




Article

Estudo Morfoanatômico e Atividade Antimicrobiana do Óleo Essencial, Extrato Bruto e Frações das Partes Aéreas de *Miconia cuspidata* Naudin

Pablo Henrique dos Santos Silva¹ , Fernando Yano Abrão² , Ana Paula Ferreira de Oliveira³ ,

Helena Dias Ferreira⁴ , José Realino de Paula⁵ , Tatiana de Sousa Fiuza⁶ 

¹ Discente Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Goiás, Brasil. ORCID: 0000-0002-3787-2545. E-mail: pablo.santos@discente.ufg.br

² Doutor em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Goiás, Brasil. ORCID: 0000-0002-0553-0946. E-mail: yanobruce@gmail.com

³ Discente Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Goiás, Brasil. ORCID: 0009-0002-9640-3439. E-mail: anade@discete.ufg.br

⁴ Doutor em Biologia. Universidade Federal de Goiás, Brasil. ORCID: 0000-0001-7763-734X. E-mail: hdiasicb@gmail.com

⁵ Doutor em Ciência (Química Orgânica). Universidade Federal de Goiás, Brasil. ORCID: 0000-0002-4424-7692. E-mail: jose_realino@ufg.br

⁶ Doutora em Biologia Celular e Molecular. Universidade Federal de Goiás, Brasil. ORCID: 0000-0003-0135-177X. E-mail: tatianaanatomia@gmail.com

RESUMO

Miconia cuspidata Naudin (Melastomataceae) é uma árvore popularmente conhecida como *pixirica* ou *sabiazzeira-da-folha-fina*. O objetivo do trabalho foi realizar o estudo morfoanatômico, e avaliar atividade antimicrobiana do óleo essencial, extrato bruto e frações hexano, diclorometano, acetato de etila e aquosa das folhas de *M. cuspidata*. Os estudos morfológicos e anatômicos foram realizados de acordo com as técnicas convencionais de anatomia vegetal. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação em um aparelho de Clevenger. A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo teste de microdiluição em caldo. O estudo identificou que *M. cuspidata* é uma árvore com cerca de 5m altura, possui tronco cilíndrico, casca acinzentada, folhas simples, opostas e curto pecioladas, flores brancas, fruto bacáceo, