':7,6] isoflavona (45)**



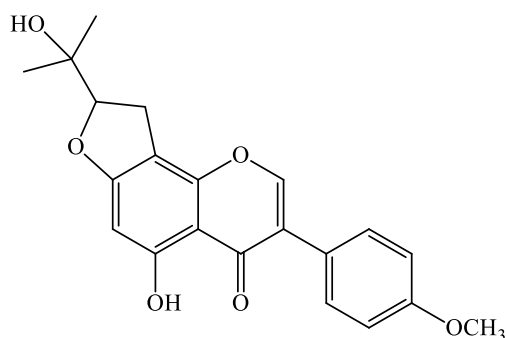
4'-O-metilalpinumisoflavona (46)



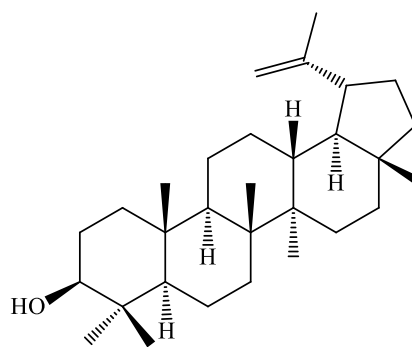
Gancoanina M (47)



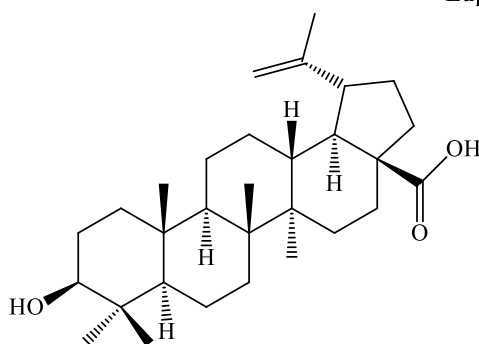
Costatina A (48)



Costatina B (49)



Lupeol (50)



Ácido betulínico (51)

Considerando a potencialidade de produção de fenólicos do gênero *Deguelia* e a necessidade de novos agentes antimicrobianos e antitumorais, as atividades anti-*Trypanosoma cruzi*, anti-*Leishmania*, antibacteriana, antifúngica e citotóxica frente a linhagem HL-60 de extratos, obtidos em diferentes solventes, das folhas, raízes e caules de *D. costata*, e de suas frações e substâncias foram investigadas. Adicionalmente, os teores de taninos e análise do perfil fitoquímico desses extratos foram estudados.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar o perfil fitoquímico e as propriedades antibacteriana, antifúngica, antiprotozoária e citotóxica em linhagem tumoral e macrófagos dos extratos, frações e substâncias de *Deguelia costata*.

2.2 Objetivos específicos

Realizar a triagem de extratos do caule e folhas, obtidos com diferentes solventes, e do extrato em etanol das raízes em alvos como bactérias, fungos, protozoários e linhagens de células tumorais;

Fracionar os extratos e avaliar os efeitos biológicos das frações frente aos alvos acima citados;

Relacionar o perfil fitoquímico dos extratos e frações de *D. costata* com suas propriedades biológicas;

Isolar substâncias dos extratos em metanol das folhas e etanólico das cascas de *D. costata*;

Identificar e ou determinar as fórmulas estruturais das substâncias;

Determinar o teor de taninos dos extratos.

3.0 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Estudo Fitoquímico

3.1.1 Obtenção dos extratos

Folhas e fragmentos de raízes de *D. costata* foram coletados em remanescentes de Mata Atlântica, em Vitória, Espírito Santo, Brasil e identificado pela curadora Dra. Luciana Dias Thomaz. O voucher (N° 26.414) do espécimen foi depositado no herbário da Universidade Federal do Espírito Santo (VIES). Folhas, raízes e cascas foram secas e depois trituradas rendendo 1.717,0 g, 225,4 g e 777,90 g, respectivamente, e submetidas a extração por percolação com n-hexano, diclorometano e etanol ou metanol, gerando, dentre estes, os extratos brutos em diclorometano (29,9 g) e em metanol (28,6 g) das folhas, em etanol das raízes (4,8 g) e em diclorometano (12,4 g) e em etanol (20,4 g) da casca do caule, conforme descrito por Lemes (2015), Lemes e colaboradores (2019), Miguez (2018) e Serafim (2014).

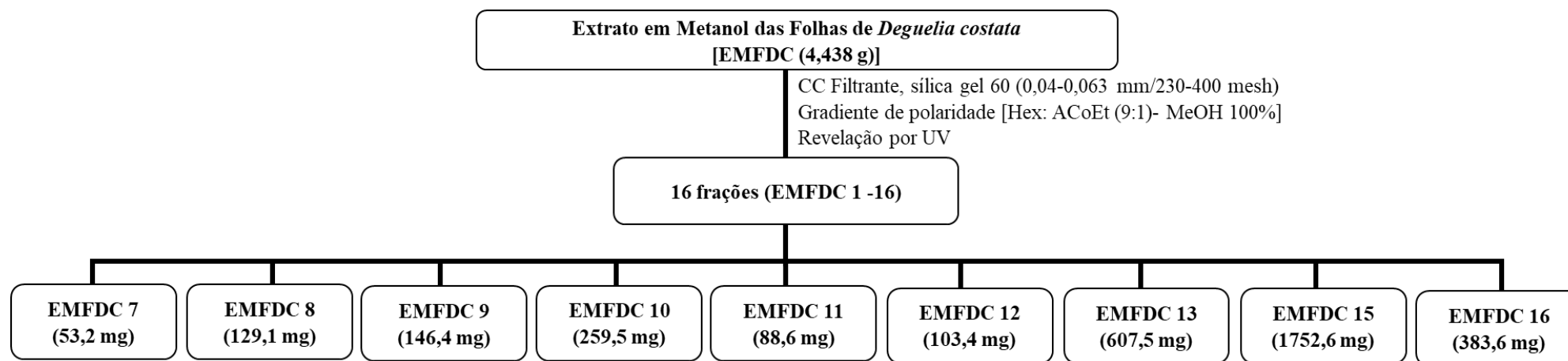
3.1.2 Materiais utilizados

Os extratos e frações foram analisados através das técnicas de cromatografia em coluna (CC) [sílica gel 60 (230-400 mesh, Merck)], cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) [placas de vidro de 20 cm x 20 cm com sílica gel 60 (PF₂₅₄+366, Merck)], cromatografia de fase reversa (C18) [placas de vidro de 20 cm x 20 cm com sílica gel C18, com indicador fluorescente, Merck] e sephadex LH-20 [Sigma-Aldrich]. A cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) foi realizada em cromatofolhas de alumínio [UV₂₅₄ fluorescente (Macherey-Nagel; Merck)]. Para o sistema eluente foram utilizados solventes grau PA [Vetec, Merck, Dinâmica, Synth e FMaia]. A câmara de UV [Boitton] com lâmpadas nos comprimentos de λ 254 nm e λ 365 nm e com solução de anisaldeído [etanol: anisaldeído: ácido sulfúrico: ácido acético (9:0,5:0,5:0,1)].

3.1.3 Fracionamento do extrato metanólico das folhas

O extrato metanólico das folhas de *D. costata* foi fracionado por cromatografia em coluna filtrante (CCF) pela estudante de iniciação científica Juliana Medrado Ribeiro, resultando em 16 grupos de frações (Fluxograma 1). Desses, as frações EMFDC 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13 foram selecionadas para futuros fracionamentos. A substância gancoanina M foi identificada como majoritária na fração EMFDC 11.

Fluxograma 1: Grupos de frações obtidas a partir do fracionamento do Extrato em Metanol das Folhas de *D. costata*.

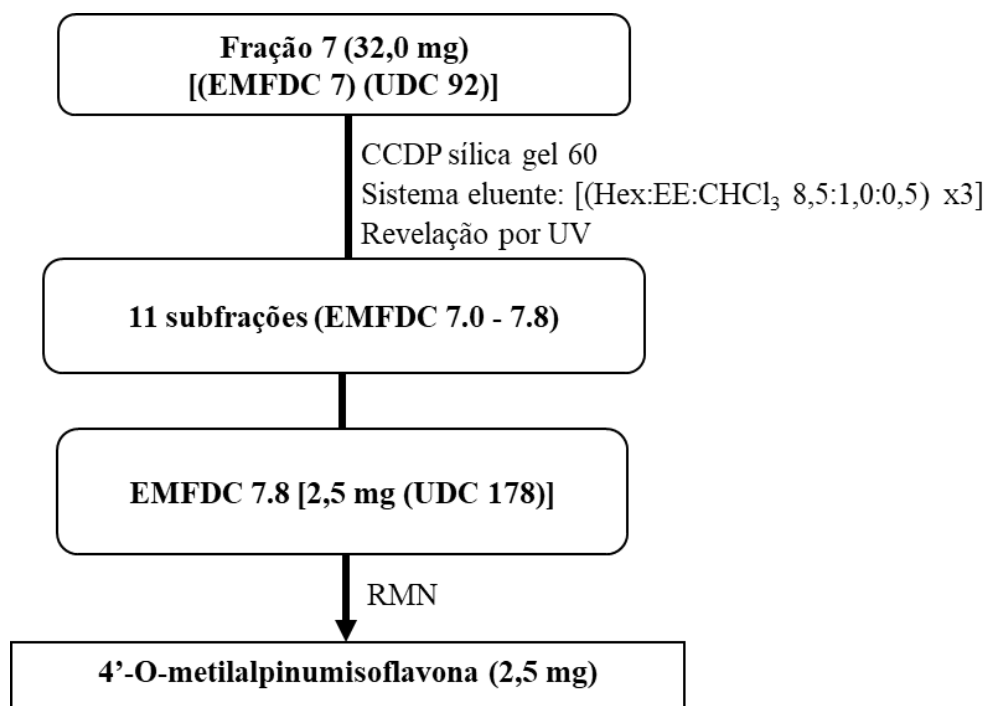


3.1.4. Análises cromatográficas do extrato metanólico das folhas (EMFDC)

3.1.4.1. Isolamento de 4'-O-metilderrone e 4'-O-metilalpinumisoflavona do extrato metanólico das folhas (EMFDC)

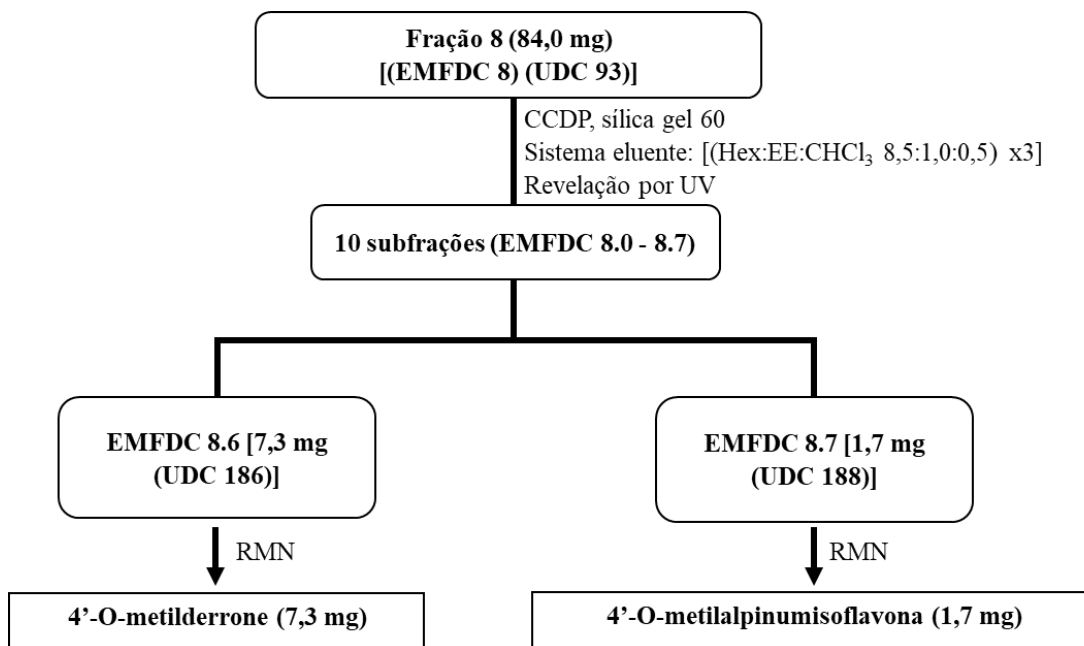
A fração EMFDC 7 (32,0 mg) foi submetida a cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP), eluída com o sistema: Hexano: éter etílico: clorofórmio [(8,5:1,0:0,5) x3], resultando em 11 subfrações (Fluxograma 2). A subfração EMFDC 7.8 rendeu a 4-O-metilalpinumisoflavona (Fluxograma 2). Esta substância e a 4'-O-metilderrone foram isoladas do EMFDC 8 (84,0 mg) por CCDP (Fluxograma 3). A subfração EMFDC 9.3-5 e a EMFDC10.4 também renderam a 4'-O-metilderrone, respectivamente, após análises por CC da fração EMFDC 9 (Fluxograma 4), seguida de CCDP e CC da fração EMFDC 10 (Fluxograma 5).

Fluxograma 2: Subfrações obtidas da análise cromatográfica de EMFDC 7.



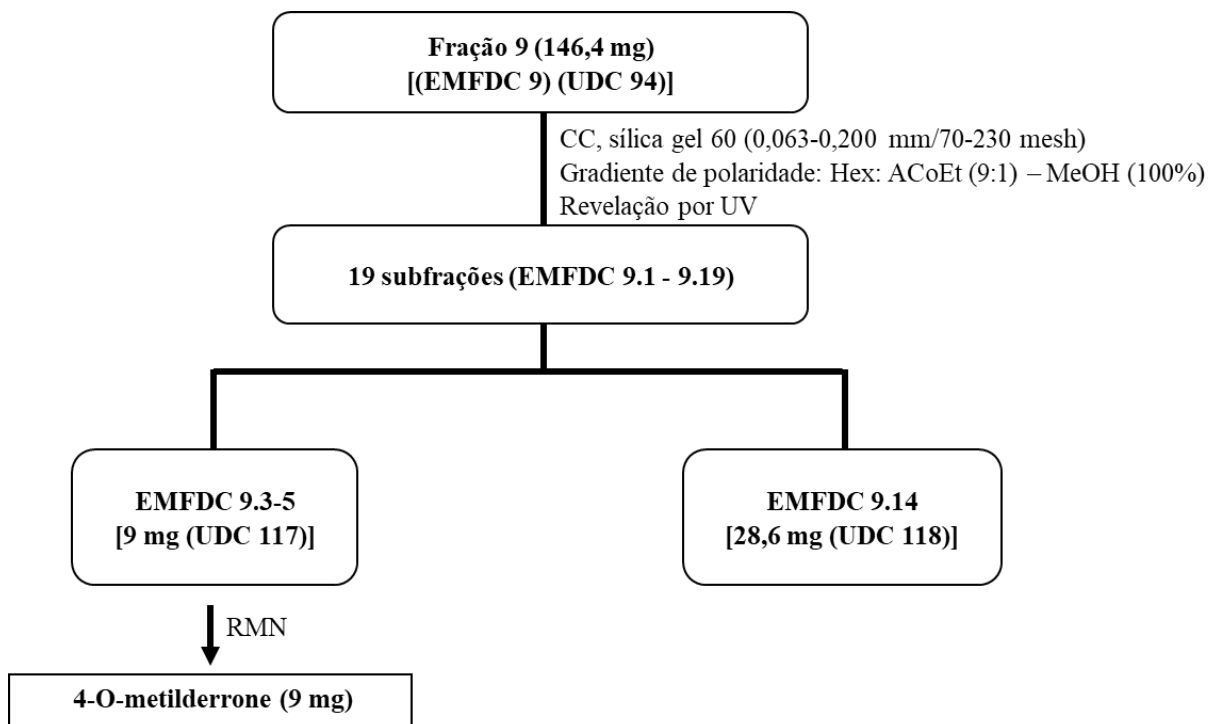
UDC = Código atribuído as amostras analisadas no equipamento de RMN da UFBA.

Fluxograma 3: Subfrações obtidas da análise cromatográfica de EMFDC 8.



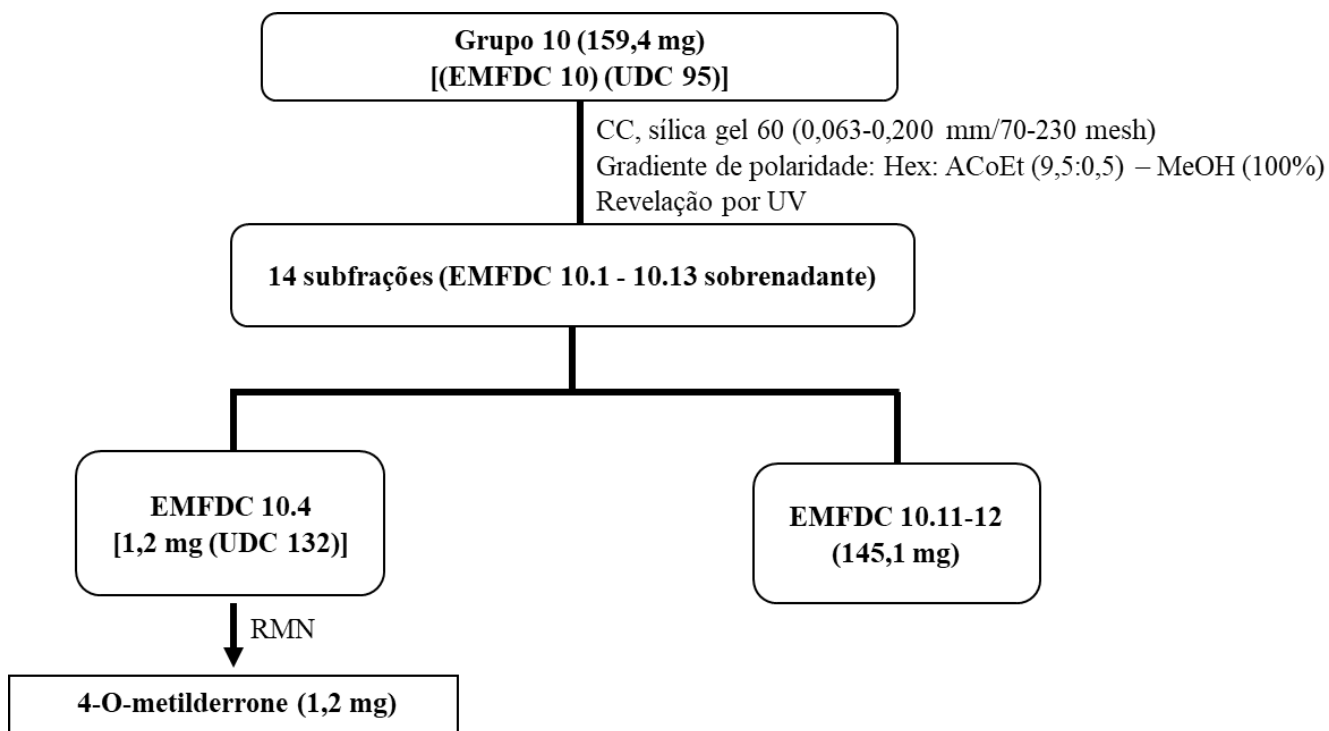
UDC = Código atribuído as amostras analisadas no equipamento de RMN da UFBA.

Fluxograma 4: Subfrações obtidas da análise cromatográfica do EMFDC 9.



UDC = Código atribuído as amostras analisadas no equipamento de RMN da UFBA.

Fluxograma 5: Subfrações obtidas após análise cromatográfica de EMFDC 10.

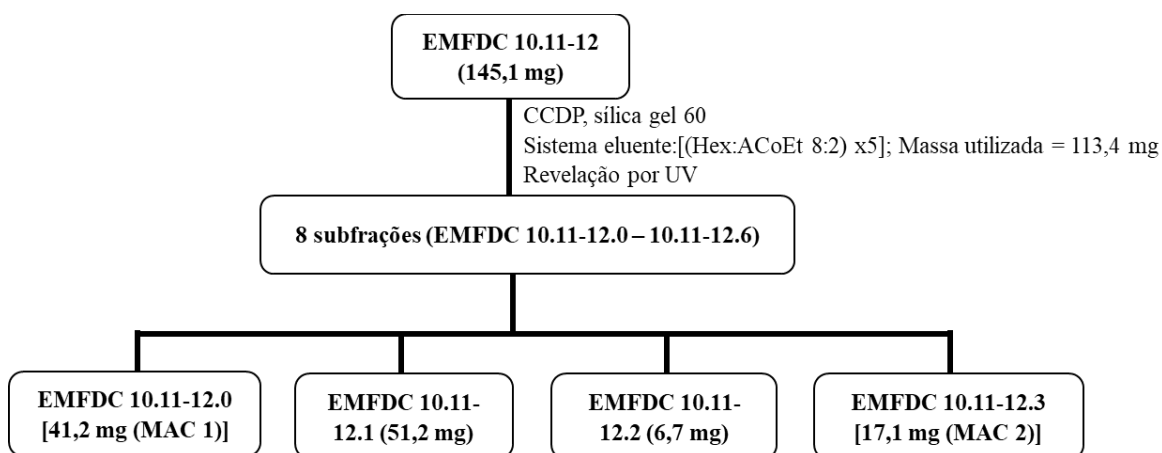


UDC = Código atribuído as amostras analisadas no equipamento de RMN da UFBA.

3.1.4.2. Análises cromatográficas de frações selecionadas para avaliação biológica

As amostras de subfração EMFDC 10. 11-12 (145,1 mg) e a fração EMDFC 12 (73,7 mg) foram submetidas a CCDP e CC, seguida de CCDP, respectivamente, conforme as condições mostradas nos fluxogramas 6 e 7.

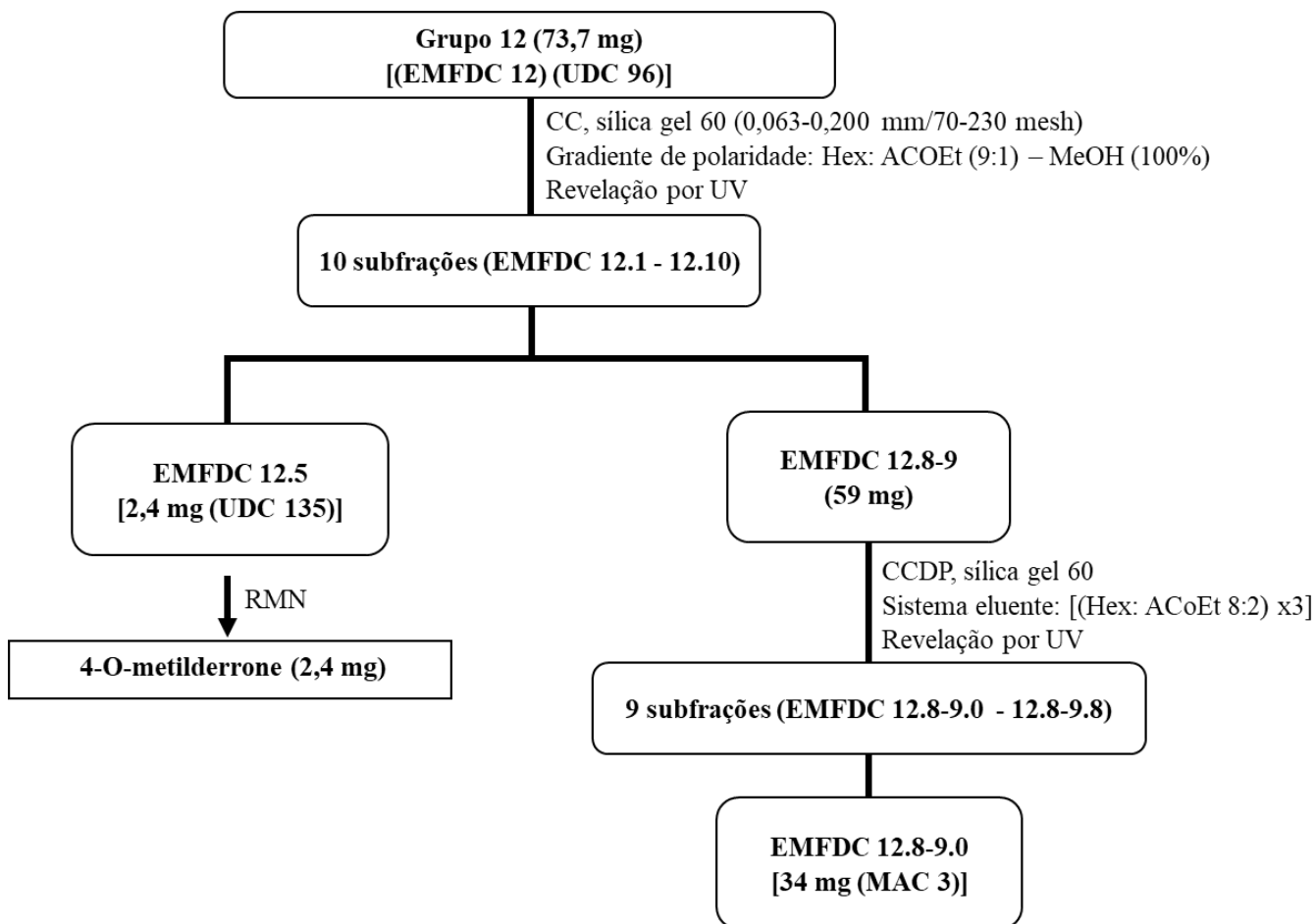
Fluxograma 6: Análise cromatográfica de EMFDC 10.11-12.



UDC = Código atribuído as amostras analisadas no equipamento de RMN da UFBA.

MAC = Código atribuído as amostras analisadas no equipamento de RMN da UFSCar.

Fluxograma 7: Análise cromatográfica de EMFDC 12.

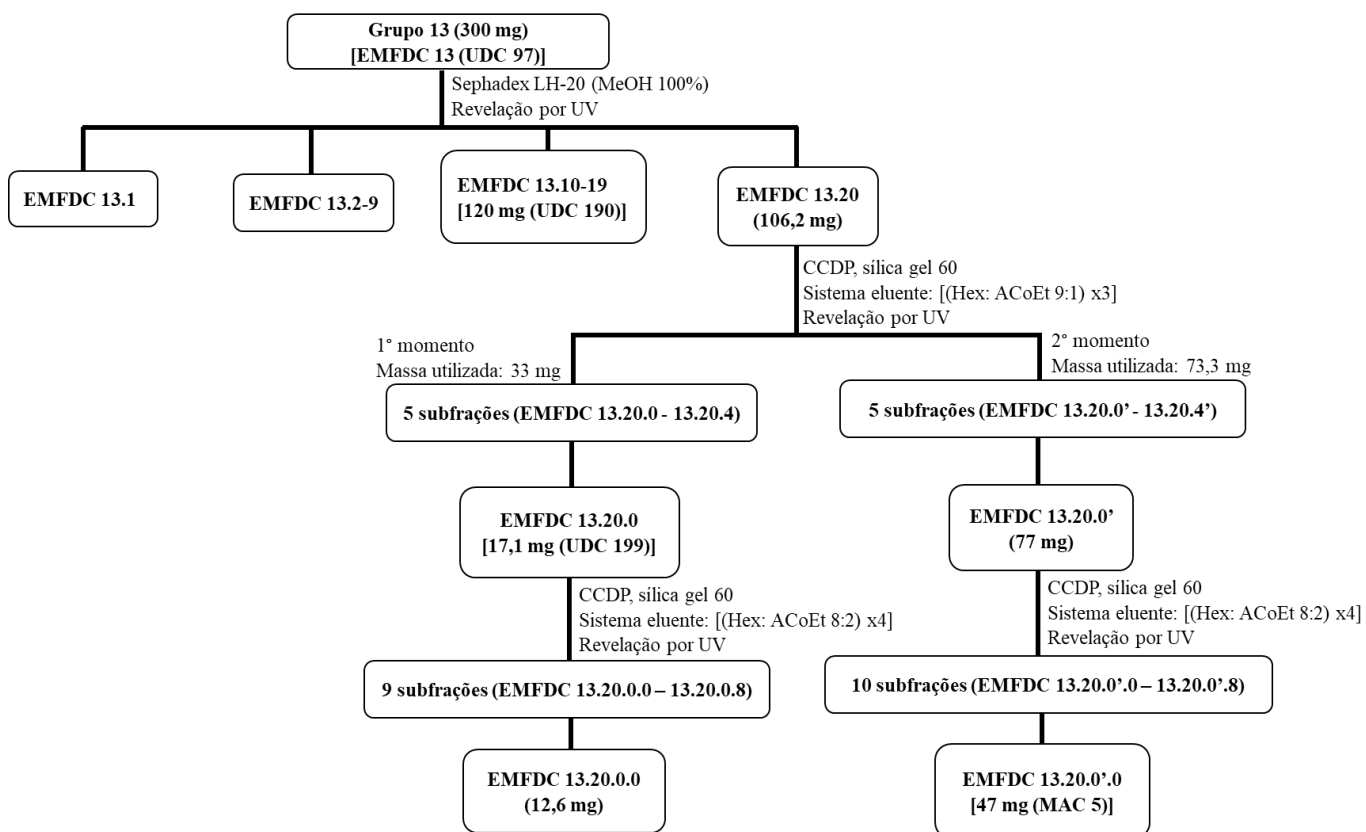


UDC = Código atribuído as amostras analisadas no equipamento de RMN da UFBA.

MAC = Código atribuído as amostras analisadas no equipamento de RMN da UFSCar.

A fração 13, EMFDC 13 (300 mg) foi fracionado por Sephadex LH-20 em MeOH (100%) (Fluxograma 8). As 20 frações obtidas foram reunidas em 4 grupos de frações, após monitoramento por CCDC. Em dois momentos a fração EMFDC 13.20 foi fracionada por CCDP. O primeiro estudo cromatográfico foi em 2019 (Fluxograma 8) e o outro em 2021 (Fluxograma 8). Embora tenham sido fracionadas sob as mesmas condições, o número de subfrações obtidos foram diferentes, por isso estas foram codificadas de forma diferente (Fluxograma 8). As origens de EMFDC 13.20.0 (17,1 mg) e EMFDC 13.20.0' (77 mg), foram fracionadas por CCDP em sistema Hex:Acoet [(8:2) x4], resultando em 9 e 10 frações, respectivamente.

Fluxograma 8: Análise cromatográfica de EMFDC 13.



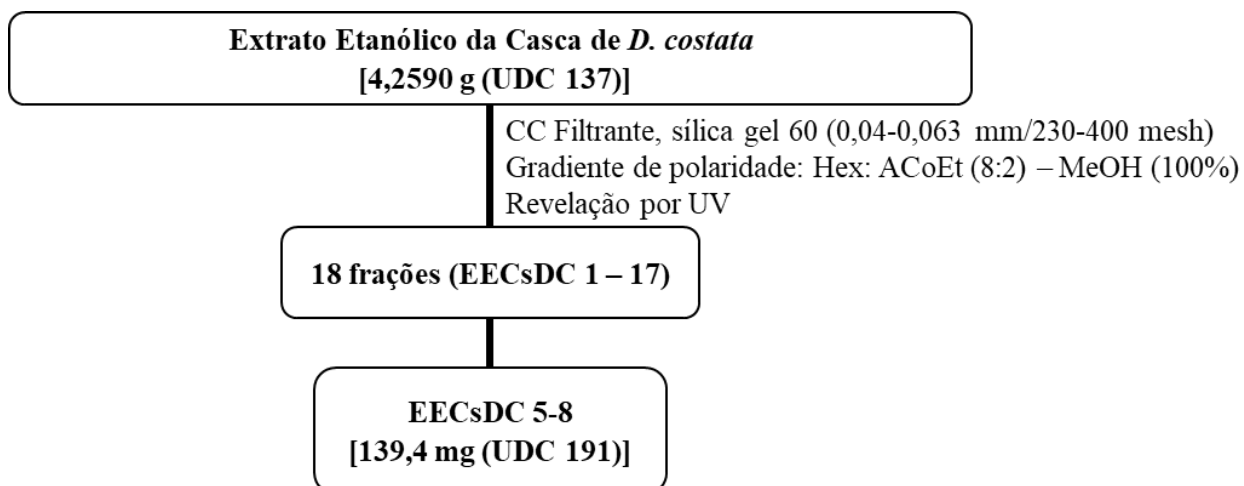
UDC = Código atribuído as amostras analisadas no equipamento de RMN da UFBA.

MAC = Código atribuído as amostras analisadas no equipamento de RMN da UFSCar.

3.1.5 Fracionamento do extrato em etanol da casca do caule

O extrato etanólico da casca do caule de *D. costata* (EECsDC, 4,2590 g) foi inicialmente fracionado pela estudante de iniciação científica Juliana Medrado Ribeiro por CCF, em sílica gel 60 (0,04-0,063 mm/230-400 mesh) por gradiente de polaridade, sendo obtidas 18 frações (Fluxograma 9). Dessas a fração 10 foi particionada por CCDP em sistema Hexano: Acetato de etila [(9,5:0,5) x 10], resultando em sete frações. As frações 5, 6, 7 e 8 foram reunidas e submetidas a duas CCDP's em sistema Hexano: Acetato de etila [(9:1) x 3]. A primeira usando 51,7 mg da fração, a segunda 87,3 mg e renderam 6 frações.

Fluxograma 9: Grupos de frações obtidas a partir do fracionamento do Extrato em Etanol das cascas do caule de *D. costata*.



UDC = Código atribuído as amostras analisadas no equipamento de RMN da UFBA.

3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H foram obtidos no Laboratório Baiano de Ressonância Magnética Nuclear (LABAREMN) da Universidade Federal da Bahia e no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). As análises no LABAREMN foram em espectrômetro operando a 500 MHz (Varian INOVA-500), para solubilizar as amostras dos extratos e frações foram utilizados clorofórmio deuterado (CDCl_3) e metanol deuterado (MeOD). Na UFSCar as análises foram em um espectrômetro BRUKER DRX de 400 MHz (9,4 Tesla), para a frequência do hidrogênio, modelo AVANCE III, equipado com cinco sondas: duas sondas de 2,5 mm BBO (Broad Band Observe) e BBI, duas sondas de 5 mm BBO e BBI e uma sonda de 5 mm BBI com ATMA; unidade de temperatura variável, unidade geradora de gradiente de campo e trocador automático de amostra. As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado (CDCl_3).

3.3 Atividades antibacteriana e antifúngica

O ensaio de microdiluição em caldo ocorreu segundo as normas CLSI (2002; 2003), antiga NCCLS, com modificações (ARAÚJO *et al.*, 2017) frente as bactérias *Micrococcus luteus* (ATCC 10240); *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538); *S. epidermidis* (Winslow & Winslow) Evans (CCT 1488; ATCC 12228); *Bacillus subtilis* (ATCC 6633); *B. cereus* Frankland & Frankland (CCT 0096); *Escherichia coli* (ATCC 94863); *Pseudomonas aeruginosa* (CCT 0090; ATCC 27853) e *Salmonella choleraesius* (ATCC 14028) e os fungos *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. glabrata* (CCT 0728) e *Fusarium oxysporum* (CCT 3243). Todas as cepas foram adquiridas da Coleção de Culturas Tropical (CCT) da Fundação André Tosello. Estas culturas foram mantidas em meios de cultivo ágar nutriente (bactérias) e ágar de levedura e malte (fungos), com periódicos repiques e incubação por 72 horas (26 °C), para fungos e 24 horas (37 °C), para bactérias.

As amostras testadas (Tabela 1) foram solubilizadas em DMSO 20% (v v⁻¹), em algumas foi preciso adicionar 5% de tween_80, e resultaram em soluções estoques com concentração de 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (extratos e frações com maior quantidade de massa) e 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para frações e compostos. O método de microdiluição em caldo consiste na adição de 100 μL de meio de cultivo líquido [caldo nutriente (Acumedia) para bactérias; caldo de levedura (BD), glicose (Anidrol) e malte (Acumedia) para as leveduras; extrato

de batata (Acumedia) e glicose (Anidrol) para *Fusarium oxysporum*], 100 µL das soluções estoques das amostras foram adicionados em triplicata na primeira fileira de uma placa de 96 poços ou de Elisa. Em seguida, ocorreu a adição de 100 µL dos controles, cloranfenicol (100 µg mL⁻¹) ou benzilpenicilina (100 µg mL⁻¹), para as bactérias Gram positivas; garamicina (20 µg mL⁻¹), para as bactérias Gram negativas, ciclopirox olamina (100 µg mL⁻¹), para as cândidas e, anfotericina B (250 µg mL⁻¹), para *F. oxysporum*. Uma solução com o diluente, DMSO 20%, também foi adicionada a placa. A diluição seriada foi realizada, com fator de diluição de dois. Após a diluição seriada, preparou-se o inóculo do microrganismo, comparando sua turbidez até alcançar a escala 0.5 de McFarland (aproximadamente 10⁸ UFC mL⁻¹). Este inóculo foi diluído em meio de cultivo na proporção de 100 µL do inóculo para 10 mL de meio de cultivo apropriado. Em seguida, transferiu-se 100 µL desta suspensão para cada poço da placa de Elisa.

A placa foi selada e colocada para incubação por 24 horas a 36 °C, para bactérias e 72 horas a 27 °C, para os fungos. Decorrido o tempo de incubação foi feita a leitura dos resultados de forma visual para determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Em seguida, nos poços que não apresentaram turbidez, ou seja, que ocorreram inibição do crescimento dos microrganismos testados foi retirada uma alíquota e feita a semeadura, em placas de Petri contendo meio de cultivo sólido, apropriado para cada microrganismo, nas mesmas condições que foram preparados para os ensaios de microdiluição em caldo com adição de ágar (Kasvi). Posteriormente as placas foram seladas e incubadas nos seus tempo e temperatura característicos de crescimento para determinação da concentração bactericida mínima (CBM) e concentração fungicida mínima (CFM).

Tabela 1. Informações sobre as amostras de *D. costata* que foram selecionadas para os ensaios biológicos.

Códigos das amostras	Significado	**Concentração testada ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
EDCsDC*	Extrato em diclorometano da casca de <i>D. costata</i>	500
EDCsDC 10	Fração do extrato em diclorometano da casca de <i>D. costata</i> 10	100
EDCsDC 10.18	Fração do extrato em diclorometano da casca de <i>D. costata</i> 10.18	100
EDCsDC 10.19	Fração do extrato em diclorometano da casca de <i>D. costata</i> 10.19	100
EDCsDC 10.21	Fração do extrato em diclorometano da casca de <i>D. costata</i> 10.21	100
EDCsDC 15	Fração do extrato em diclorometano da casca de <i>D. costata</i> 15	100
EDCsDC 15.21	Fração do extrato em diclorometano da casca de <i>D. costata</i> 15.21	100
EDCsDC 15.22	Fração do extrato em diclorometano da casca de <i>D. costata</i> 15.22	100
EDCsDC 15.23	Fração do extrato em diclorometano da casca de <i>D. costata</i> 15.23	100
EDCsDC 15.24	Fração do extrato em diclorometano da casca de <i>D. costata</i> 15.24	100
EECsDC	Extrato em etanol da casca de <i>D. costata</i>	500
EECsDC 5-8	Fração do extrato em etanol da casca de <i>D. costata</i> 5-8	100
EECsDC 11-12	Fração do extrato em etanol da casca de <i>D. costata</i> 11-12	100
EECsDC 11.21	Fração do extrato em etanol da casca de <i>D. costata</i> 11-12.21	100
EECsDC 13-15	Fração do extrato em etanol da casca de <i>D. costata</i> 13-15	100
EECsDC 13-15.9	Fração do extrato em etanol da casca de <i>D. costata</i> 13-15.9	100
EECsDC 13-15.10	Fração do extrato em etanol da casca de <i>D. costata</i> 13-15.10	100
EECsDC 16	Fração do extrato em etanol da casca de <i>D. costata</i> 16	100
EECsDC 17	Fração do extrato em etanol da casca de <i>D. costata</i> 17	100
EMFDC 9	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 9	500
EMFDC 9.14	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 9.14	500
EMFDC 10	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 10	500
EMFDC 10.11-12.0	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 10.11-12.0	500
EMFDC 10.11-12.1	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 10.11-12.1	500
EMFDC 10.11-12.2	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 10.11-12.2	100
EMFDC 10.11-12.3	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 10.11-12.3	500
EMFDC 11.7-9.0	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 11.7-9.0	500
EMFDC 12	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 12	500
EMFDC 12.8-9.0	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 12.8-9.0	500
EMFDC 13	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 13	500
EMFDC 13.10-19	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 13.10-19	500
EMFDC 13.20	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 13.20	100
EMFDC 13.20.0'	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 13.20.0'	100
EMFDC 13.20.0.0	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 13.20.0.0	100
EMFDC 13.20.0'.0	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 13.20.0'.0	500
EMFDC 15	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 15	500
EMFDC 16	Fração do extrato em metanol das folhas de <i>D. costata</i> 16	500

*Lemes (2015); ** Concentração máxima testada ($\mu\text{g mL}^{-1}$) no final do experimento.

3.4 Atividade antileishmania

A avaliação da atividade antileishmania ocorreu no Laboratório de Imunobiologia da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Os ensaios foram realizados com base no teste de MTT (REILLY *et al.*, 1998) em promastigotas de *Leishmania amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8) que foram cultivadas em cultura axênica a 24 °C em RPMI 1640, suplementado com 10% de soro bovino fetal (SBF) inativado pelo calor, 20mM Hepes (N-2-hydroxyetrylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid), e 50 µg/mL de gentamicina. A cultura era repicada a cada 5 dias para manutenção da população de parasitos.

Promastigotas, na concentração de 5×10^5 parasitos/poço, foram distribuídas (100 µL/poço) em placas de microtitulação de fundo plano com 96 poços. As amostras testadas (dissolvidas em DMSO) em diferentes concentrações (3,1 a 100 µg mL⁻¹) foram adicionados aos poços contendo promastigotas. Após 72 h de incubação, 10 µl de uma solução de MTT (5 mg mL⁻¹) foram adicionados a cada poço e incubados por 4 h. A reação foi então interrompida com a adição de 100 µL de uma solução de dimetilformamida e dodecilsulfato de sódio a 10% (1: 1) e depois lida a 570 nm. A anfotericina B foi utilizada como composto de referência. Todas as experiências foram realizadas em triplicata. O percentual de inibição do parasito foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ de inibição} = \text{DO controle} - \text{DO amostras} / \text{DO controle} \times 100$$

$$\text{DO Controle} = \text{Absorbância de promastigotas tratados com DMSO}$$

$$\text{DO amostras} = \text{Absorbância de promastigotas tratadas com compostos testados}$$

A concentração que inibiu 50% do crescimento do parasita (IC₅₀) foi calculada após avaliação percentual da inibição do crescimento em diferentes concentrações (software Prisma). As amostras testadas foram 4'-O-metilderrone, escandenina, isolada por Miguez (2018) e os extratos em diclorometano das folhas (EDFDC) e etanólico das raízes (EERDC), trabalhados por Serafim (2014) e Miguez (2018).

3.5 Atividade anti-*Trypanosoma cruzi*

A avaliação da atividade frente ao *Trypanosoma cruzi* ocorreu em parceria com a Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública e com o Instituto Gonçalo Moniz (Fiocruz-Ba). Todos os experimentos foram realizados com a cepa Y do *T. cruzi*. A forma tripomastigota foi obtida do sobrenadante de células LLC-MK2 infectadas e mantida em

meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) e penicilina-estreptomicina (100 U/mL) (todos da Gibco/Life Technologies, Grand Island, NY, EUA) a 37 °C com 5% de CO₂.

O protocolo estabelecido anteriormente por Bastos e colaboradores (2019) foi utilizado para avaliar o efeito de moléculas contra tripomastigotas. Os parasitas foram cultivados em placas de 96 poços (2 x 10⁶ células/mL) na presença ou ausência de moléculas em diferentes concentrações por 24 horas. Parasitas viáveis foram contados em hemocítmetro, e a atividade das moléculas foi expressa em concentração efetiva de 50% (EC₅₀), em comparação aos parasitas não tratados.

As moléculas também foram avaliadas contra macrófagos infectados. Cinco dias após a injeção de tioglicolato de sódio a 3% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), os macrófagos foram obtidos por lavagem com solução salina na cavidade peritoneal de camundongos BALB/c. As células (5 x 10⁵ células/mL) foram cultivadas em uma placa de 96 poços e mantidas durante a noite a 37 °C com 5% de CO₂. Após 24 horas de incubação, as células foram infectadas com tripomastigotas (10 parasitas: 1 célula hospedeira) por 24 horas. Os tripomastigotas foram removidos por lavagens sucessivas com solução salina e as células infectadas foram tratadas por 72 horas. As células foram fixadas e coradas pela adição de 50 µL de uma solução contendo 4% de paraformaldeído e 4 µM de corante de DNA Draq5 (BioStatus, Shepshed, UK) por poço. A análise foi realizada em um microscópio confocal Operetta High Content Imaging System (PerkinElmer, Waltham, MA, EUA) usando uma objetiva de ar de 10X. A porcentagem de parasitas intracelulares foi determinada e comparada ao controle negativo, e a atividade antiparasitária da molécula também foi expressa em EC₅₀. Cada concentração de molécula foi testada em triplicata, e três experimentos independentes foram realizados. O medicamento de referência, benznidazol, foi usado como controle positivo. A análise de regressão não linear foi usada para calcular os valores de EC₅₀ realizados com GraphPad Prism versão 5.01 (Graph Pad Software, San Diego, CA, EUA). Os experimentos foram conduzidos de acordo com as recomendações das Normas de Ética e Aprovados pelo Comitê de Ética em Animais (Instituto Gonçalo Moniz, protocolo número: 001/2015). As amostras testadas foram as mesmas do ensaio antileishmania.

3.6 Toxicidade em células de mamíferos

Todas as amostras de extratos e substâncias avaliadas quanto ao efeito antiprotozoário foram testadas em macrófagos peritoneais. As células (5×10^5 células mL^{-1}) foram semeadas em placas de 96 poços e tratadas por 72 horas. Após o tratamento, as células foram lavadas duas vezes com solução salina e a viabilidade celular foi determinada pelo ensaio AlamarBlue (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. As leituras colorimétricas foram realizadas após 24 horas a 570 e 600 nm. Os valores da concentração citotóxica de cinquenta por cento (CC_{50}) foram calculados usando pontos de dados recolhidos de três experimentos independentes. Violeta de genciana (Synth, São Paulo, Brasil) foi usada como controle positivo. A análise de regressão não linear foi usada para calcular os valores de CC_{50} realizados com GraphPad Prism versão 5.01 (Graph Pad Software). Esse experimento foi realizado em parceria com a Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública e com o Instituto Gonçalo Moniz (Fiocruz-Ba).

3.7 Determinação dos conteúdos de taninos

A determinação dos conteúdos de taninos (TCs) dos extratos metanólicos foi por ensaio de difusão radial, segundo Hagerman (1987) e Maier (2017), com algumas modificações. Um tampão foi preparado pela mistura de soluções de ácido acético ($0,5 \mu\text{M}$) (Synth- PA) e ácido ascórbico ($60 \mu\text{M}$) (Synth-99,0%) até pH 5,0, ajustado pela adição de NaOH (2 mol L^{-1}). O meio sólido foi preparado com a mistura de agarose - tipo I (Sigma-Aldrich) e uma alíquota da solução descrita anteriormente, em um banho de água a 45°C , sob agitação. Após resfriamento, foram adicionados albumina de sérica bovina (Merck), sob agitação, até total solubilização. Alíquotas de 09 mL desta mistura foram distribuídas em placas de Petri (9 cm de diâmetro) para solidificação. As placas foram seladas e armazenadas em freezer por alguns dias a 4°C . Em seguida, foram feitos poços de 7 mm de diâmetro, em cada placa. A curva de calibração foi preparada com o padrão ácido tânico (Sigma-Aldrich) na faixa de concentrações de 5 – 50 mg mL^{-1} . Alíquotas de 20 μL de cada solução de ácido tânico foram aplicados nos poços das placas, em triplicatas, e estas foram incubadas por 72 horas a 30°C . Posteriormente, os halos de precipitação foram medidos, com o auxílio de uma régua. Soluções estoques dos extratos etanólico das cascas (EECsDC), metanólico das folhas (EMFDC), diclorometano das folhas (EDFDC) e etanólico das raízes (EERDC), sendo os dois últimos trabalhados por Serafim (2014) e Miguez (2018), e foram preparadas na concentração de 10 mg mL^{-1} , 50% (v/v).

Desta solução, alíquotas de 20 µL foram adicionados aos poços em triplicata e as leituras foram feitas após 72 horas de incubação a 30°C, semelhantemente ao procedimento empregado para o ácido tânico.

3.8 Atividade antitumoral para linhagens celulares

3.8.1 Ensaio de atividade citotóxica frente a linhagem celular HL-60

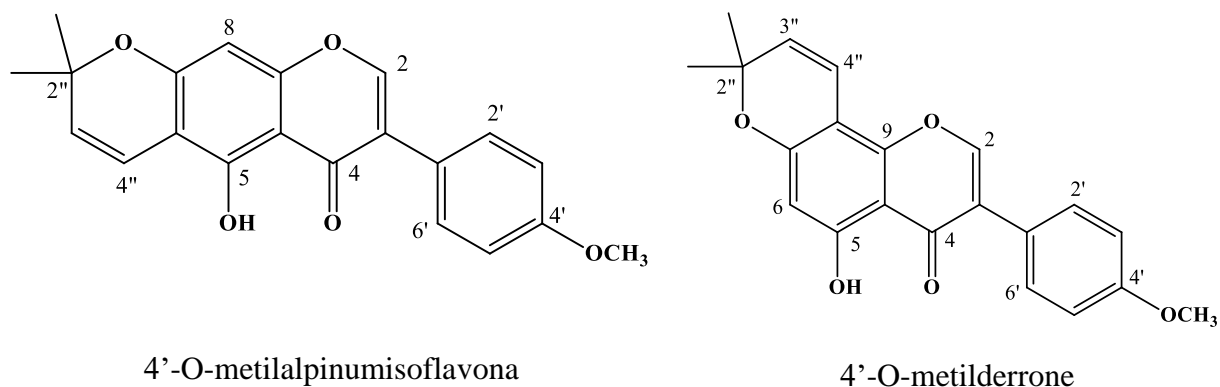
O ensaio foi realizado no Instituto Gonçalo Moniz (Fiocruz-Ba). Nesse ensaio a doxorrubicina (cloridrato de doxorrubicina, Laboratório IMA S.A.I.C., Buenos Aires, Argentina) foi usada como droga anticâncer de referência. Todos os compostos foram dissolvidos em DMSO (PanReac, Barcelona, Espanha) e diluídos em meio de cultura de células para uso nos ensaios. A concentração final de DMSO foi inferior a 0,5% em todos os experimentos.

A viabilidade celular foi avaliada pelo método Alamar blue conforme descrito anteriormente (SILVA *et al.*, 2017). As amostras de *D. costata* testadas foram escandénina, 4'-O-metilderrone, os extratos metanólico e diclorometânico das folhas, etanólio das raízes e as frações do extrato metanólico das folhas EMFDC 11 e 13 e a sua subfração: 13.20.0. Células HL-60 (leucemia promielocítica aguda humana) foram semeadas em placas de 96 poços para todos os experimentos (3×10^5 células /mL) em meio RPMI suplementado com 10% de FBS e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ de gentamicina e incubadas por 24 h em 37 °C e 5% de CO₂. Após esse tempo, cada inibidor de teste foi adicionado em oito concentrações ($100-0,78 \mu\text{g mL}^{-1}$), em triplicata e incubado por 72 h. Em seguida, 20 µL/poço de AlamarBlue (Invitrogen, Carlsbad, CA) foram adicionados às placas por 4 h. A absorbância a 570 nm e 600 nm foi medida usando o leitor de microplacas SpectraMax 190 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). A doxorrubicina ($10-0,078 \mu\text{g mL}^{-1}$) foi usada como controle positivo. A concentração que inibe a atividade de 50% das células (IC₅₀) das amostras foi calculada com base em três experimentos independentes e em triplicata.

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo fitoquímico do extrato em metanol das folhas de *D. costata* resultou na identificação estrutural das isoflavonas 4'-O-metilalpinumisoflavona e 4'-O-metilderrone (Figura 8).

Figura 8. Fórmulas estruturais das substâncias isoladas do extrato metanólico das folhas de *D. costata*.



4.1 Identificação da 4'-O-metilalpinumisoflavona

Analisando o espectro de RMN de ^1H da fração EMFDC 7 (UDC 92) do extrato metanólico das folhas de *D. costata* (Anexo A, E.1, pág. 72) foram observados singletos na faixa de δ 13,20-12,95 indicativos de hidrogênios de hidroxila (-OH), em anéis A de derivados de isoflavonoides (MOHAN RAO; IYER; IYER, 1987), em ligação de hidrogênio intramolecular com o oxigênio da carbonila do anel C, chamada de hidroxila quelada. Sinais de hidrogênios aromáticos foram observados na faixa de δ 7,92 – 6,34. Os sinais na faixa de δ 3,90- 3,85 indicam presença de metoxilas (-OCH₃), de δ 0,88 – 2,10 e de δ 5,64 - 4,09 hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos. Todos esses sinais sugerem a presença de no mínimo 3 (três) derivados de isoflavonas nessa fração. O espectro de RMN de ^1H (Anexo A, E.2, pág. 73) de sua subfração EMFDC 7.8 (UDC 178) apresentou singlete em δ 13,16 (s, 1H), característico de hidroxila quelada (-OH). O sinal em δ 7, 83 (s, 1H) é indicativo do hidrogênio H-2 ligado ao carbono C-2 de um derivado de isoflavona. Além disso os sinais observados na região de hidrogênios aromáticos [δ 7,45 (d, J = 8,5 Hz, 2H); δ 6,98 (d, J = 8,5 Hz, 2H); δ 6,33 (s, 1H)], juntamente com os dos grupos 2,2-dimetilcromeno e metoxila [δ 6,73 (d, J = 10,5 Hz, 1H), δ 5,62 (d, J = 10,0 Hz, 1H), δ 1,47 (s, 6H) e em δ 3,84 (s, 4'-OCH₃)] sugeriram a

presença de 4'-O-metilalpinumisoflavona (Figura 8), nesta fração, que foi confirmada por comparação desses dados com os da literatura (MOHAN RAO; IYER; IYER, 1987) (tabela 2). Essa isoflavona já havia sido isolada do extrato em diclorometano das folhas de *D. costata* por Miguez (2018). Essa substância também foi identificada no espectro de RMN de ¹H da fração EMFDC 8.7 (UDC 188) (Anexo A, E.5, pág. 76) resultando em uma massa de 4,2 mg. A 4'-O-metilalpinumisoflavona já foi isolada das espécies *Calopogonium mucunoides* (Fabaceae) (NDEMANGOU *et al.*, 2013), *Maclura tricuspidata* (Moraceae) (LEE *et al.*, 2019), *Maclura cochinchinensis* (Moraceae) (POLBUPPHA *et al.*, 2021) e *Lonchocarpus glabrescens*, sinóníma *Deguelia densiflora*, (Fabaceae) (LIU *et al.*, 2009).

Tabela 2. Comparação dos dados de RMN de ^1H de EMFDC 7.8 com os dados da 4'-O-metilalpinumisoflavona da literatura (MIGUEZ, 2018) e (MOHAN RAO; IYER; IYER, 1987).

Posição	EMFDC 7.8 (UDC 178)	4'-O-metilalpinumisoflavona	
	^1H (mult; J [Hz]; integração) [500 MHz; CDCl_3]	^1H (MIGUEZ, 2018) [500 MHz; CDCl_3]	^1H (MOHAN RAO; IYER; IYER, 1987) [100 MHz; CDCl_3]
2	7, 83 (s; 1H)	7,84 (s; 1H)	7,85 (s; 1H)
3			
4			
5			
6			
7			
8	6,33 (s;1H)	6,35 (s;1H)	6,36 (s;1H)
9			
10			
2'	7,45 (d; 8,5; 1H)	7,46 (d ;8,8; 1H)	7,48(d;8,0;1H)
3'	6,98 (d; 8,5; 1H)	6,99 (d; 8,8; 1H)	7,00(d; 8,0; 1H)
4'			
5'	6,98 (d; 8,5; 1H)	6,99 (d; 8,8; 1H)	7,00 (d; 8,0 1H)
6'	7,45 (d;8,5; 1H)	7,46 (d; 8,8; 1H)	7,48 (d;8,0;1H)
2''			
3''	5,62 (d; 10,0; 1H)	5,63 (d;10,0; 1H)	5,65 (d; 10,0;1H)
4''	6,73 (d; 10,5; 1H)	6,74 (d;10,0; 1H)	6,75 (d;10,0;1H)
5-OH	13,16 (s; 1H)	13,18 (s;1H)	13,16 (s; 1H)
4'-OCH ₃	3,84 (s; 3H)	3,86 (s;3H)	3,86 (s;3H)
2xCH ₃	1,47 (s; 6H)	1,49 (s; 6H)	1,44 (s; 6H)

4.2 Identificação da 4'-O-metilderrone

No espectro de RMN de ^1H da fração EMFDC 8 (UDC 93) do extrato metanólico das folhas de *D. costata* (Anexo A, E.3, pág. 74) se observou singletos na faixa de δ 13,20-12,95, similarmente ao RMN de ^1H da fração EMFDC 7, indicativos de grupos hidroxila (-OH), em ligação de hidrogênio intramolecular com o oxigênio de grupo carbonila. Outros singletos na região de δ 9,54-8,56 sugeriram a presença de hidrogênios de hidroxila (-OH) ligados a anéis aromáticos. Sinais de hidrogênios aromáticos foram observados na faixa de δ 7,90-6,30. Os sinais na faixa de δ 3,89- 3,64 indicam presença de metoxilas (-OCH₃), na faixa de δ 3,41-0,77 e δ 5,61-4,12 de hidrogênios metílicos,

metilênicos e metínicos. Todos esses sinais sugerem a presença derivados de isoflavonas. Um destes foi identificado como a 4'-O-metilalpinumisoflavona na fração EMFDC 8.7 (UDC 188), como citado anteriormente. No espectro de RMN de ^1H da subfração EMFDC 8.6 (UDC 186) (Anexo A, E.4, pág. 75) foram observados singletos em δ 12,93 (s, 1H), δ 7,89 (s, H-2), δ 6,29 (s, H-6), δ 3,85 (s, 4'-OCH₃) e δ 1,48 (s, 1H) e os dubletos em δ 7,46 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), δ 6,98 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), δ 6,68 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H) e δ 5,59 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H). A comparação desses dados com os da literatura (MIGUEZ, 2018; NDEMANGOU *et al.*, 2013) (tabela 3) possibilitou a identificação da isoflavona 4'-O-metilderrone (Figura 8). Essa substância já havia sido isolada de *D. costata* do extrato em diclorometano das folhas por Miguez (2018) e Serafim (2014) (28,4 g de extrato e 6,5 mg de 4'-O-metilderrone isolada) e do extrato em hexano da casca do caule (2582 g de extrato e 2,7 mg de 4'-O-metilderrone isolada) por Lemes (2015). A 4'-O-metilderrone é um regioisômero da 4'-O-metilalpinumisoflavona. Essa mesma substância foi identificada nos espectros de RMN de ^1H das frações EMFDC 9.3-5 (UDC 117) (Anexo A, E.7, pág. 78), EMFDC 10.4 (UDC 132) (Anexo A, E.10, pág. 81) e EMFDC 12.5 (UDC 135) (Anexo A, E.14, pág. 85), a massa total de 4'-O-metilderrone isolada foi de 19,9 mg. Essa substância já foi isolada de *Maclura cochinchinensis* (Moraceae) (POLBUPPHA *et al.*, 2021), *Calopogonium mucunoides* (Fabaceae) (NDEMANGOU *et al.*, 2013) e de mais 4 espécies de Fabaceae: *Derris robusta* (CHIBBER; SHARMA; DUTT, 1981), *Derris heyneana* (GANAPATY *et al.*, 2008a), *Euchresta horsfieldi* (MIZUNO *et al.*, 1990), *Lotus polyphyllus* (ABDEL-KADER *et al.*, 2009).

Tabela 3. Comparação dos dados de RMN de ^1H de EMFDC 8.6 com os dados da 4'-O-metilderrone da literatura (MIGUEZ, 2018) e (NDEMANGOU *et al.*, 2013).

Posição	EMFDC 8.6 (UDC 186)	4'-O-metilderrone	
	^1H (mult; J [Hz]; integração) [500 MHz; CDCl_3]	^1H (MIGUEZ, 2018) [500 MHz; CDCl_3]	^1H (NDEMANGOU <i>et al.</i> , 2013) 500 MHz; CDCl_3
2	7, 89 (s; 1H)	7,90 (s;1H)	7,80 (s;1H)
3			
4			
5			
6	6,29 (s;1H)	6,31 (s; 1H)	6,29, (s;1H)
7			
8			
9			
10			
2'	7,46 (d;8,5; 1H)	7,47 (d;8,8; 1H)	7,46 (d; 8,7; 1H)
3'	6,98 (d;8,5; 1H)	7,00 (d;8,8; 1H)	6,99(d; 8,7; 1H)
4'			
5'	6,98 (d;8,5; 1H)	7,00 (d;8,8; 1H)	6,99(d; 8,7; 1H)
6'	7,46 (d;8,5; 1H)	7.47 (d; 8,8; 1H)	7,46 (d; 8,7; 1H)
2''			
3''	5,59 (d; 10,0; 1H)	5,60 (d;10,0; 1H)	5,59 (d;10,0;1H)
4''	6,68 (d; 10,0; 1H)	6,70 (d;10,0; 1H)	6,64 (d;10,0,1H)
5-OH	12,93 (s; 1H)	12.94 (s;1H)	12,94 (s;1H)
4'-OCH ₃	3,85 (s; 3H)	3.86 (s;3H)	3,85 (s;3H)
2xCH ₃	1,48 (s; 6H)	1,49 (s; 6H)	1,48 (s; 6H)

4.3 Atividade antimicrobiana

Um total de 37 amostras de *D. costata* [extratos em etanol e diclorometano das cascas do caule e o metanólico das folhas de *D. costata*, incluindo algumas frações] (tabela 1) foram testadas frente bactérias e fungos, dessas amostras 12 apresentaram atividade antimicrobiana (tabela 4). O extrato em etanol da casca (EECsDC) (CIM = CBM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e sua fração EECsDC 5-8 (CIM = CBM = 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) apresentaram seletividade para *C. albicans* com efeito fungicida e o extrato metanólico das folhas EMFDC 10.11-12.0 (CIM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) fungistático. Essa ação antifúngica pode ser devido à presença majoritária de 4'-O-metilderrone em EMFDC 10.11-12.0, como identificado no seu espectro de RMN ^1H (Anexo A, E.11, pág. 82) (MAC 1). Já que esse composto também é fungistático para *C. albicans* (CIM = 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (MIGUEZ, 2018). O espectro de RMN de ^1H de EECsDC (UDC 137) (Anexo A, E.20, pág. 91) mostrou se tratar de uma mistura de compostos com sinais na faixa de δ 7,53-6,22, característicos de hidrogênios aromáticos, e muitos sinais de δ 5,39-0,75 que sugerem a presença de grupos metoxilas e de outros grupos de hidrogênios alifáticos, dentre outros. Já no espectro de RMN ^1H (Anexo A, E.21, pág. 92) da fração mais ativa: EECsDC 5-8 (UDC 191) foram observados sinais em δ 12,93, indicativo de hidroxila quelada e em δ 9,76-8,56, de hidroxilas fenólicas, além de sinais na mesma região observada no espectro do seu extrato. Esses dados reforçam que os derivados fenólicos podem ser os responsáveis por suas atividades antifúngicas.

As frações EMFDC 15 e EMFDC 16 foram seletivas para *B. cereus* com efeito bacteriostático (CIM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, ambas). Os sinais observados nos espectros de RMN de ^1H de EMFDC 15 (UDC 189) (Anexo A, E.18, pág. 89) [δ 12,83; δ 7,51-6,59; δ 3,90-3,76; δ 5,36-5,11; δ 3,39-0,87] e de EMFDC 16 (UDC 101) (Anexo A, E.19, pág. 90) [δ 8,52; δ 7,00-6,66; δ 3,90-3,31; δ 2,39-0,90], juntamente com a quimiosistemática do gênero *Deguelia*, sugerem a presença de mistura de derivados de isoflavonoides nestas frações.

A fração que mostrou ação antimicrobiana para um maior número de microrganismos foi EMFDC 9.14, do extrato metanólico das folhas, foi bacteriostática frente as bactérias gram positivas *S. aureus* (CIM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *M. luteus* (CIM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *B. subtilis* (CIM = 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *B. cereus* (CIM = 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$), com os menores valores de CIM para as duas últimas. No espectro de RMN de ^1H de EMFDC 9.14 (UDC 118)] (Anexo

A, E.8, pág. 79), foram observados sinais indicativos da presença de grupos hidroxila, hidrogênios aromáticos, hidrogênios em anel C de isoflavonas, metóxilas, dentre outros. Esses dados sugerem a presença de derivados de isoflavonoides como 4-hidróxi-3-fenilcumarinas e isoflavonas (MIGUEZ, 2018; SERAFIM, 2014). Embora o EMFDC 9.14 tenha sido antimicrobiano, sua fração de origem, EMFDC 9, não foi ativo. O espectro de EMFDC 9 (UDC 94) (Anexo A, E.6, pág. 77) mostrou singletos em δ 12,95-12,84, indicativos de hidroxila quelada, sinais em δ 9,53-8,50 característicos de hidroxilas ligadas a anéis aromáticos, hidrogênios aromáticos e do C-2 de isoflavonas na faixa de δ 8,03-6,16 foram observados, além dos sinais em δ 5,61-5,14, δ 3,91-3,64 (4'-OCH₃) e δ 3,53-0,82. O conjunto desses sinais indica que a fração possui derivados de isoflavonoides, dentre os quais a 4'-O-metilderrone, que foi também identificada fração EMFDC 9.3-5 (UDC 117) (Anexo A, E.7, pág. 78).

O gênero de bactéria mais suscetível às amostras testadas foi o *Bacillus* e dentre os fungos, *Candida*. A fração EMFDC 10.11-12.3 foi bactericida para *B. subtilis* (CIM = 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$; CBM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *B. cereus* (CIM = 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$; CBM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e fungioestático para *C. albicans* (CIM = 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Nos espectros de RMN ¹H (Anexo A, E.12, pág. 83) de (EMFDC 10.11-12.3, MAC 2) os sinais [δ 13,71-12,85; δ 10,30; δ 8,03-6,33; e em δ 5,63-0,86], juntamente com os observados no espectro de EMFDC 10 (UDC 95) (Anexo A, E.9, pág. 80) [δ 13,70-12,64; δ 9,62-8,60; δ 7,92-7,83; δ 3,98-3,64; δ 3,46-0,68; δ 5,63-4,90, dentre outros] indicam a presença de derivados de isoflavonas e de 4-hidroxi-3-fenilcumarinas pelos hidrogênios em hidroxila quelada; de H-2 do anel C de isoflavonas e do 4-OH do anel C de 4-hidroxi-3-fenilcumarinas, dentre outros. Neste grupo foi identificada na fração EMFDC 10.4 (UDC 132) a 4'-O-metilderrone (Anexo A, E.10, pág. 81).

A fração EMFDC 12.8-9.0 e sua fração de origem EMFDC 12 foram antibacterianos para espécies de *Bacillus* e para *C. albicans*. Os compostos com efeito antimicrobiano, provavelmente, estão concentrados na fração EMFDC 12.8-9.0, já que esta foi bactericida contra *B. subtilis* (CIM = CBM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *B. cereus* (CIM = CBM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e, adicionalmente fungioestático para *C. albicans* (CIM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Os seus espectros mostraram sinais nas regiões de hidroxilas queladas, hidrogênios em anel C de isoflavonas e hidrogênios aromáticos, dentre outros (Anexo A, E.15 e E.13, págs. 86 e 84) [EMFDC 12.8-9.0 (MAC 3) δ 13,29-12,64; δ 8,02-7,83; δ 7,48-6,29, dentre outros]

e os de EMFDC 12 (UDC 96) [δ 13,30-12,65; δ 8,59-8,55; δ 7,92-6,31; δ 3,93-3,64 (4'-OCH₃); δ 5,36-4,91 e δ 3,48-0,76]. Nesse grupo foi identificada 4'-O-metilderrone na fração EMFDC 12.5 (UDC 135) (Anexo A, E.14, pág. 85).

A fração EMFDC 13.20.0'.0, similarmente a EMFDC 12.8-9.0, também concentrou os compostos ativos contra espécies de *Bacillus* e *Candida*. Já que sua fração de origem, a EMFDC13 foi menos ativa. EMFDC 13.20.0'.0 se mostrou bacteriostática frente a *B. subtilis* (CIM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *B. cereus* (CIM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e fungicida para *C. albicans* (CIM = 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$; CBM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Nos seus espectros (Anexo A, E.16, pág. 87) de RMN ¹H, os sinais de EMFDC 13 (UDC 97) [δ 13,70-12,65; δ 9,52-8,56; δ 8,00-7,83; δ 7,50-6,29] e de EMFDC 13.20.0'.0 (MAC 5) [δ 13,68-12,83; δ 8,00-7,84; δ 7,63-6,29; δ 3,84-3,80; dentre outros] (Anexo A, E.17, pág. 88).

Diante da quimiosistemática do gênero *Deguelia*, que revela a predominância de isoflavonoides como isoflavononas, isoflavonas e 4-hidroxi-3-fenilumarinas, especialmente nas espécies da seção *Multiovulis*, ao qual *D. costata* pertence, juntamente com os dados observados nos espectros de RMN ¹H das amostras ativas, pode-se inferir que os resultados de atividade antimicrobiana destas frações e extratos são devido ao efeito sinérgico dos derivados dessas classes de compostos. Adicionalmente, os derivados fenólicos são da classe dos isoflavonoides, já que não foi detectada presença de taninos, pelo ensaio de determinação de taninos nestes extratos.

Tabela 4. Atividade antimicrobiana de extratos, frações e substâncias de *D. costata* (valores de CIM, CBM e CFM em µg mL⁻¹).

Amostras	Microrganismos																	
	<i>Ml</i>		<i>Sa</i>		<i>Bc</i>		<i>Bs</i>		<i>Pa</i>		<i>Ec</i>		<i>Ca</i>		<i>Cg</i>		<i>Fo</i>	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM
EECsDC	>500		>500		>500		>500		>500		>500		500	500	>500		>500	
EECsDC 5-8	>100		>100		>100		>100		>100		>100		100	100	>100		>100	
EMFDC 9.14	500	>500	500	>500	250	>500	250	>500	>500		>500		>500		>500		>500	
EMFDC 10.11-12.0	>500		>500		>500		>500		>500		>500		500	>500	>500		>500	
EMFDC 10.11-12.3	>500		>500		250	500	250	500	>500		>500		125	>500	>500		>500	
EMFDC 12	500	>500	>500		>500		500	500	>500		>500		250	500	>500		>500	
EMFDC 12.8-9.0	>500		>500		500	500	500	500	>500		>500		500	>500	>500		>500	
EMFDC 13	>500		>500		>500		500	>500	>500		>500		500	500	>500		>500	
EMFDC 13.10-19	500	>500	>500		>500		>500		>500		>500		>500		>500		>500	
EMFDC 13.20.0'.0	>500		>500		500	>500	500	>500	>500		>500		500	500	>500		>500	
EMFDC 15	>500		>500		500	>500	>500		>500		>500		>500		>500		>500	
EMFDC 16	>500		>500		500	>500	>500		>500		>500		>500		>500		>500	
Benzilpenicilina	0,78	0,78	0,19	0,19	25	25	0,08	0,08										
Garamicina									0,62	>5,00	1,25							
Ciclopirox olamina													3,12	>25	3,12	>25		
Anfotericina B																	15,62	15,62

Ml- *Micrococcus luteus*; *Sa*- *Staphylococcus aureus*; *Bc*- *Bacillus cereus*; *Bs*- *Bacillus subtilis*; *Pa*- *Pseudomonas aeruginosa*; *Sc*- *Salmonella choleraesius*; *Ec*- *Escherichia coli*; *Ca*- *Candida albicans*; *Cg*- *Candida glabrata*; *Fo*- *Fusarium oxysporum*. > Não teve efeito na maior concentração testada. Controles positivos utilizados nos ensaios: Benzilpenicilina, para as bactérias gram positivas, Garamicina, para as bactérias gram negativas, Ciclopirox olamina para *C. albicans* e *C. glabrata*, e Anfotericina B para *F. oxysporum*. **CIM** = Concentração Inibitória Mínima, **CBM** = Concentração Bactericida Mínima, **CFM** = Concentração Fungicida Mínima.

4.4 Atividades antiprotozoárias e citotóxicas

4.4.1. Atividade antiprotozoária e citotoxicidade em macrófagos

Os resultados obtidos para as atividades antiprotozoárias e citotóxicas estão dispostos na tabela 5. A atividade anti-*Trypanosoma cruzi* foi avaliada frente à forma tripomastigota e a forma intracelular (amastigota) através de macrófagos infectados. Para a forma tripomastigota apenas EDFDC foi ativo com EC₅₀ de 22,3 µg mL⁻¹. Em relação a atividade contra os macrófagos peritoneais infectados EDFDC, EERDC, 4'-O-metilderrone e escandénina foram ativas apresentando valores de EC₅₀ de 34,5 µg mL⁻¹, 9,8 µg mL⁻¹, 16,9 µg mL⁻¹ e 23,4 µg mL⁻¹, respectivamente. O Benznidazol utilizado como controle apresentou EC₅₀ de 1,43 µM. No teste de citotoxicidade avaliado em macrófagos peritoneais não infectados, EDFDC mostrou CC₅₀ de 42,8 µg mL⁻¹ enquanto EERDC e as substâncias não apresentaram atividade citotóxica. O controle violeta genciana apresentou CC₅₀ de 0,45 µM.

Tabela 5. Atividades antiprotozoárias e citotóxicas dos extratos e compostos.

Amostras	<i>T. cruzi</i>		<i>L.</i>	Citotoxicidade		
	Tripomastigota	Infected MØ ^b	Promastigota	MØ ^c	IS ^d	IS (p) ^e
	EC ₅₀ ± SEM ^a (µg mL ⁻¹)	EC ₅₀ ± SEM ^a (µg mL ⁻¹)	IC ₅₀ ^a (µg mL ⁻¹)	CC ₅₀ ± SEM ^a (µg mL ⁻¹)		
EDFDC	22,3 ± 6,54	34,5 ± 5,08	182,27 ± 5,39	42,8 ± 13,09	1	0,23
EERDC	NA	9,8 ± 7,36	145,49 ± 9,71	>100	>10	>0,68
4'-O-metilderrone	NA	16,9 ± 3,49	43,26 ± 6,40	>100	>6	>2,31
Escandénina	NA	23,4 ± 6,60	45,92 ± 2,02	>100	>4	>2,17
Benznidazol*	14,36 ± 3,81	1,43 ± 0,21		>100	>70	
VG*				0,45 ± 0,04		
Anfotericina B			1,25 ± 0,68			8,3

^aOs valores foram calculados com base em pelo menos três experimentos distintos, realizados em triplicata. SEM = Erro médio padrão. ^bMØ = Macrófagos peritoneais infectados. ^cMØ = Macrófagos peritoneais não infectados. ^dIS = Índice de seletividade contra macrófagos infectados. ^eIS = Índice de seletividade contra promastigotas. *Concentração em µM. NA = Não ativo na concentração máxima testada (50 µg mL⁻¹). NT = não testado. ND = não determinado. GV = Violeta Genciana. Controles utilizados: Benznidazol, para os testes com *T. cruzi*, Violeta Genciana, para a atividade citotóxica e Amphotericin B, para os testes com *L. amazonensis*.

A avaliação da atividade antileishmania ocorreu contra a forma promastigota de *Leishmania amazonensis*. Os extratos brutos EDFDC e EERDC tiveram menor ação leishmanicida, com IC₅₀ de 182,27 µg mL⁻¹ e 145,49 µg mL⁻¹, respectivamente, quando comparado com as suas substâncias isoladas 4'-O-metilderrone (IC₅₀ de 43,26 µg mL⁻¹) e escandenina (IC₅₀ de 45,92 µg mL⁻¹), que tiveram ação semelhantes entre si e foram mais ativas. É possível que alguns compostos presentes nos extratos tenham produzido efeitos antagônicos que reduziram sua atividade *in vitro* (NAFIS *et al.*, 2019; ZUO *et al.*, 2018). A complexidade das interações entre as substâncias presentes nos extratos com o metabolismo do parasita e com a célula hospedeira é uma característica que deve ser considerada quando busca-se o tratamento de doenças parasitárias (BEKHIT *et al.*, 2018). A anfotericina B, medicamento de referência utilizado como controle, apresentou IC₅₀ de 1,25 µg mL⁻¹.

O índice de seletividade (IS), que consiste na razão entre a Concentração Citotóxica 50% (CC₅₀) para células murinas (macrófagos não infectados) e IC₅₀ para protozoários, revela o quanto o extrato ou substância é específico para o parasita, ou seja, valores maiores que 1 indicam que o tratamento é mais ativo contra o parasita do que tóxico para as células do hospedeiro, característica que o torna um composto promissor para o desenvolvimento de fármacos (DE ALMEIDA *et al.*, 2014). As substâncias 4'-O-metilderrone e escandenina possuíram um IS acima de 1 para ambos os parasitas, constatando sua maior atividade contra os protozoários em relação a citotoxicidade contra as células de mamífero. Entretanto os extratos EDFDC e EERDC se mostraram seletivos apenas para o tratamento do *T. cruzi* (IS > 1) e pouco específico para *L. amazonensis* (IS < 1), demonstrando que existe diferença no potencial antiparasitário desses extratos frente a espécies diferentes de protozoários.

As isoflavonas e 4-hidróxi-3-fenilcumarinas pertencem a classe dos isoflavonoides. Atividades biológicas, tais como, antibacterianas, antifúngicas, antitumorais e antiprozoárias são relatadas para as isoflavonas (AL-MAHARIK, 2019; VEITCH, 2013, 2009); e antibacteriana (HUSSAIN *et al.*, 2015; MAGALHÃES *et al.*, 2006) e antitumoral (AL-MAHARIK, 2019) para as cumarinas. O extrato hidroetanólico de Propólis vermelha inibiu promastigostas de *L. amazonensis* (IC₅₀ = 9,73 µg mL⁻¹), esse resultado foi associado a presença de isoflavonas como a biochanina A e formononetina em sua composição química (ARAUJO *et al.*, 2018). A isoflavona biochanina A apresentou efeito anti-*Trypanosoma cruzi* frente a forma tripomastigota com EC₅₀ 18,32

$\mu\text{g mL}^{-1}$ (SARTORELLI *et al.*, 2009). Foi observada inibição da atividade enzimática da proteína glicosômica GAPDH de *T. cruzi* pela isoflavona afrormosina ($\text{IC}_{50} = 84 \mu\text{M}$) (JANUÁRIO *et al.*, 2005). No entanto, as atividades anti-*T. cruzi* e antileishmania das 4-hidroxi-3-fenilcumarinas estão sendo relatados pela primeira vez neste trabalho. Desta forma, dado o efeito anti-*T. cruzi* obtido para a escandenina, estudos futuros devem ser estimulados para avaliar o efeito antiprotozoário dos derivados 4-hidroxi-3-fenilcumarinas, compostos de rara ocorrência na natureza.

4.3.2 Atividade citotóxica em linhagem HL-60

A citotoxicidade das amostras foi avaliada em linhagens de células cancerígenas HL-60 pelo método colorimétrico AlamarBlue. Conforme revelado na tabela 6, todas as amostras, com exceção de escandenina, 4'-O-metilderrone e EERDC, apresentaram atividade citotóxica contra células HL-60, com valores de IC_{50} entre 11,3 e 87,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A 4'-O-metilalpinumisoflavona (Figura 8) mostrou efeito inibitório contra HL-60 com IC_{50} de 34,9 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($\pm 1,6$). Nas mesmas condições, a doxorrubicina apresentou valor IC_{50} de 0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para a linhagem de células cancerígenas HL-60.

Tabela 6. Atividade citotóxica das amostras de *D. costata* contra células HL-60.

Amostras	IC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Escandenina	>100
4'-O-metilderrone	>100
4'-O-metilalpinumisoflavona	34,9 ($\pm 1,6$)
Extrato MeOH folhas (EMFDC)	45,7 ($\pm 4,5$)
Extrato EtOH raízes (EERDC)	>100
Extrato DCM folhas (EDFDC)	19,7 ($\pm 1,2$)
EMFDC 11	11,3 ($\pm 2,2$)
EMFDC 13	17,1 ($\pm 1,9$)
EMFDC 13.20.0	18,7 ($\pm 2,1$)
Doxorrubicina	0,1 ($\pm 0,0$)

Os valores representam a média \pm D.P. e foram calculados a partir de três experimentos independentes realizados. IC_{50} = concentração inibitória a 50%. D.P. = Desvio padrão. EMFDC 11 – fração 11 do extrato metanólico das folhas.

Os espectros de RMN de ^1H dos extratos em metanol (EMFDC) e em diclorometano das folhas de *D. costata* (EDFDC) apresentaram uma mistura rica em derivados de isoflavonoides (MIGUEZ, 2018). Destes extratos, o mais ativo frente a HL-60 foi o diclorometano das folhas, cujo estudo fitoquímico rendeu o isolamento das isoflavonas 4'-O-metilderrone e 4'-O-metilalpinumisoflavona (LEMES *et al.*, 2019). A atividade observada no extrato pode ser atribuída a presença da 4'-O-metilalpinumisoflavona, que

também foi ativa, ou ao efeito sinérgico dos compostos presentes na mistura. O extrato em metanol das folhas foi moderadamente citotóxico contudo, sua fração EMFDC 11 mostrou um maior efeito inibitório frente HL-60, com IC₅₀ de 11,3 (± 2,2) µg mL⁻¹. Esse efeito pode ser sugerido pela presença majoritária da isoflavona gancoanina M, nesta fração (MIGUEZ, 2018; LEMES *et al.*, 2019).

5.0 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico do extrato em metanol das folhas de *D. costata* resultou no isolamento e identificação de duas isoflavonas, 4'-O-metilderrone e 4'-O-metilalpinumisoflavona, a primeira já havia sido isolada do extrato em diclorometano das folhas e do extrato em hexano da casca do caule e a segunda isolada do extrato em diclorometano das folhas. Os extratos e frações avaliados quanto a atividade antibacteriana e antifúngica foram seletivos para bactérias Gram positivas e para *Candida albicans*. Dentre as linhagens testadas, as de *Bacillus* foram mais suscetíveis. Os efeitos antimicrobianos mais promissores foram obtidos para as frações EMFDC 10.11-12.3 e 12.8-9, ambas com ação bactericida para *B. subtilis* e *B. cereus* e para EECsDC5-8 que foi fungicida para *C. albicans*. O efeito biológico destas frações foi inferido ao sinergismo dos derivados de isoflavonoides presentes nestas frações.

A avaliação antiprotozoária frente as formas tripomastigota e amastigota de *T. cruzi* e promastigota de *L. amazonensis* indicou que os compostos e extratos testados foram ativos, com exceção para a forma tripomastigota de *T. cruzi* onde somente o extrato em diclorometano das folhas foi ativo. O menor EC₅₀ de 9,8 µg mL⁻¹ para a forma amastigota foi obtido pelo extrato em etanol das raízes. Já para *L. amazonensis* a 4'-O-metilderrone foi mais ativa com IC₅₀ de 43,26 µg mL⁻¹.

O extrato em diclorometano das folhas e a 4'-O-metilalpinumisoflavona, dentre os extratos e compostos testados, mostraram maiores efeitos inibitórios de crescimento das células tumorais HL-60. Dentre as frações a mais citotóxica foi a EMFDC 11, a qual apresenta como composto majoritário a gancoanina M.

Os dados de RMN ¹H e a quimiosistemática do gênero sugerem que as atividades biológicas mostradas nos extratos e frações são devido a presença de derivados de isoflavonoides nos mesmos, uma vez que essa classe de compostos possui reconhecidas atividades antitumorais, antiparasitárias, antibacterianas e antifúngicas reportadas na literatura. Assim, a quimiosistemática do gênero *Deguelia*, juntamente com o estudo fitoquímico de *D. costata* contribuíram para a descoberta de amostras com propriedades biológicas promissoras nesta espécie.

6.0 PERSPECTIVAS

Continuar o estudo fitoquímico dos extratos bioativos e de suas frações a fim de isolar isoflavonoides conhecidos e/ou inéditos com propriedades biológicas.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-KADER, M. S.; BASUDAN, O. A.; PARVEEN, M.; AMER, M. E. A new 3-aryl coumarin from the roots of an Egyptian collection of *Lotus polyphyllus*. **Natural Product Research**, v. 22, n. 5, p. 448–452, 2009. DOI 10.1080/14786410701591812. Available at: <https://www-tandfonline.ez86.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1080/14786410701591812>. Accessed on: 31 Jan. 2022.
- ADEM, F. A. *et al.* Cytotoxicity of isoflavones and biflavonoids from *Ormocarpum kirkii* towards multi-factorial drug resistant cancer. **Phytomedicine**, v. 58, p. 152853, 1 May 2019. <https://doi.org/10.1016/J.PHYMED.2019.152853>.
- AL-MAHARIK, N. Isolation of naturally occurring novel isoflavonoids: An update. **Natural Product Reports**, v. 36, n. 8, p. 1156–1195, 1 Aug. 2019. DOI 10.1039/c8np00069g. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Accessed on: 29 Apr. 2021.
- ALAKURTTI, S. *et al.* Anti-leishmanial activity of betulin derivatives. **Journal of Antibiotics**, v. 63, n. 3, p. 123–126, Mar. 2010. <https://doi.org/10.1038/ja.2010.2>.
- ARAÚJO, F. M. *et al.* Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth from Amargosa, Bahia, Brazil. **Industrial Crops and Products**, v. 105, p. 203–206, 15 Oct. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.016>.
- ARAUJO, J. M. E. *et al.* Phenolic composition and leishmanicidal activity of red propolis and *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) taub (Fabaceae) extracts from Sergipe, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, n. 0, 1 Aug. 2018. DOI 10.1590/1678-4324-2018160461. Available at: <https://doaj.org>. Accessed on: 29 Apr. 2021.
- ARMAH, F. A. *et al.* Leishmanicidal activity of the root bark of *Erythrophleum Ivorense* (Fabaceae) and identification of some of its compounds by ultra-performance liquid chromatography quadrupole time of flight mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS/MS). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 211, p. 207–216, 30 Jan. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.09.030>.
- ATANASOV, A. G. *et al.* Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 8, p. 1582–1614, 1 Dec. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>.
- BALSALOBRE, L. C.; DROPA, M.; MATTÉ, M. H. An overview of antimicrobial resistance and its public health significance. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 1, p. 1–6, 2014. DOI 10.1590/S1517-83822014005000033. Available at: <http://www.scielo.br/j/bjm/a/5N7nsBnkWN86mLMVJfcw94J/?lang=en>. Accessed on: 31 Jan. 2022.
- BASTOS, T. M. *et al.* Chemical Constituents of *Anacardium occidentale* as Inhibitors of *Trypanosoma cruzi* Sirtuins. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 24, n. 7, p. 1299, 3 Apr. 2019. DOI 10.3390/molecules24071299. Available at: <https://doaj.org>. Accessed on: 29 Apr. 2021.
- BEKHIT, A. A. *et al.* Leishmania treatment and prevention: Natural and synthesized

drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 160, p. 229–244, 5 Dec. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.10.022>.

BIHAREE, A.; SHARMA, A.; KUMAR, A.; JAITAK, V. Antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. **Fitoterapia**, v. 146, p. 104720, 1 Oct. 2020. <https://doi.org/10.1016/J.FITOTE.2020.104720>.

BORTOLUZZI, A. A. M. *et al.* Determination of chemical structure and anti-*Trypanosoma cruzi* activity of extracts from the roots of *Lonchocarpus cultratus* (Vell.) A.M.G. Azevedo & H.C. Lima. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 1, p. 99–108, 1 Jan. 2021. DOI 10.1016/j.sjbs.2020.08.036. Available at: [/pmc/articles/PMC7783657/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37783657/). Accessed on: 29 Apr. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância em saúde no Brasil 2003|2019: da criação da Secretaria de Vigilância em Saúde aos dias atuais**. Boletim Epidemiológico. set. 2019. n. 50 p. 1-154. 2019. <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/setembro/25/boletimespecial-21ago19-web.pdf>. Acesso em 31 de jan. de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Leishmaniose visceral - casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação - Brasil**. Casos confirmados segundo Ano Notificação. Período: 2019. Banco de dados do Sistema Único de Saúde-Datasus. 5 ago. 2020. 2020a. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/leishvbr.def>. Acesso em 22 de jul. de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Leishmaniose tegumentar americana - casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação - Brasil**. Casos confirmados segundo Ano Notificação. Período: 2019. Banco de dados do Sistema Único de Saúde-Datasus. 11 ago. 2020. 2020b. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>. Acesso em 22 de jul. de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doença de Chagas aguda - casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação - Brasil**. Casos confirmados segundo Ano 1º sintoma(s). Período: 2018-2019. Banco de dados do Sistema Único de Saúde-Datasus. 29 set. 2020. 2020c. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/chagasbr.def>. Acesso em 22 de jul. de 2021.

BRAY, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, 1 Nov. 2018. DOI 10.3322/CAAC.21492. Available at: <https://onlinelibrary-wiley.ez86.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.3322/caac.21492>. Accessed on: 23 Oct. 2021.

CAMARGO, R. A.; DE AZEVEDO TOZZI, A. M. G. A synopsis of the genus *Deguelia* (Leguminosae, Papilionoideae, Millettieae) in Brazil. **Brittonia**, v. 66, n. 1, p. 12–32, 2014. <https://doi.org/10.1007/S12228-013-9302-4>.

CAYETANO-SALAZAR, L. *et al.* Natural isoflavonoids in invasive cancer therapy: From bench to bedside. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 8, p. 4092–4110, 1 Aug. 2021. DOI 10.1002/PTR.7072. Available at: <https://onlinelibrary-wiley.ez86.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1002/ptr.7072>. Accessed on: 2 Nov. 2021.

- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **Parasites - American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease)**. Life Cycle. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>. 2019. Acesso em 20 nov. 2021.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **Parasites – Leishmaniasis**. Life Cycle. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>. 2020. Acesso em 20 nov. 2021.
- CHEUKA, P. M. *et al.* The role of natural products in drug discovery and development against neglected tropical diseases. **Molecules**, v. 22, n. 1, 1 Jan. 2017. DOI 10.3390/molecules22010058. Available at: </pmc/articles/PMC6155950/>. Accessed on: 29 Apr. 2021.
- CHIBBER, S. S.; SHARMA, R. P.; DUTT, S. K. Derrone-4'-o-methyl ether from seeds of *Derris robusta*. **Current Science**, v. 50, n. 18, p. 818–819, 31 Jan. 1981. Available at: <http://www.jstor.org/stable/24087300>.
- CHOUDHURY, M. K. *et al.* Antimicrobial activity and DNA-fragmentation effect of isoflavonoids isolated from seeds of *Millettia ferruginea*, an endemic legume tree in Ethiopia. **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 4, n. 7, p. 556–563, Jul. 2016. <https://doi.org/10.12980/jclm.4.2016j6-84>.
- CLSI. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fung.**; Approved Standard. NCCLS document M38-A. 22, p. 1-50, 2002.
- CLSI. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved Standard. NCCLS document M7-A6. 23, p. 1-81, 2003.
- CUELLAR, J. E. *et al.* Chemical composition and antioxidant and antibacterial activity of *Platymiscium gracile* Benth.: A species threatened by extinction. **Journal of King Saud University - Science**, v. 32, n. 1, p. 702–708, 1 Jan. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.11.006>.
- CURSINO, L. M. C. *et al.* Isolation of Flavonoids from *Deguelia duckeana* and Their Effect on Cellular Viability, AMPK, eEF2, eIF2 and eIF4E. **Molecules**, v. 21, n. 2, 1 Feb. 2016. DOI 10.3390/MOLECULES21020192. Available at: </pmc/articles/PMC6274060/>. Accessed on: 6 Dec. 2021.
- DE ALMEIDA, T. L. *et al.* Estudo químico e atividades antiproliferativa, tripanocida e leishmanicida de *Maxillaria picta*. **Quimica Nova**, v. 37, n. 7, p. 1151–1157, 2014. DOI 10.5935/0100-4042.20140179. Available at: <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140179>. Accessed on: 29 Apr. 2021.
- DE FUENTES-VICENTE, J. A. *et al.* What makes an effective Chagas disease vector? Factors underlying *Trypanosoma cruzi*-triatomine interactions. **Acta Tropica**, v. 183, p. 23–31, 1 Jul. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.04.008>.
- DIAS, L. C. *et al.* Doenças tropicais negligenciadas: uma nova era de desafios e oportunidades. **Quimica Nova**, v. 36, n. 10, p. 1552–1556, 1 Jan. 2013. DOI 10.1590/S0100-40422013001000011. Available at: <https://doaj.org>. Accessed on: 29 Apr. 2021.
- DO NASCIMENTO, M. N. G. *et al.* Antimicrobial and cytotoxic activities of *Senna* and *Cassia species* (Fabaceae) extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 148, p.

112081, 1 Jun. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112081>.

DOS SANTOS, Djalma. A. P. *et al.* Anti-African trypanocidal and antimalarial activity of natural flavonoids, dibenzoylmethanes and synthetic analogues. **The Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 61, n. 2, p. 257–266, 23 Jan. 2009. DOI 10.1211/JPP/61.02.0017. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19178775/>. Accessed on: 8 Dec. 2021.

DZOYEM, J. P.; MCGAW, L. J.; ELOFF, J. N. In vitro antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of acetone leaf extracts of nine under-investigated Fabaceae tree species leads to potentially useful extracts in animal health and productivity. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, 5 May 2014. DOI 10.1186/1472-6882-14-147. Available at: <https://go-gale.ez86.periodicos.capes.gov.br/ps/i.do?p=AONE&sw=w&issn=14726882&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA539611384&sid=googleScholar&linkaccess=fulltext>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

ECHEVERRIA, L. E.; MORILLO, C. A. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 33, n. 1, p. 119–134, 1 Mar. 2019. DOI 10.1016/j.idc.2018.10.015. Available at: <http://www.id.theclinics.com/article/S0891552018301041/fulltext>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

ENGELS, D.; ZHOU, X. N. Neglected tropical diseases: An effective global response to local poverty-related disease priorities. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 9, n. 1, p. 10, 28 Jan. 2020. DOI 10.1186/s40249-020-0630-9. Available at: <https://idpjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40249-020-0630-9>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

ERHABOR, J. O. *et al.* J. Pharmacological evaluation of hydro-ethanol and hot water leaf extracts of *Bauhinia galpinii* (Fabaceae): A South African ethnomedicinal plant. **South African Journal of Botany**, v. 128, p. 28–34, 1 Jan. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.008>.

FARIAS, K. *et al.* Antitumor Potential of the Isoflavonoids (+)- And (-)-2,3,9-Trimethoxypterocarpan: Mechanism-of-Action Studies. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, n. 6, p. 1274–1280, 11 Jun. 2020. DOI 10.1021/ACSMEDCHEMLETT.0C00097/SUPPL_FILE/ML0C00097_SI_003.CIF. Available at: <https://pubs-acsc-org.ez86.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1021/acsmmedchemlett.0c00097>. Accessed on: 8 Dec. 2021.

FEASEY, N. *et al.* Neglected tropical diseases. **British Medical Bulletin**, v. 93, n. 1, p. 179–200, 1 Mar. 2010. DOI 10.1093/bmb/ldp046. Available at: <https://academic.oup.com/bmb/article-lookup/doi/10.1093/bmb/ldp046>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

GALLO, M. B. C.; SARACHINE, M. J. Biological Activities of Lupeol. **International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, p. 46–66, 2009.

GANAPATY, S.; BHARATH, C. H.; STEVE THOMAS, P.; FOTSO, S.; LAATSCH, H. Flavonoids of *Derris heyneana* Wight and Arm. **Journal of Natural Remedies**, v. 8, n. 1, p. 57–60, 1 Jan. 2008.a. DOI 10.18311/JNR/2008/296. Available at: <https://www.informaticsjournals.com/index.php/jnr/article/view/296>. Accessed on: 31

Jan. 2022.

GANAPATY, S.; PANNAKAL, S. T.; SRILAKSHMI, G. V. K.; LAKSHMI, P.; WATERMAN, P. G.; BRUN, R. Pumilanol, an antiprotozoal isoflavanol from *Tephrosia pumila*. **Phytochemistry Letters**, v. 1, n. 4, p. 175–178, 12 Dec. 2008.b. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2008.09.006>.

GBAWENG, A. J. Y. *et al.* Excelsanone, a new isoflavonoid from *Erythrina excelsa* (Fabaceae), with in vitro antioxidant and in vitro cytotoxic effects on prostate cancer cells lines. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1495639>, v. 34, n. 5, p. 659–667, 3 Mar. 2018. DOI 10.1080/14786419.2018.1495639. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2018.1495639>. Accessed on: 20 Jul. 2021.

GONZÁLEZ-BELLO, C. Antibiotic adjuvants – A strategy to unlock bacterial resistance to antibiotics. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 18, p. 4221–4228, 15 Sep. 2017. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2017.08.027>.

GUZMÁN, E. *et al.* Activity of *Senna villosa* against *Trypanosoma cruzi*. **Pharmaceutical Biology**, v. 42, n. 7, p. 504–507, 16 Jan. 2004. DOI 10.3109/13880200490514069. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13880200490514069>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

HAGERMAN, A. E. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. **Journal of Chemical Ecology**, v. 13, n. 3, p. 437–449, Mar. 1987. DOI 10.1007/BF01880091. Available at: <https://link-springer-com.ez86.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/BF01880091>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

HIKITA, K. *et al.* Potent apoptosis-inducing activity of erypoegin K, an isoflavone isolated from *Erythrina poeppigiana*, against human leukemia HL-60 cells. **Journal of Natural Medicines**, v. 72, n. 1, p. 260–266, 1 Jan. 2018. <https://doi.org/10.1007/S11418-017-1147-9>.

HOTEZ, P. J.; FUJIWARA, R. T. Brazil's neglected tropical diseases: an overview and a report card. **Microbes and infection / Institut Pasteur**, v. 16, n. 8, p. 601–606, 1 Aug. 2014. DOI 10.1016/j.micinf.2014.07.006. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25088506/>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

HSIAO, Y. C. *et al.* Genistein induces apoptosis in vitro and has antitumor activity against human leukemia HL-60 cancer cell xenograft growth in vivo. **Environmental Toxicology**, v. 34, n. 4, p. 443–456, 1 Apr. 2019. DOI 10.1002/TOX.22698. Available at: <https://onlinelibrary-wiley.ez86.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1002/tox.22698>. Accessed on: 2 Nov. 2021.

HUANG, H.-L. *et al.* Glabridin Mediate Caspases Activation and Induces Apoptosis through JNK1/2 and p38 MAPK Pathway in Human Promyelocytic Leukemia Cells. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, 5 Jun. 2014. DOI 10.1371/JOURNAL.PONE.0098943. Available at: [/pmc/articles/PMC4047044/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25088506/). Accessed on: 2 Nov. 2021.

HUSSAIN, H. *et al.* Phytochemical investigation and antimicrobial activity of *Derris scandens*. **Journal of King Saud University - Science**, v. 27, n. 4, p. 375–378, 1 Oct. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2015.01.001>.

INCA (Instituto Nacional de Câncer). **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2021.

INCA (Instituto Nacional de Câncer). **O que é o câncer?** Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. 2020. Acesso em: 22 nov. 2021.

ITO, C. *et al.* Four new isoflavones from *Derris scandens* and their in vitro antiproliferative effects. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1888290>, 2021. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1888290>.

ITO, C. *et al.*, H. Induction of Apoptosis by Isoflavonoids from the Leaves of *Millettia taiwaniana* in Human Leukemia HL-60 Cells. **Planta Medica**, v. 72, n. 05, p. 424–429, 17 Feb. 2006. DOI 10.1055/S-2005-916259. Available at: <http://www.thieme-connect.de.ez86.periodicos.capes.gov.br/products/ejournals/html/10.1055/s-2005-916259>. Accessed on: 8 Dec. 2021.

JANUÁRIO, A. H. *et al.* Isolation and Structure Determination of Bioactive Isoflavones from Callus Culture of *Dipteryx odorata*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, n. 7, p. 740–742, Jul. 2005. DOI 10.1248/cpb.53.740. Available at: http://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb/53/7/53_7_740/_article. Accessed on: 29 Apr. 2021.

KFFURI, C. W. *et al.* Antimalarial plants used by indigenous people of the Upper Rio Negro in Amazonas, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 178, p. 188–198, 3 Feb. 2016. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2015.11.048>.

KHAN, I. *et al.* A novel triazole derivative of betulinic acid induces extrinsic and intrinsic apoptosis in human leukemia HL-60 cells. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 108, p. 104–116, 27 Jan. 2016. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2015.11.018>.

KRUSHKAL, J. *et al.* Molecular genomic features associated with in vitro response of the NCI-60 cancer cell line panel to natural products. **Molecular Oncology**, v. 15, n. 2, p. 381, 1 Feb. 2021. DOI 10.1002/1878-0261.12849. Available at: </pmc/articles/PMC7858122/>. Accessed on: 1 Nov. 2021.

LEE, J. *et al.* 4'-O-Methylalpinumisoflavone inhibits the activation of monocytes/macrophages to an immunostimulatory phenotype induced by 27-hydroxycholesterol. **International journal of molecular medicine**, v. 43, n. 5, p. 2177–2186, 1 May 2019. DOI 10.3892/IJMM.2019.4135. Available at: <https://koreauniv.pure.elsevier.com/en/publications/4-o-methylalpinumisoflavone-inhibits-the-activation-of-monocytesm>. Accessed on: 7 Dec. 2021.

LEMES, B. B. **Estudo fitoquímico dos caules de *Deguelia costata* (benth.) a. m. g. azevedo, avaliação da atividade tripanocida e da toxicidade contra *Artemia salina***. 2015. Dissertação de mestrado, Universidade do Estado da Bahia. 132 p.

LEMES, B. B. *et al.* Two new prenylated isoflavones from *Deguelia costata*. **Phytochemistry Letters**, v. 30, p. 181–185, 2019. DOI <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.02.018>. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874390018305287>.

LI, F. *et al.* Isoprenoid pterocarpan, isoflavonoids and flavonoids from *Erythrina*

stricta. **Phytochemistry Letters**, v. 44, p. 160–163, 1 Aug. 2021.
<https://doi.org/10.1016/J.PHYTOL.2021.06.021>.

LIM, J. Y. *et al.* Methylalpinumisoflavone inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in microglial cells by the NF-kappaB and MAPK signaling pathway. **Phytotherapy research : PTR**, v. 26, n. 12, p. 1948–1956, Dec. 2012. DOI 10.1002/PTR.4810. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22899404/>. Accessed on: 8 Dec. 2021.

LIMA, N. M. *et al.* Chemical profile and biological activities of *Deguelia duckeana* A.M.G. Azevedo (Fabaceae). **Natural product research**, v. 27, n. 4–5, p. 425–432, 2013. DOI 10.1080/14786419.2012.733387. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23092395/>. Accessed on: 8 Dec. 2021.

LIMA, N. M. *et al.* Antifungal activity of extracts and phenolic compounds from *Deguelia duckeana*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 6, p. 697–702, 1 Nov. 2018. <https://doi.org/10.1016/J.BJP.2018.08.004>.

LIMA, N. M. *et al.* Genus *Deguelia*: Chemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology and Pharmacological Characteristics—A Review. **The Pharmaceutical and Chemical Journal**, v. 4, n. 5, p. 13–26, 2017. Available at: www.tpcj.org. Accessed on: 29 Apr. 2021.

LIU, Kai *et al.* Lupeol and its derivatives as anticancer and anti-inflammatory agents: Molecular mechanisms and therapeutic efficacy. **Pharmacological Research**, v. 164, p. 105373, 1 Feb. 2021. <https://doi.org/10.1016/J.PHR.2020.105373>.

LIU, Q. Y. *et al.* A Hydroxylated Lupeol-Based Triterpenoid Ester Isolated from the *Scurrula parasitica* Parasitic on *Nerium indicum*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 98, n. 5, p. 627–632, 1 May 2015. DOI 10.1002/HLCA.201400254. Available at: <https://onlinelibrary-wiley.ez86.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1002/hlca.201400254>. Accessed on: 5 Nov. 2021.

LIU, Yang *et al.* Calycosin induces mitochondrial-dependent apoptosis and cell cycle arrest, and inhibits cell migration through a ROS-mediated signaling pathway in HepG2 hepatocellular carcinoma cells. **Toxicology in Vitro**, v. 70, p. 105052, 1 Feb. 2021. <https://doi.org/10.1016/J.TIV.2020.105052>.

LIU, Y.; VENNA, C. K.; MORGAN, J. B.; MOHAMMED, K. A.; JEKABSONS, M. B.; NAGLE, D. G.; ZHOU, Y. D. Methylalpinumisoflavone Inhibits Hypoxia-inducible Factor-1 (HIF-1) Activation by Simultaneously Targeting Multiple Pathways. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 9, p. 5859–5868, 27 Feb. 2009. <https://doi.org/10.1074/JBC.M806744200>.

MAGALHÃES, A. F.; TOZZI, A. M. G. A.; MAGALHÃES, E. G.; MORAES, V. R. de S. Prenylated flavonoids from *Deguelia hatschbachii* and their systematic significance in *Deguelia*. **Phytochemistry**, v. 57, n. 1, p. 77–89, 1 May 2001. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00509-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00509-4).

MAGALHÃES, A. F.; TOZZI, A. M. G. A.; MAGALHÃES, E. G.; SOUZA-NETA, L. C. New prenylated metabolites of *Deguelia longeracemosa* and evaluation of their antimicrobial potential. **Planta Medica**, v. 72, n. 4, p. 358–363, 20 Mar. 2006. DOI 10.1055/s-2005-916232. Available at: <http://www-thieme-connect->

de.ez86.periodicos.capes.gov.br/products/ejournals/html/10.1055/s-2005-916232.
Accessed on: 29 Apr. 2021.

MAIER, M. *et al.* Screening of European medicinal herbs on their tannin content—New potential tanning agents for the leather industry. **Industrial Crops and Products**, v. 99, p. 19–26, 1 Maio 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.033>.

MARQUES, E. de J. *et al.* Occurrence and Distribution of Polyphenolics in Species of *Deguelia* (Leguminosae). **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, v. 07, n. 06, p. 327–333, 2015. DOI 10.4172/1948-5948.1000234. Available at: <https://www.longdom.org/abstract/occurrence-and-distribution-of-polyphenolics-in-species-of-deguelialeguminosae-12914.html>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

MARTINS, C. D. M. *et al.* Chemical Composition, Antifungal, and Cytotoxicity Activities of *Inga laurina* (Sw.) Willd Leaves. **Scientific World Journal**, v. 2019, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/9423658>.

MIGUEZ, L. S. **Estudo Fitoquímico e Atividades Antibacteriana, Antifúngica e Citotóxica em Células Tumerais C6 de Glioma de *Deguelia costata* (benth) A. M. G. AZEVEDO**. Salvador, 2018. Dissertação de mestrado, Universidade do Estado da Bahia. 136 p.

MIZUNO, M.; TANAKA, T.; TAMURA, K. I.; MATSUURA, N.; IINUMA, M.; PHENGKLAI, C. Flavonoids in the roots of *Euchresta horsfieldii* in Thailand. **Phytochemistry**, v. 29, n. 8, p. 2663–2665, 1 Jan. 1990. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)85208-W](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)85208-W).

MOHAN RAO, K S.R.; IYER, C. S. R.; IYER, P. R. Synthesis of alpinum isoflavone, derrone and related pyranisoflavones. **Tetrahedron**, v. 43, n. 13, p. 3015–3019, 1987. DOI 10.1016/S0040-4020(01)86841-1. Available at: <https://app.dimensions.ai/details/publication/pub.1019295878>. Accessed on: 8 Dec. 2021.

MOREL, S. *et al.* Anti-AGEs and antiparasitic activity of an original prenylated isoflavonoid and flavanones isolated from *Derris ferruginea*. **Phytochemistry Letters**, v. 6, n. 3, p. 498–503, 1 Aug. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2013.06.002>.

NAFIS, A. *et al.* Antioxidant activity and evidence for synergism of *Cannabis sativa* (L.) essential oil with antimicrobial standards. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 396–400, 1 Oct. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.032>.

NCI (National Cancer Institute). **What is cancer?** Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>. 2021. Acesso em: 23 nov. 2021.

NDEMANGOU, B. *et al.* E. Urease inhibitory isoflavonoids from different parts of *Calopogonium mucunoides* (Fabaceae). **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 28, n. 6, p. 1156–1161, Dec. 2013. DOI 10.3109/14756366.2012.719025. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23057815/>. Accessed on: 7 Dec. 2021.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 27 Mar. 2020. DOI 10.1021/acs.jnatprod.9b01285. Available at: <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

OGC (Observatório Global do Câncer). **Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2020, all cancers, both sexes, all ages.** 2020a. Disponível em: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?v=2020&mode=population&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&group_cancer=1&include_nmssc=1&include_nmssc_other=1&projection=natural-earth&color_palette=default&map_scale=quantile&map_nb_colors=5&continent=0&show_ranking=0&rotate=%255B10%252C0%255D. Acesso em: 23 nov. 2021.

OGC (Observatório Global do Câncer). **Estimated number of deaths from 2020 to 2040, Mortality, Both sexes, age [0-85+]-Brazil.** 2020b. Disponível em: https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/tables?populations=76&mode=cancer&group_populations=1&multiple_populations=0&types=1. Acesso em: 23 nov. 2021.

OGC (Observatório Global do Câncer). **Estimated number of deaths from 2020 to 2040, Both sexes, age [0-85+] Leukaemia-Brazil.** 2020c. Disponível em: https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/bars?mode=population&cancers=36&population_s=76&types=1. Acesso em: 23 nov. 2021.

OMS, 2019. **Não há tempo a perder: acautelar o futuro contra infecções resistentes aos medicamentos.** Relatório para o secretário geral das nações unidas abril de 2019. Disponível em: <https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/No%20time%20to%20wait%20-%20Securing%20the%20future%20from%20drug-resistant%20infections%20-%20Report%20to%20the%20Secretary-General%20of%20the%20United%20Nations%2C%20April%202019%20%28Summary%20of%20recommendations%20and%20key%20messages%29%20%28Portuguese%29.pdf>. Acesso em 31 jan. 2022.

OMS, 2021a. **Leishmaniasis.** Disponível em: https://www.who.int/healthtopics/leishmaniasis#tab=tab_1. Acesso em 22 abril 2021.

OMS, 2021b. **Chagas disease (American trypanosomiasis).** Disponível em: https://www.who.int/healthtopics/chagas-disease#tab=tab_1. Acesso em 22 abril 2021.

ONCOGUIA. **Quimioterapia para Câncer de Fígado.** 2020a. Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/quimioterapia-para-cancer-de-figado/2042/209/>. Acesso em: 25 nov. 2021.

ONCOGUIA. **Quimioterapia para Leucemia Mieloide Aguda (LMA).** 2020b. Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/quimioterapia-para-leucemia-mieloide-aguda-lma/1605/333/>. Acesso em: 25 nov. 2021.

ORIAKHI, K. *et al.* M. Isolation, characterization, and hepatoprotective properties of betulinic acid and ricinine from *Tetracarpidium conophorum* seeds (Euphorbiaceae). **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 3, p. e13288, 1 Mar. 2021. DOI 10.1111/JFBC.13288. Available at: <https://onlinelibrary-wiley.ez86.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1111/jfbc.13288>. Accessed on: 5 Nov. 2021.

PATRIDGE, E. *et al.* An analysis of FDA-approved drugs: Natural products and their derivatives. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 2, p. 204–207, 1 Feb. 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2015.01.009>.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **The Lancet**, v. 391, n. 10115, p. 82–94, 6 Jan. 2018. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31612-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31612-4).

POLBUPPHA, I. *et al.* Macluracochinones A-E, antimicrobial flavonoids from *Maclura cochinchinensis* (Lour.) Corner. **Phytochemistry**, v. 187, p. 112773, 1 Jul. 2021. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2021.112773>.

PONTE-SUCRE, A. *et al.* Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: A 21st century challenge. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 12, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006052>.

POUMALE, H. M. P. *et al.* Lupane Type Triterpene Isolated from the Leaves of *Thecacoris Annobonea* (Euphorbiaceae). **JOURNAL OF ADVANCES IN CHEMISTRY**, v. 5, n. 2, p. 695–701, 17 Sep. 2009. <https://doi.org/10.24297/jac.v5i2.2659>.

RAJEMIARIMIRAHU, M. *et al.* Antiprotozoal activities of *Millettia richardiana* (fabaceae) from madagascar. **Molecules**, v. 19, n. 4, p. 4200–4211, 2014. DOI 10.3390/molecules19044200. Available at: [/pmc/articles/PMC6271796/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26111796/). Accessed on: 29 Apr. 2021.

REILLY, T. P. *et al.* Comparison of the in vitro cytotoxicity of hydroxylamine metabolites of sulfamethoxazole and dapson. **Biochemical Pharmacology**, v. 55, n. 6, p. 803–810, 15 Mar. 1998. DOI 10.1016/S0006-2952(97)00547-9. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9586952/>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

RODRIGUES, I. A. *et al.* Natural Products: Insights into Leishmaniasis Inflammatory Response. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, 1 Jan. 2015. DOI 10.1155/2015/835910. Available at: <https://go-gale.ez86.periodicos.capes.gov.br/ps/i.do?p=AONE&sw=w&issn=09629351&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA453409390&sid=googleScholar&linkaccess=fulltext>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

SANTANA, D. B. *et al.* Activity of Fabaceae species extracts against fungi and *Leishmania*: Vatacarpan as a novel potent anti-*Candida* agent. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 4, p. 401–406, 1 Jul. 2015. DOI 10.1016/j.bjp.2015.07.012. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2015.07.012>. Accessed on: 29 Apr. 2021.

SANTOS, Soraya S. *et al.* Searching for drugs for Chagas disease, leishmaniasis and schistosomiasis: a review. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 55, n. 4, p. 105906, 1 Apr. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105906>.

SARTORELLI, P. *et al.* Antiparasitic activity of biochanin A, an isolated isoflavone from fruits of *Cassia fistula* (Leguminosae). **Parasitology Research**, v. 104, n. 2, p. 311–314, Jan. 2009. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-1193-z>.

SERAFIM, J. C. R. B. **Estudo fitoquímico das folhas e raízes de *Deguelia costata* (Benth.) A. M. G. Azevedo e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica contra linhagem de célula tumoral HepG2**. Salvador, 2014. Dissertação de mestrado, Universidade do Estado da Bahia. 116p.

SHAI, L. J. *et al.* Four pentacyclic triterpenoids with antifungal and antibacterial activity from *Curtisia dentata* (Burm.f) C.A. Sm. leaves. **Journal of**

- Ethnopharmacology**, v. 119, n. 2, p. 238–244, 26 Sep. 2008. DOI 10.1016/j.jep.2008.06.036. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18662765/>. Accessed on: 29 Apr. 2021.
- SILVA, R. A. da; OLIVEIRA, B. N. L. de; SILVA, L. P. A. da; OLIVEIRA, M. A.; CHAVES, G. C. Resistência a Antimicrobianos: a formulação da resposta no âmbito da saúde global. **Saúde em Debate**, v. 44, n. 126, p. 607–623, 16 Nov. 2020. DOI 10.1590/0103-1104202012602.
- SILVA, T. dos S. D. *et al.* Anti-liver cancer activity in vitro and in vivo induced by 2-pyridyl 2,3-thiazole derivatives. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 329, p. 212–223, 15 Aug. 2017. <https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2017.06.003>.
- SINGH, S. *et al.* Natural Products as Anticancerous Therapeutic Molecules with Special Reference to Enzymatic Targets Topoisomerase, COX, LOX and Aromatase. **Current protein & peptide science**, v. 19, n. 3, 5 Jan. 2018. DOI 10.2174/1389203718666170106102223. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28059043/>. Accessed on: 1 Nov. 2021.
- SIVEEN, K. S. *et al.* Negative regulation of signal transducer and activator of transcription-3 signalling cascade by lupeol inhibits growth and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cells. **British Journal of Cancer** 2014 111:7, v. 111, n. 7, p. 1327–1337, 7 Aug. 2014. DOI 10.1038/bjc.2014.422. Available at: <https://www.nature.com/articles/bjc2014422>. Accessed on: 5 Nov. 2021.
- SOUSA, P. L. *et al.* Betulinic acid induces cell death by necrosis in *Trypanosoma cruzi*. **Acta Tropica**, v. 174, p. 72–75, 1 Oct. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.07.003>.
- STANAWAY, J. D.; ROTH, G. The Burden of Chagas Disease: Estimates and Challenges. **Global Heart**, v. 10, n. 3, p. 139, 1 Sep. 2015. DOI 10.1016/j.gheart.2015.06.001. Available at: <https://globalheartjournal.com/article/10.1016/j.gheart.2015.06.001/>. Accessed on: 29 Apr. 2021.
- TAKAHASHI, M. *et al.* In vitro leishmanicidal activity of some scarce natural products. **Phytotherapy Research**, v. 18, n. 7, p. 573–578, 1 Jul. 2004. DOI 10.1002/ptr.1502. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.1502>. Accessed on: 29 Apr. 2021.
- TIWARI, N. *et al.* Leishmaniasis control: Limitations of current drugs and prospects of natural products. **Discovery and Development of Therapeutics from Natural Products Against Neglected Tropical Diseases**. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 293–350. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815723-7.00008-0>.
- VEITCH, N. C. Isoflavonoids of the Leguminosae. **Natural Product Reports**, v. 26, n. 6, p. 776–802, 27 May 2009. DOI 10.1039/b616809b. Available at: www.rsc.org/npr. Accessed on: 29 Apr. 2021.
- VEITCH, N. C. Isoflavonoids of the leguminosae. **Natural Product Reports**, v. 30, n. 7, p. 988–1027, 10 Jun. 2013. DOI 10.1039/c3np70024k. Available at: www.rsc.org/npr. Accessed on: 29 Apr. 2021.
- WANG, W. *et al.* Betulinic acid induces apoptosis and suppresses metastasis in hepatocellular carcinoma cell lines in vitro and in vivo. **Journal of Cellular and**

Molecular Medicine, v. 23, n. 1, p. 586, 1 Jan. 2019. DOI 10.1111/JCMM.13964. Available at: /pmc/articles/PMC6307792/. Accessed on: 5 Nov. 2021.

XU, W. *et al.* Iriogenin exerts anticancer effects on human liver cancer cells via induction of mitochondrial apoptosis and cell cycle arrest. **Applied Biological Chemistry** **2021** **64:1**, v. 64, n. 1, p. 1–7, 23 Jan. 2021. DOI 10.1186/S13765-020-00570-6. Available at: <https://appliedbiolchem.springeropen.com/articles/10.1186/s13765-020-00570-6>. Accessed on: 2 Nov. 2021.

YANG, J. *et al.* Synthesis and biological evaluation of hydroxylated 3-phenylcoumarins as antioxidants and antiproliferative agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 21, p. 6420–6425, 1 Nov. 2011. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2011.08.090>.

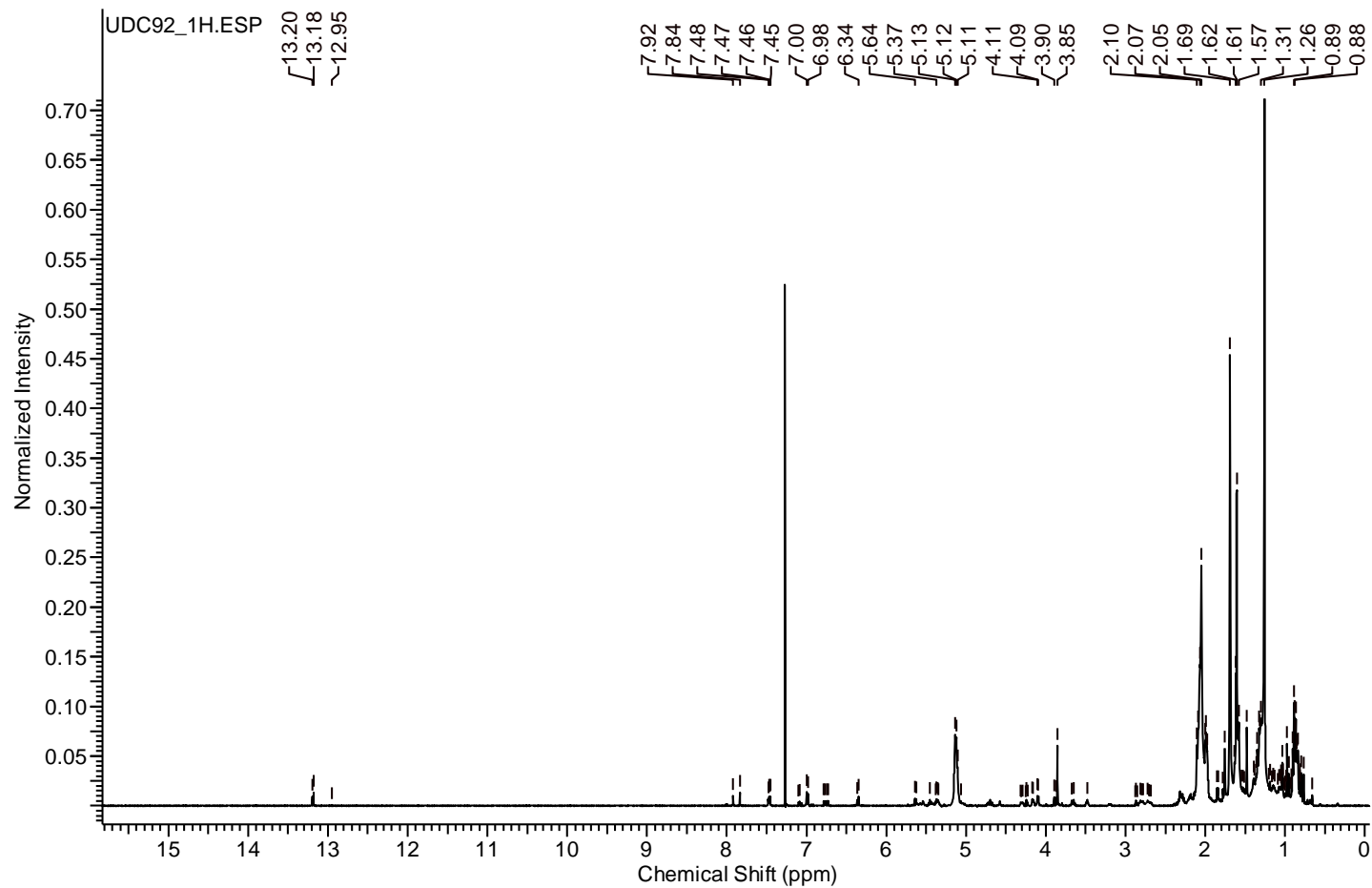
ZHANG, J.; YIN, Z. Q.; LIANG, J. Y. A new isoflavonoid glycoside from the aerial parts of *Trachelospermum jasminoides*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 11, n. 3, p. 274–276, 1 May 2013. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(13\)60028-X](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(13)60028-X).

ZINGALES, B. *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. **Acta Tropica**, v. 184, p. 38–52, 1 Aug. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.017>.

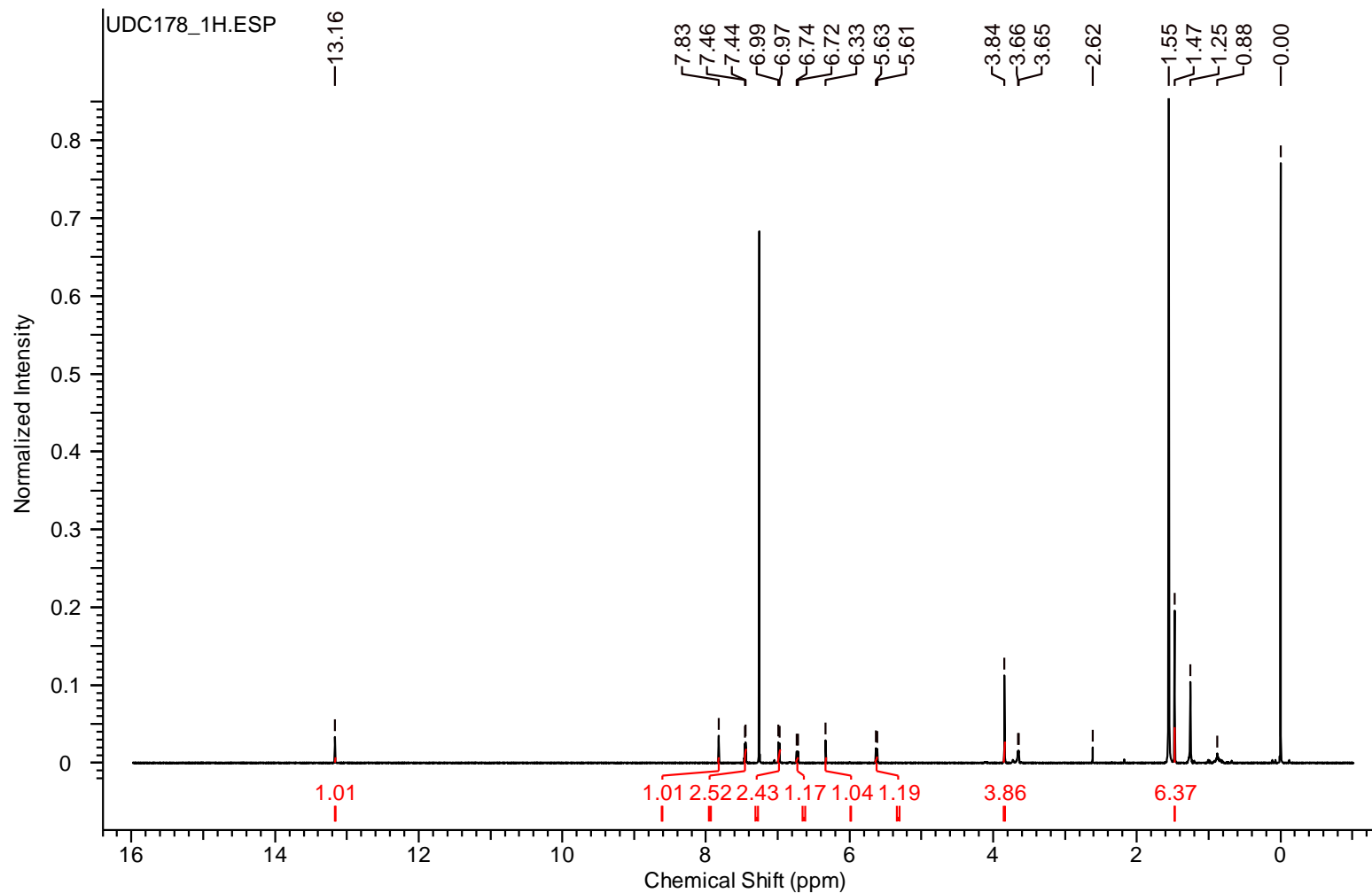
ZULFIQAR, B.; SHELPER, T. B.; AVERY, V. M. Leishmaniasis drug discovery: recent progress and challenges in assay development. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 10, p. 1516–1531, 1 Oct. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.06.004>.

ZUO, G. Y. *et al.* Synergism of prenylflavonoids from *Morus alba* root bark against clinical MRSA isolates. **Phytomedicine**, v. 39, p. 93–99, 15 Jan. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2017.12.023>.

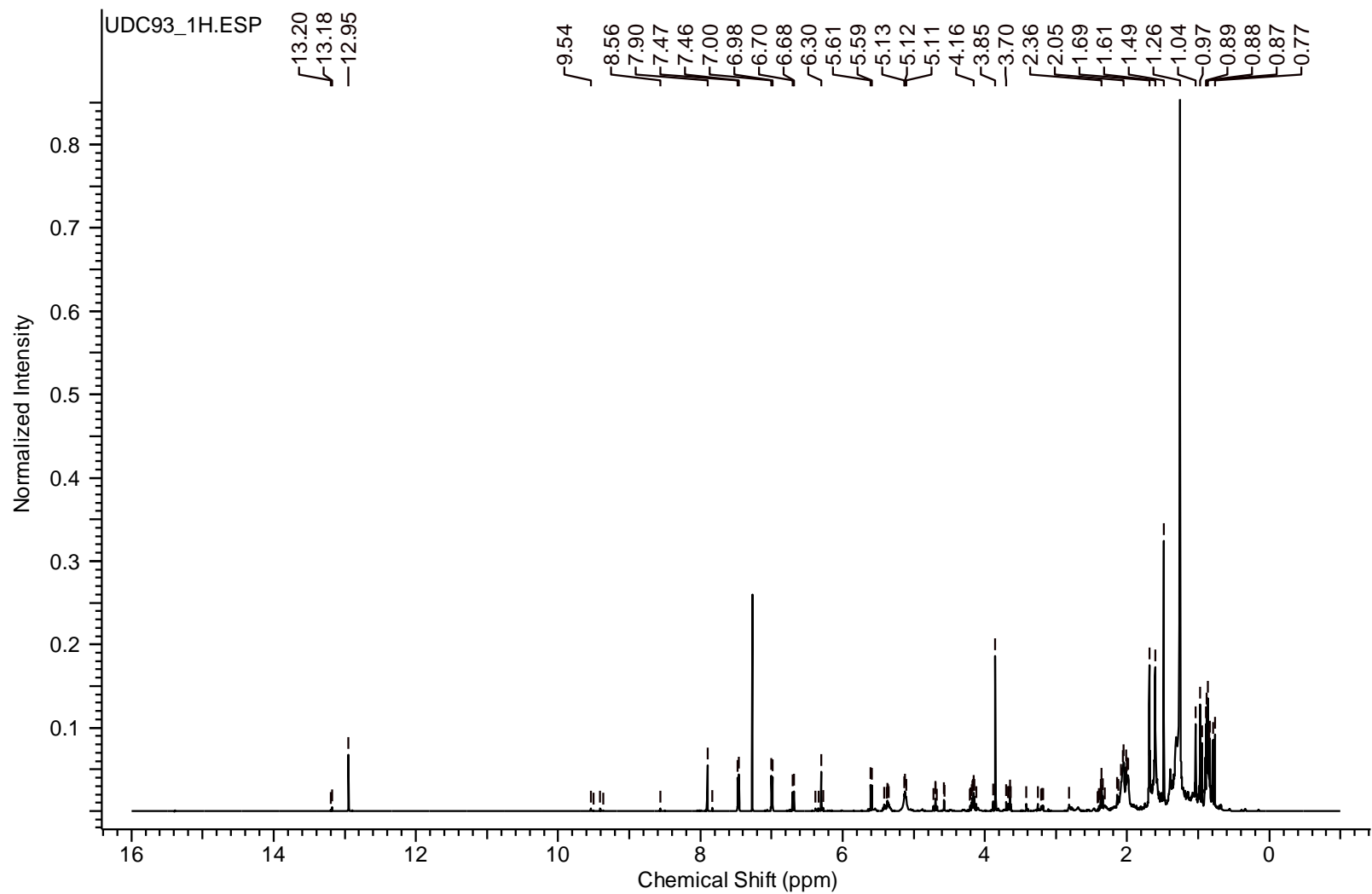
ANEXO A



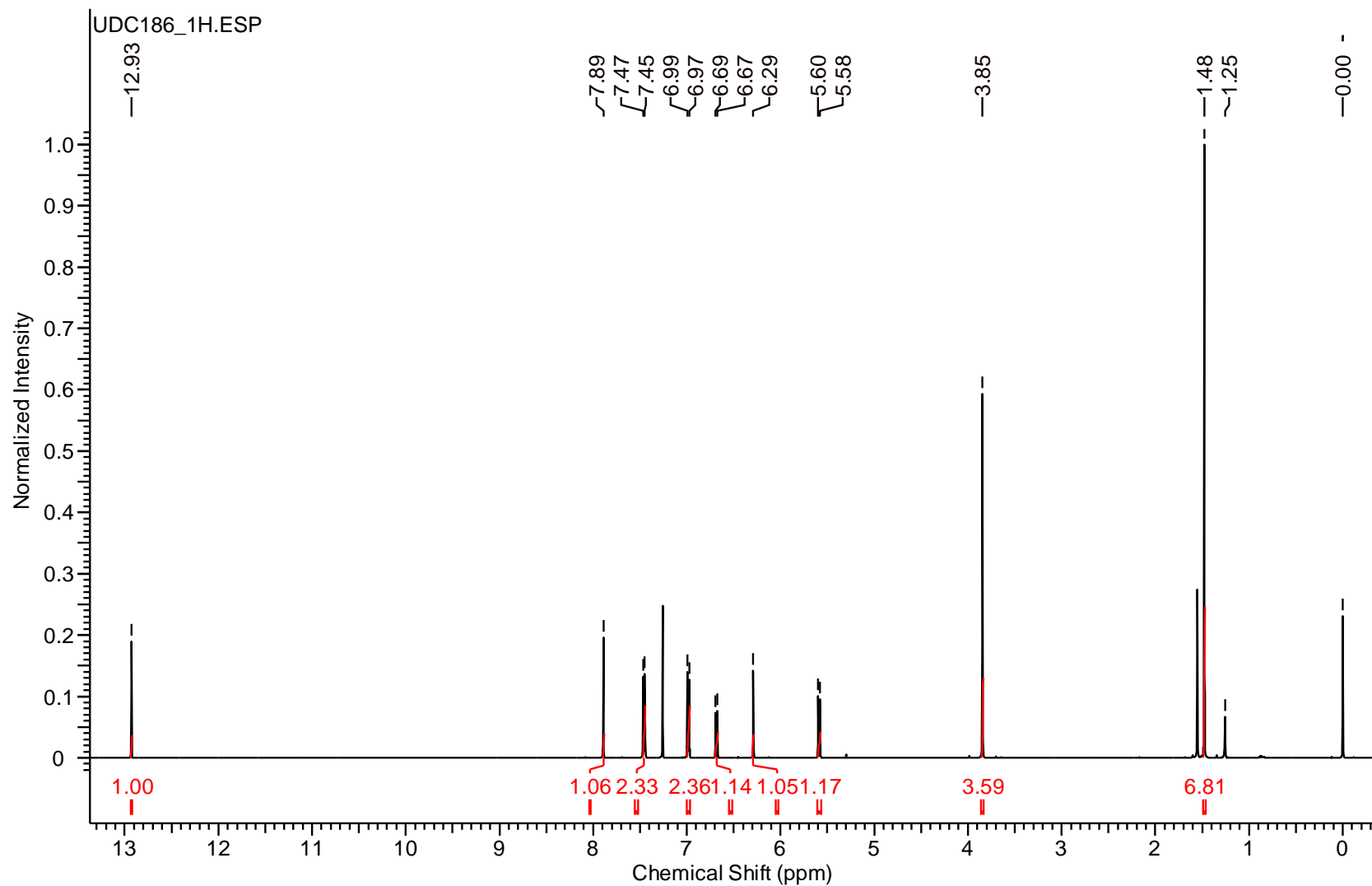
E.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 7.



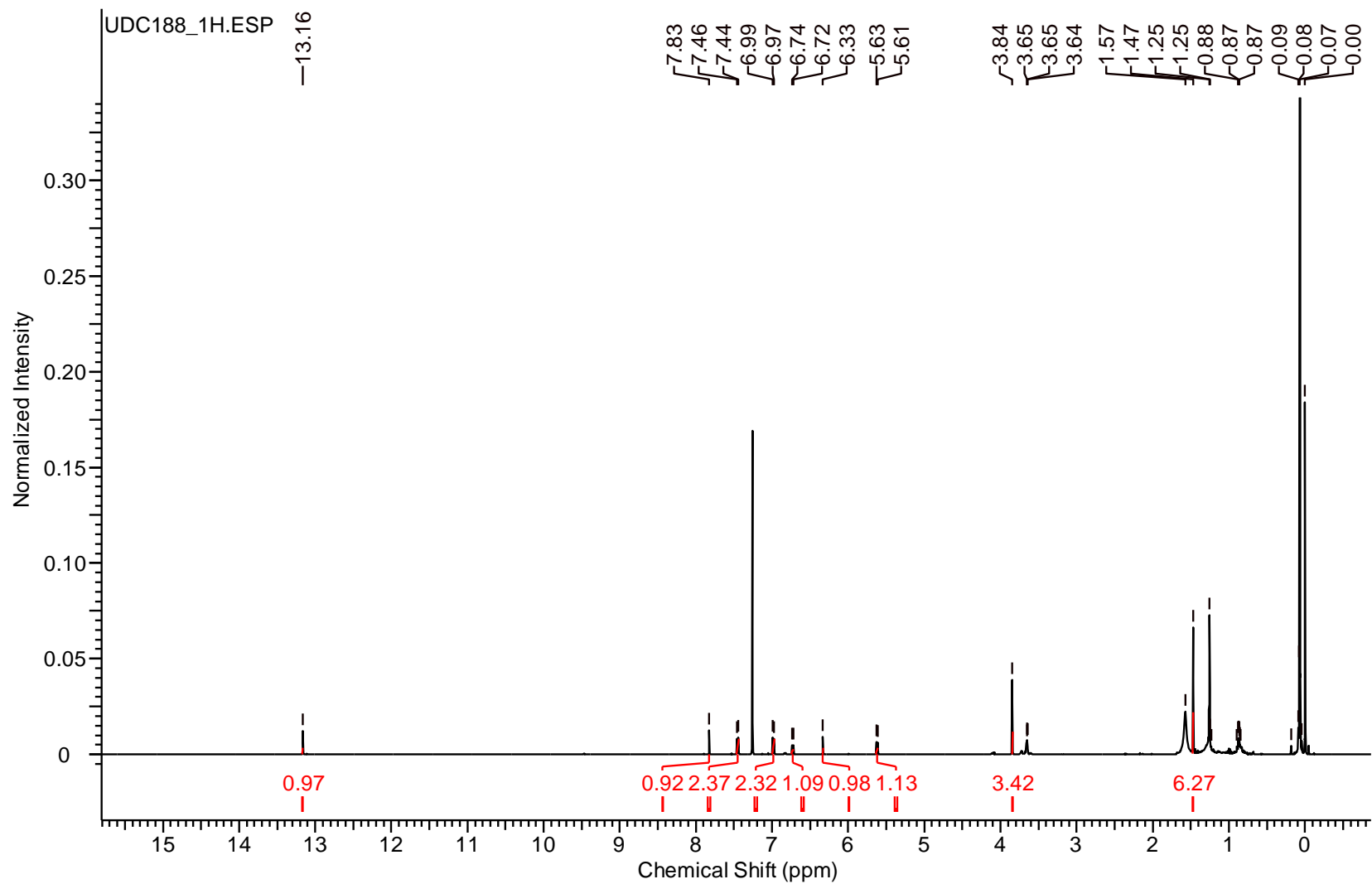
E.2. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 7.8 (4'-O-metilalpinumisoflavona).



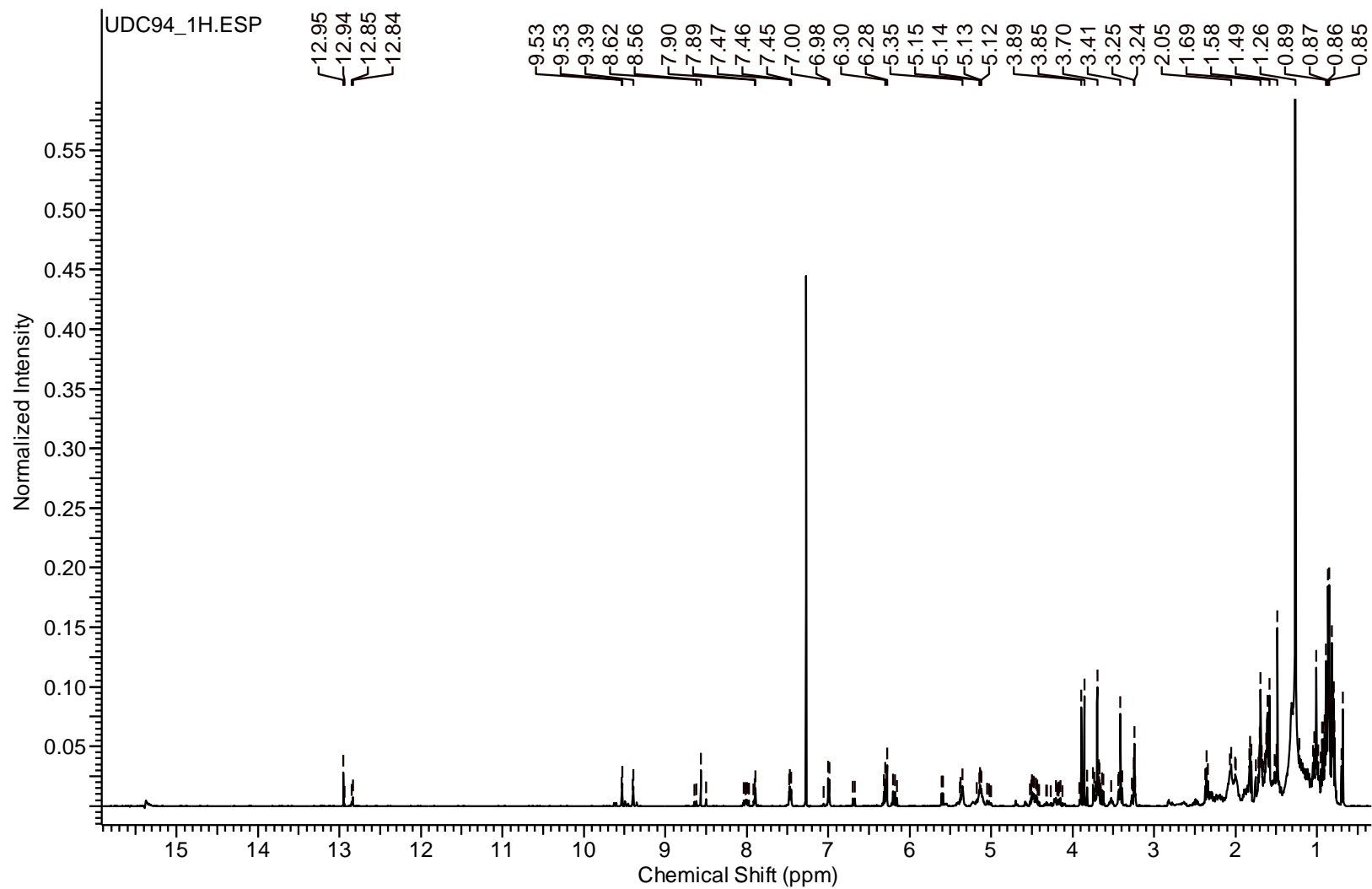
E.3. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 8.



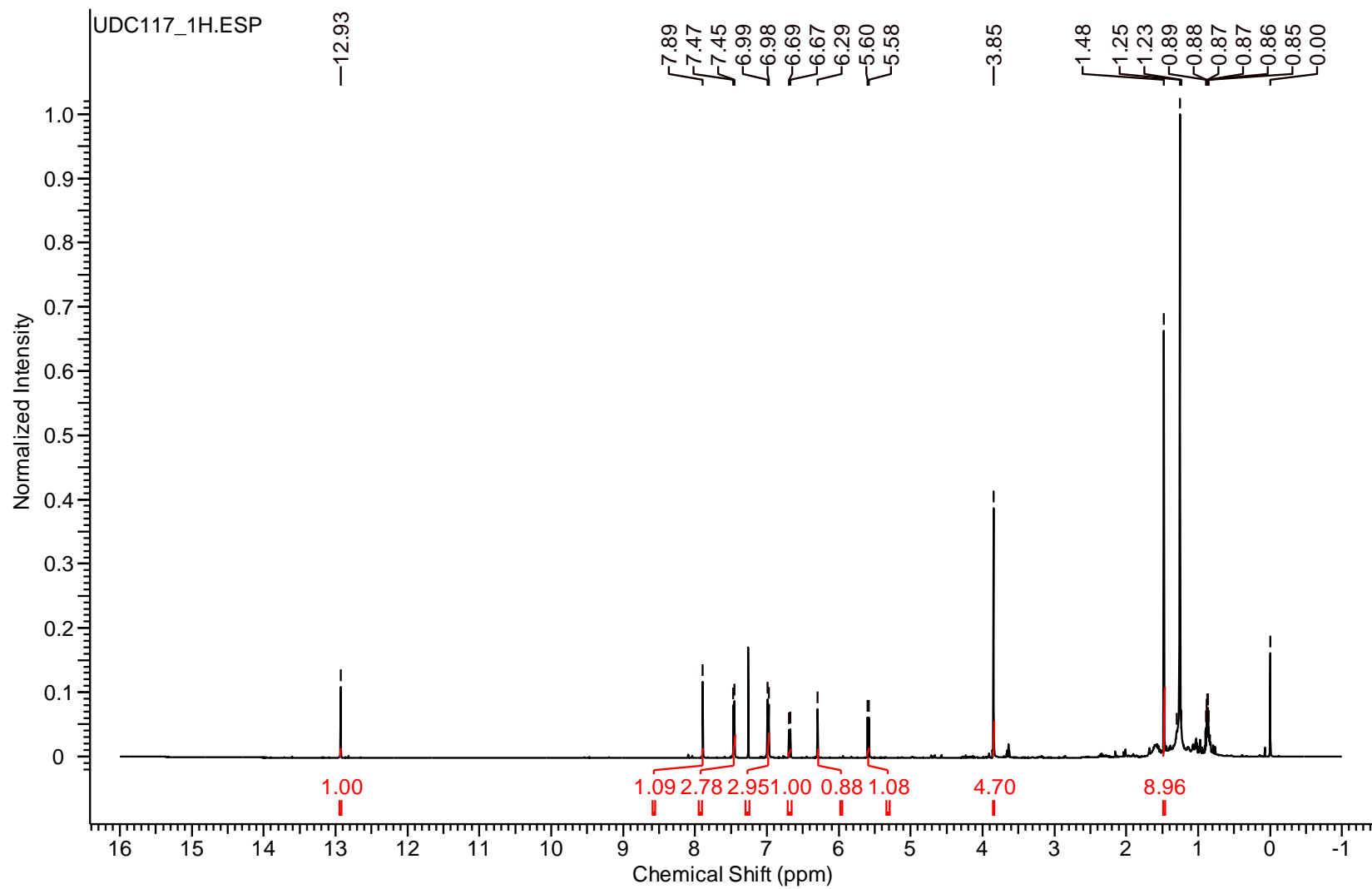
E.4. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 8.6 (4'-O-metilderrone).



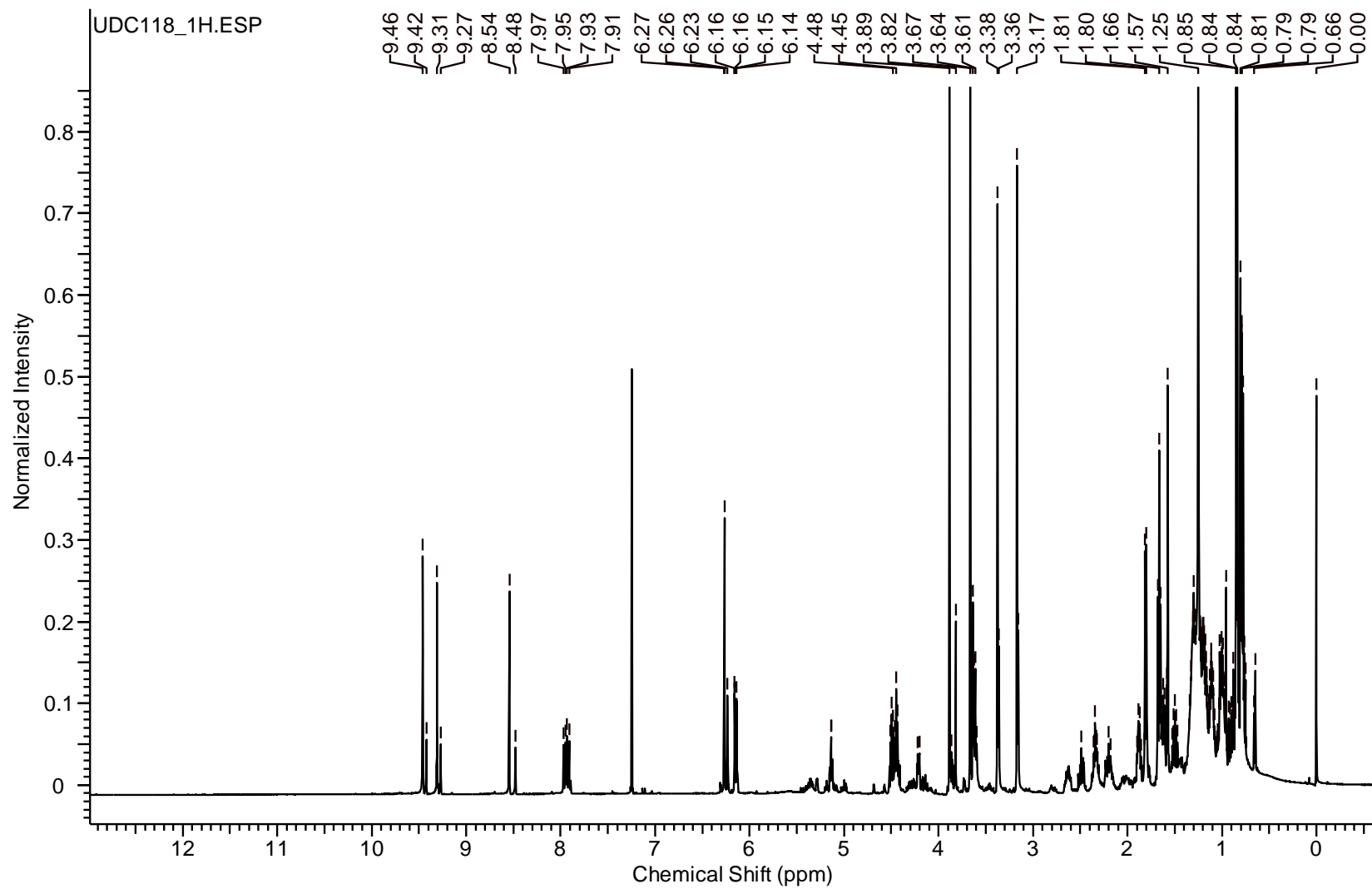
E.5. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 8.7 (4'-O-metilalpinumisoflavona).



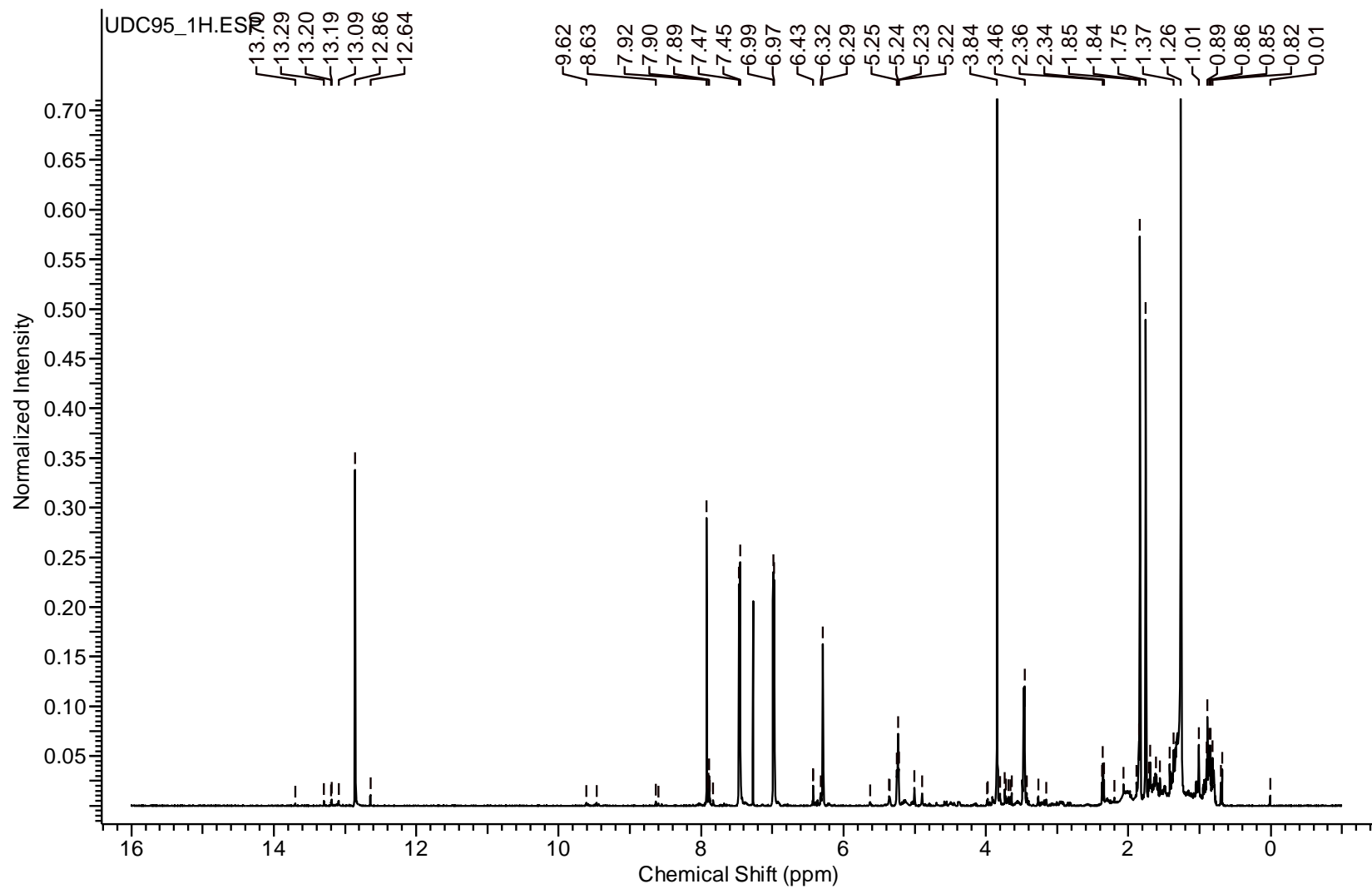
E.6. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 9.



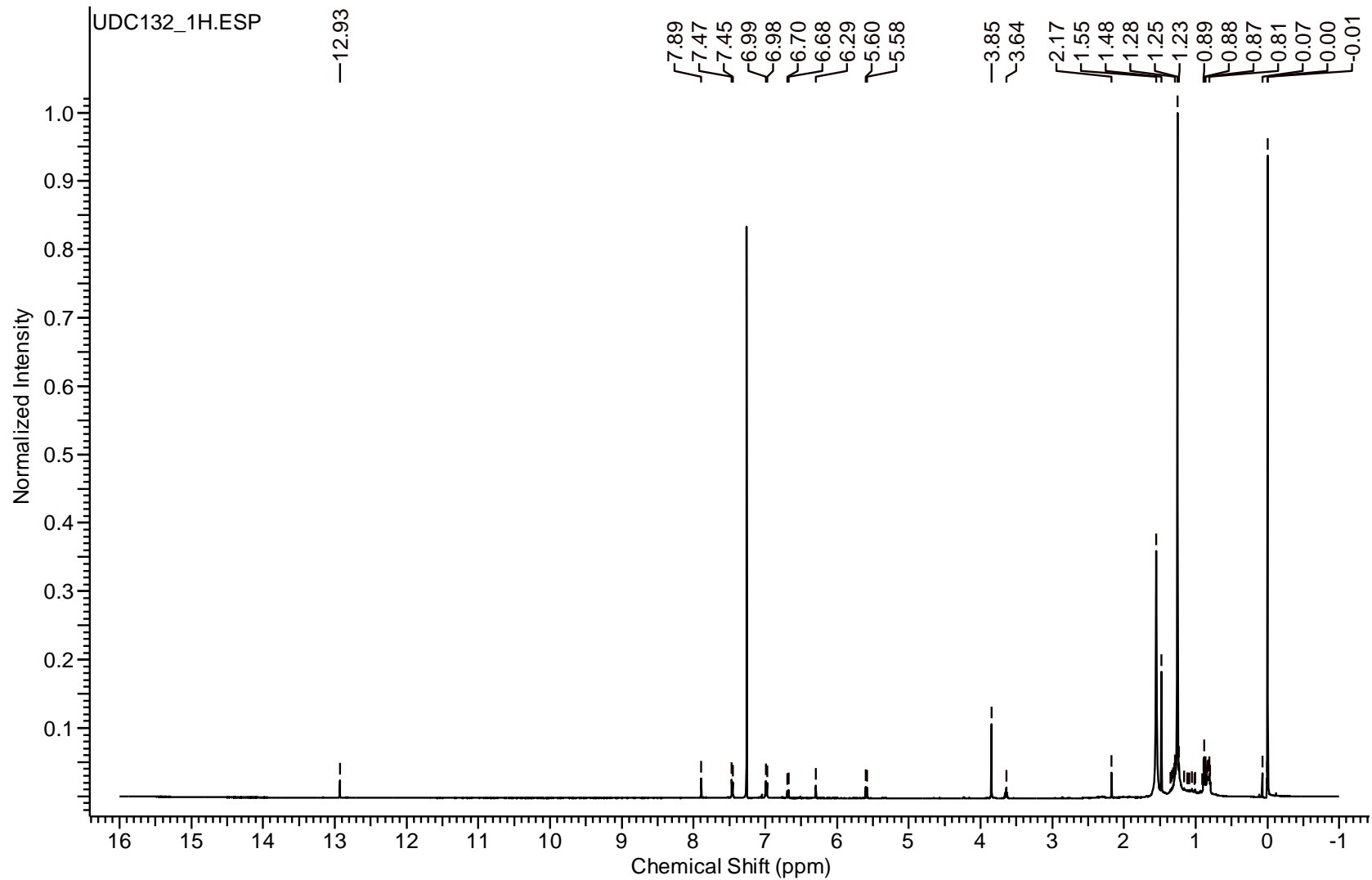
E.7. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 9.3-5 (4'-O-metilderrone).



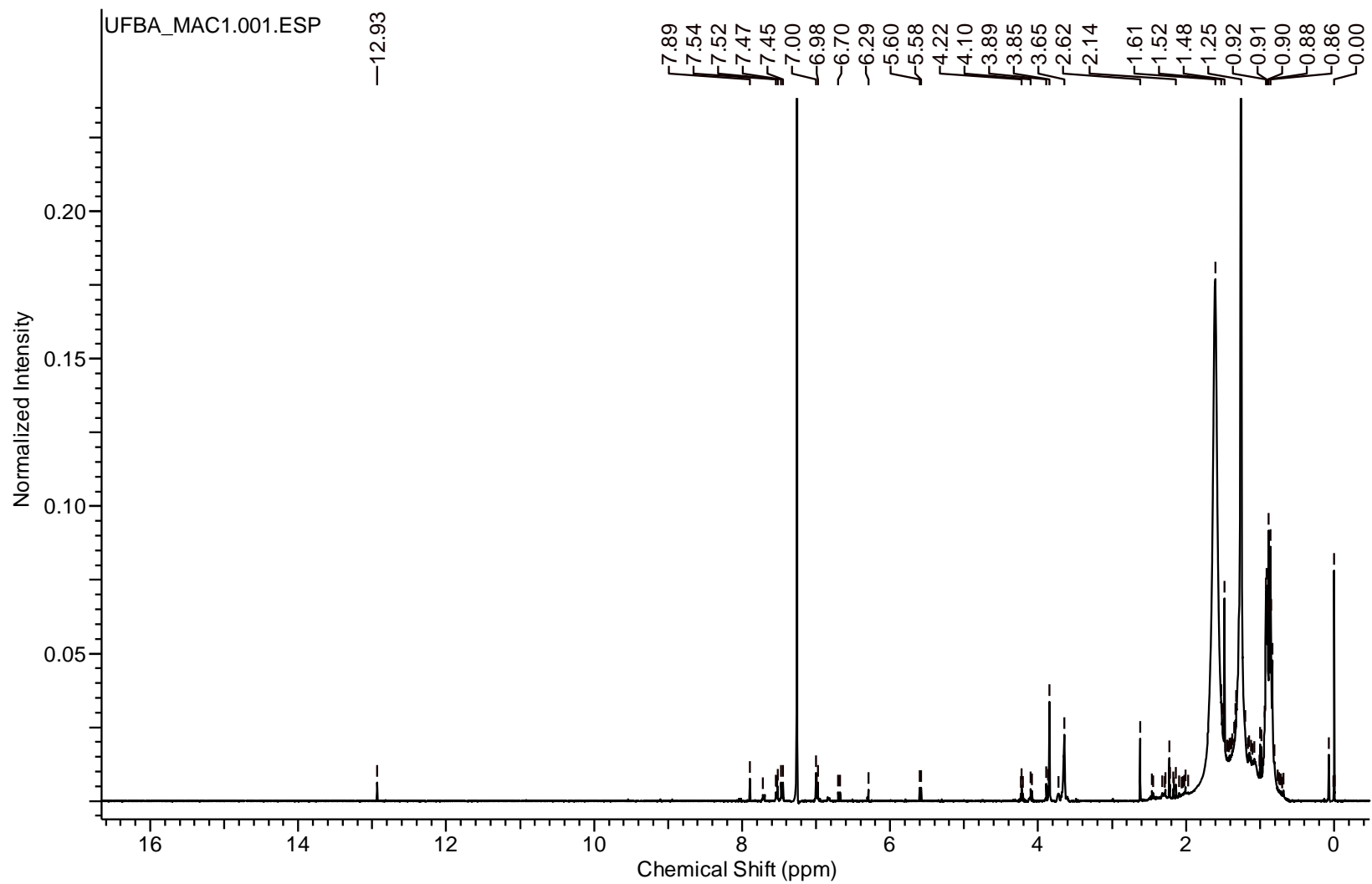
E.8. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 9.14.



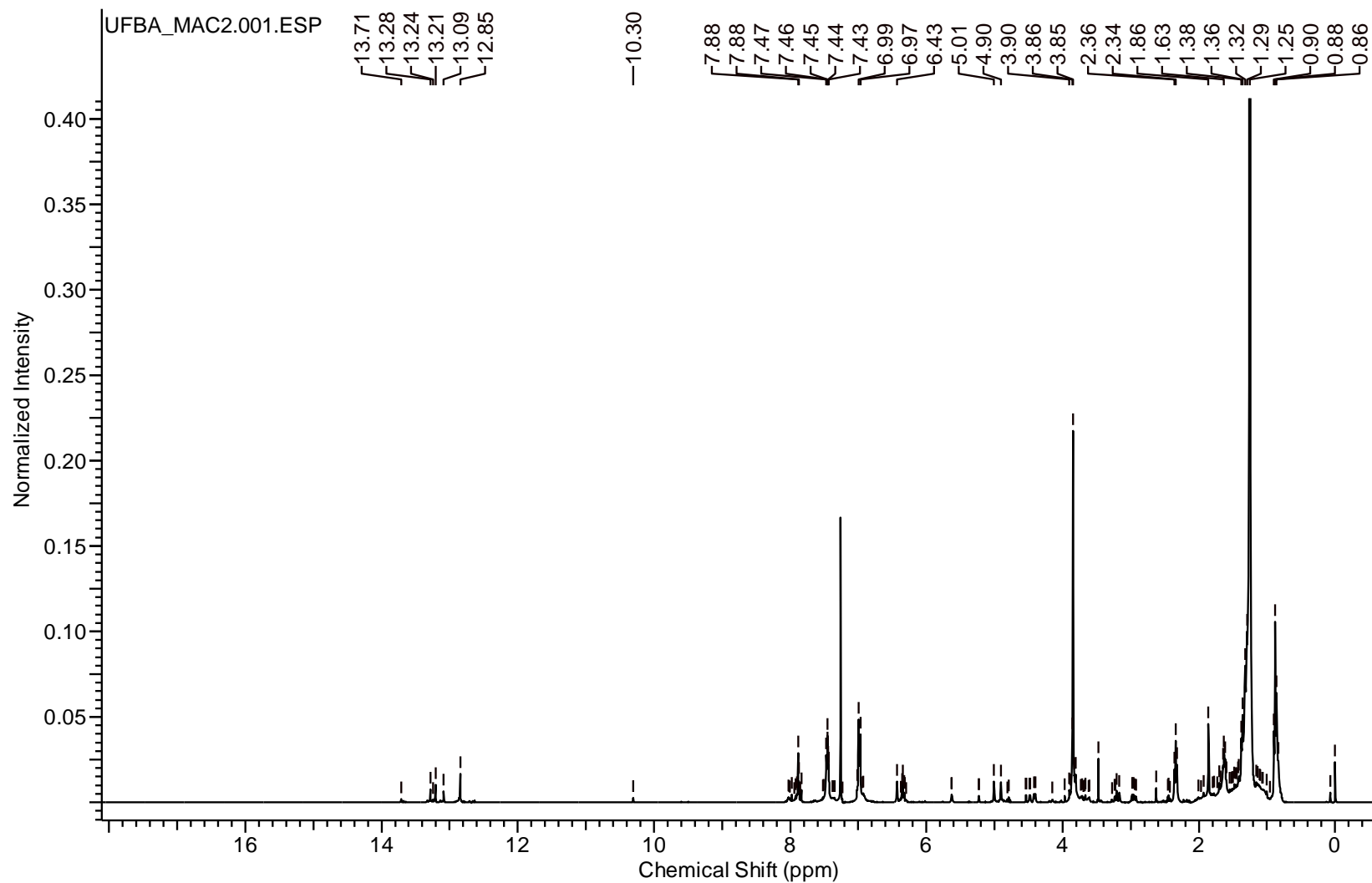
E.9. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 10.



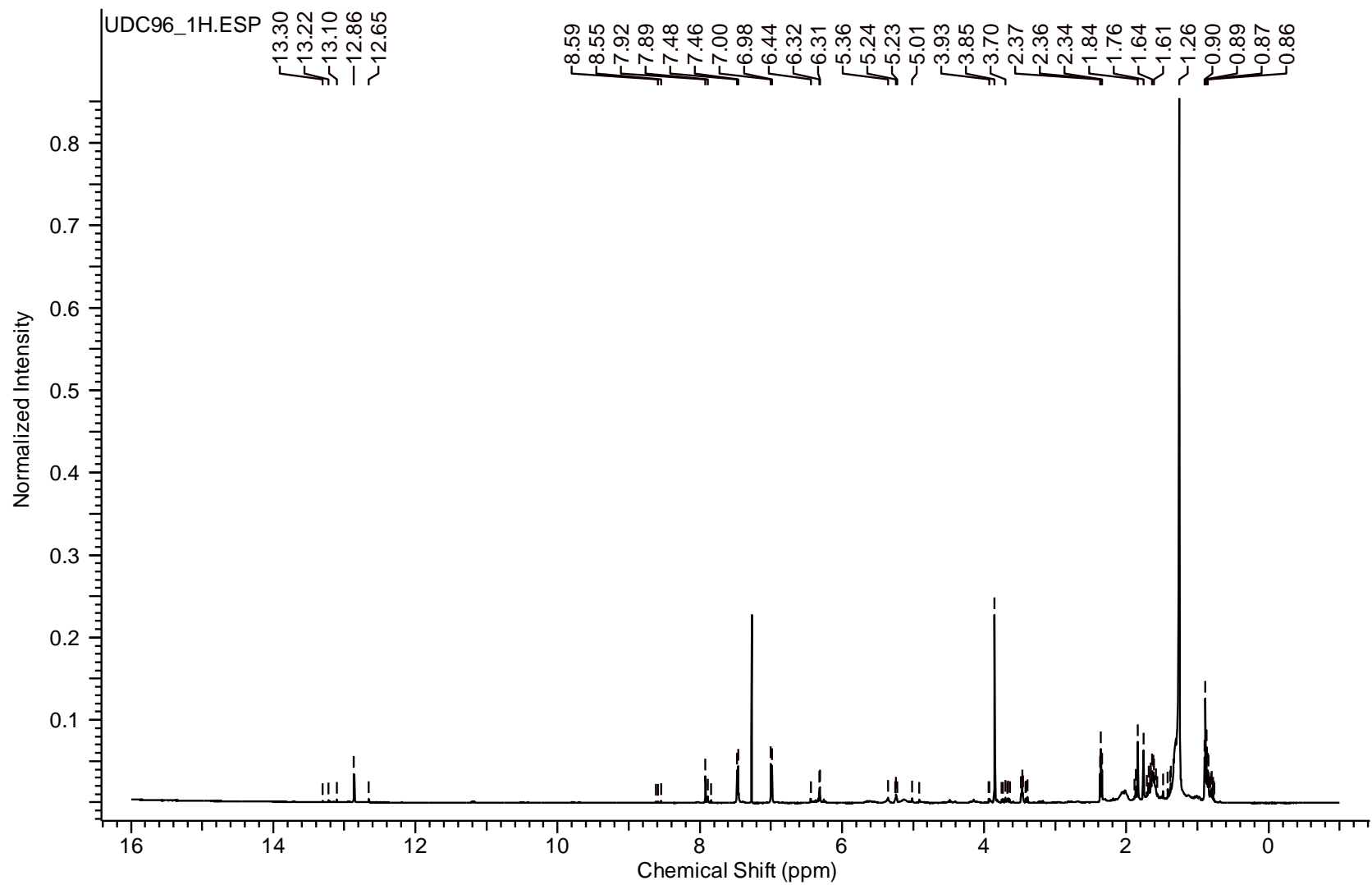
E.10. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 10.4 (4'-O-metilderrone).



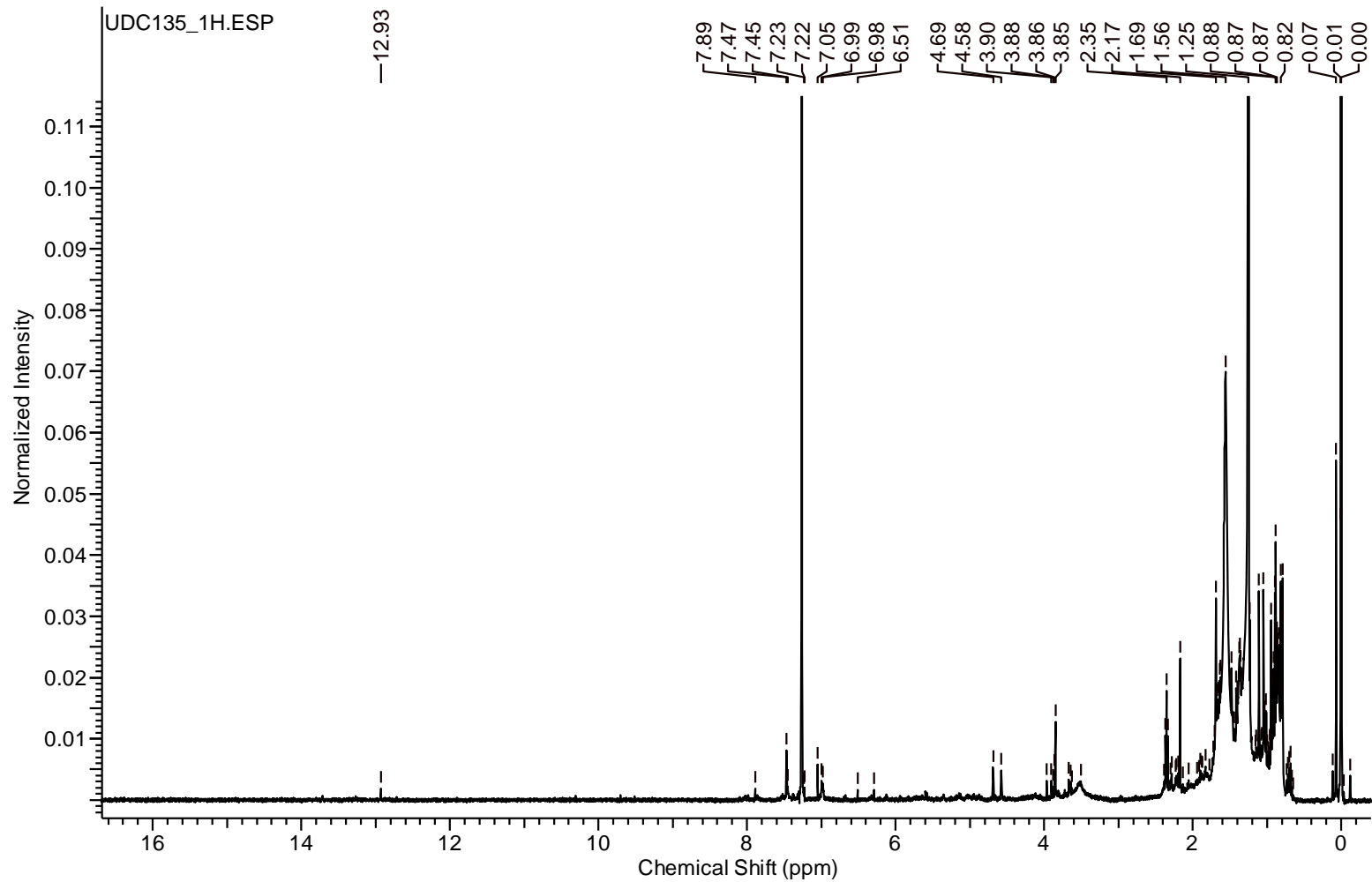
E.11. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da fração EMFDC 10.11-12.0.



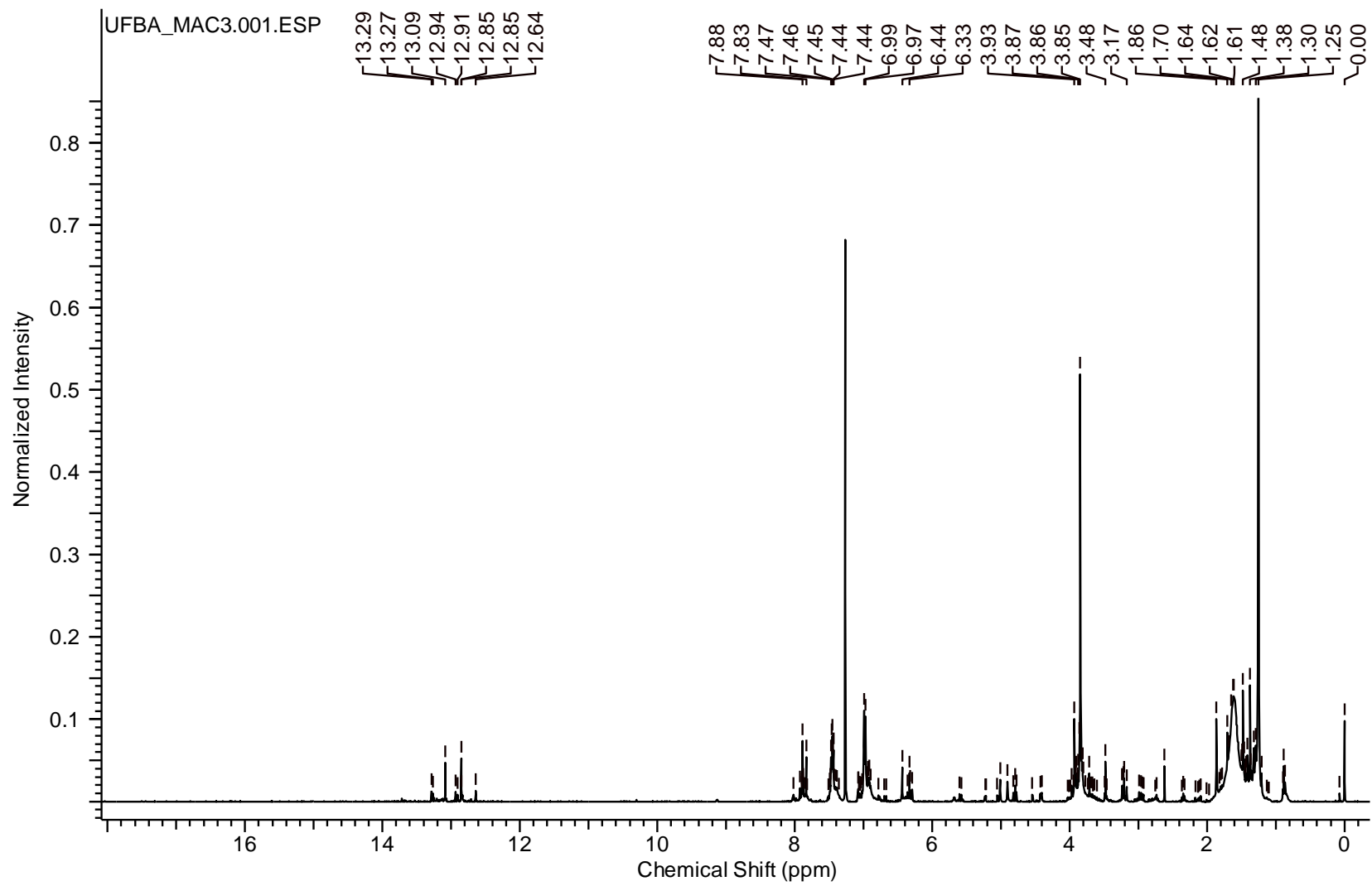
E.12. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da fração EMFDC 10.11-12.3.



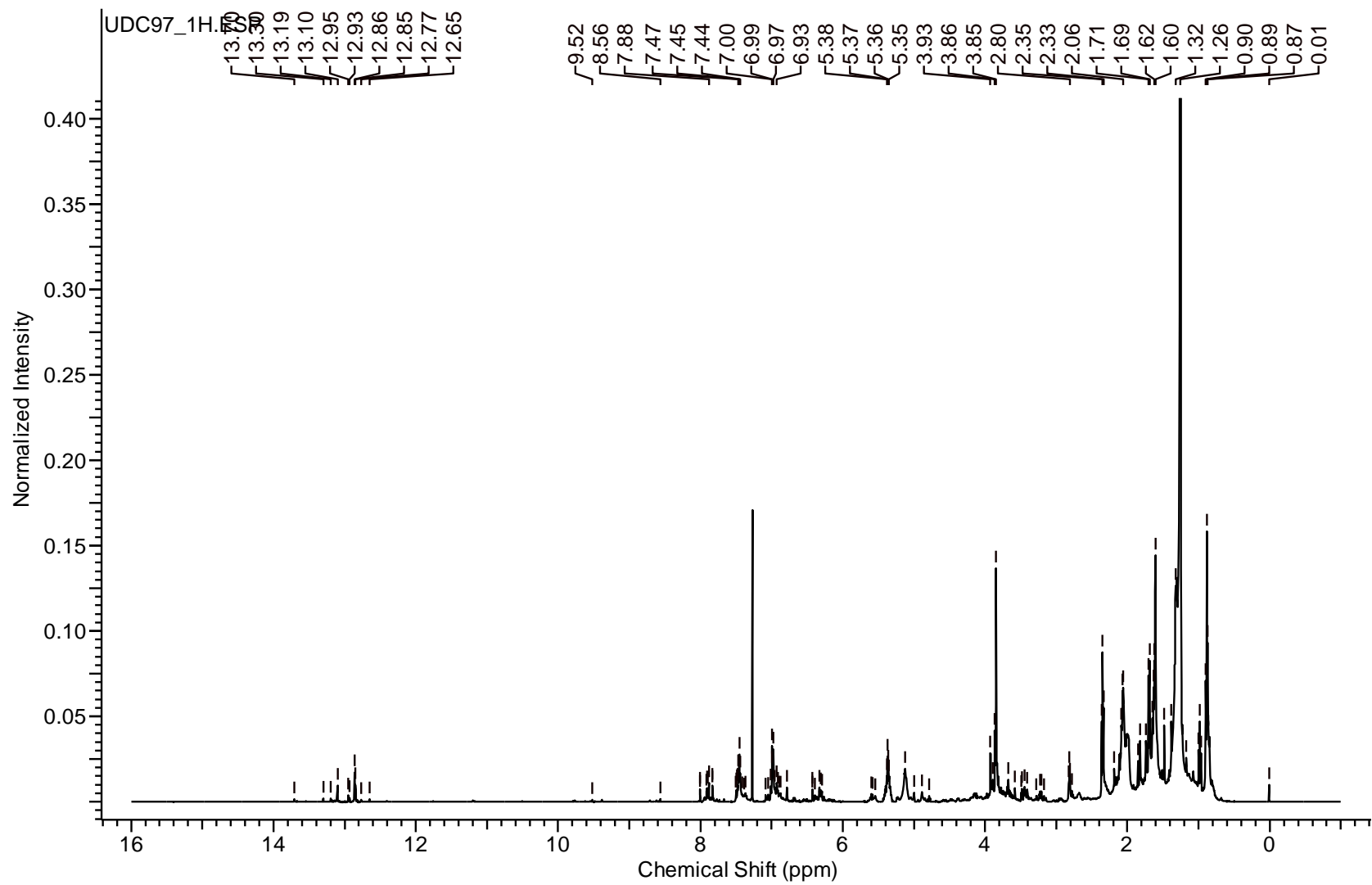
E.13. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 12.



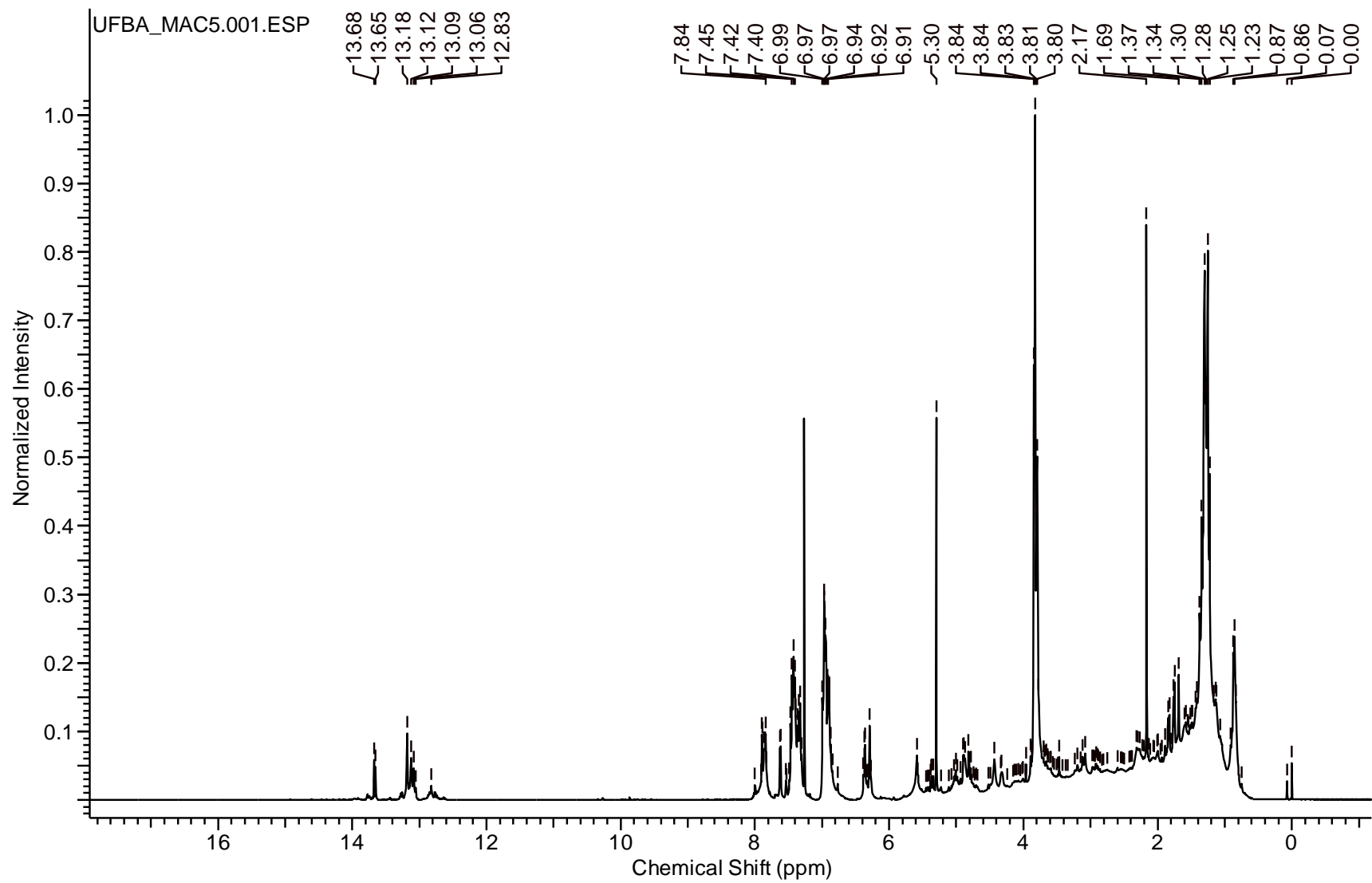
E.14. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 12.5 (4'-O-metilderrone).



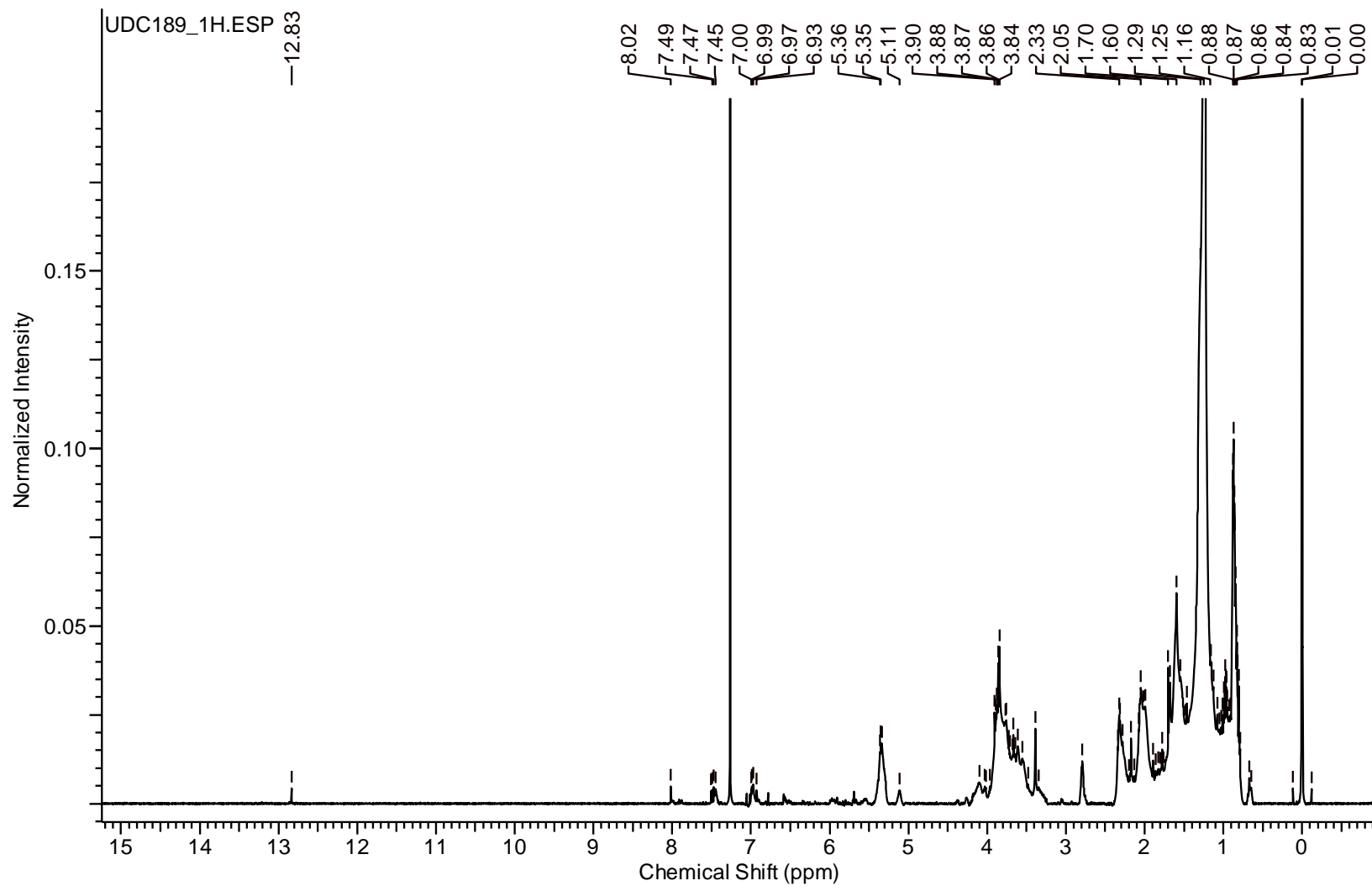
E.15. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da fração EMFDC 12.8-9.0.



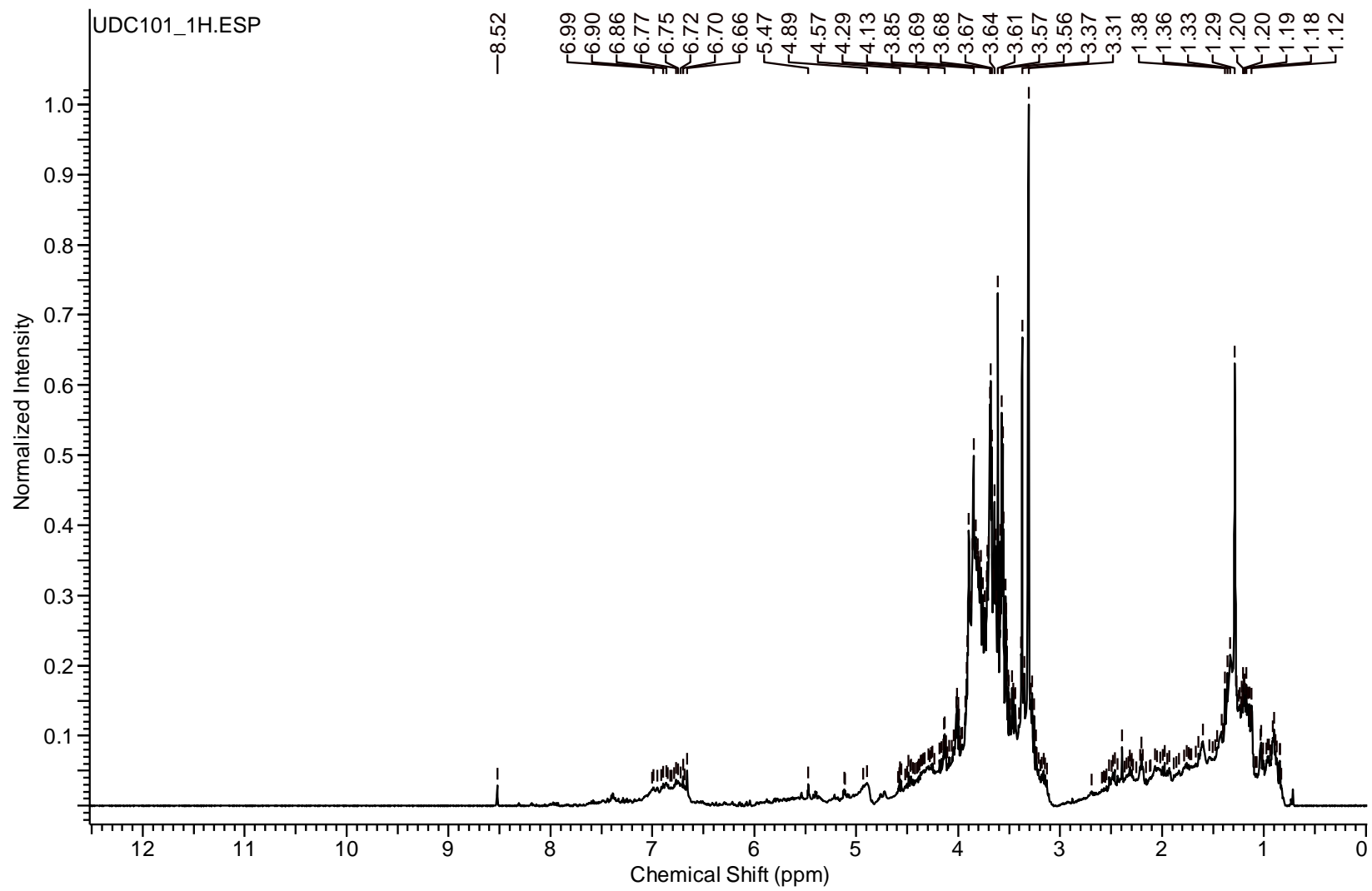
E.16. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 13.



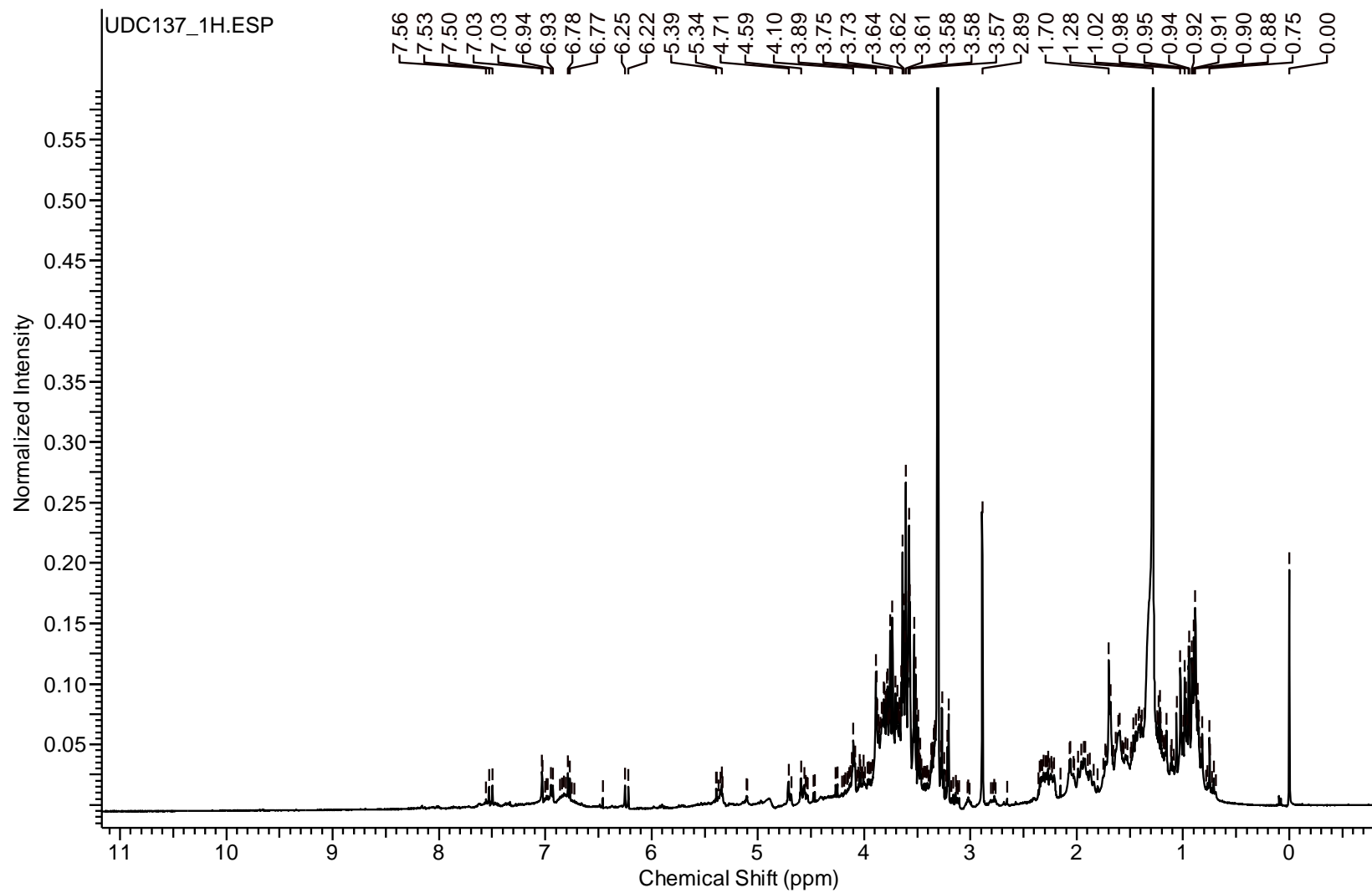
E.17. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da fração EMFDC 13.20.0'0.



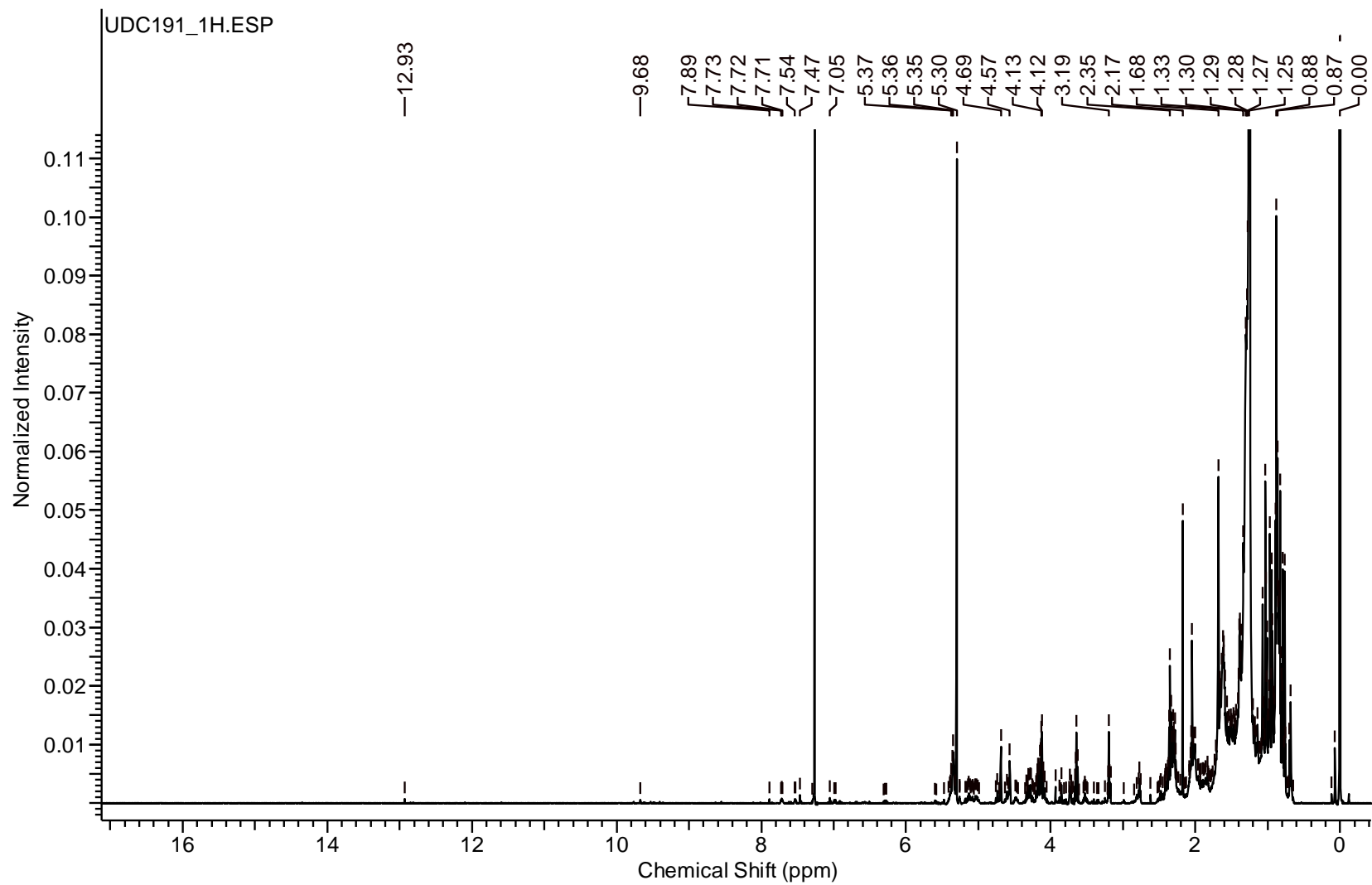
E.18. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EMFDC 15.



E.19. Espectro de RMN de ^1H (MeOD, 500 MHz) da fração EMFDC 16.



E.20. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do extrato em etanol das cascas de *D. costata* (EECsDC).



E.21. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da fração EECsDC 5-8.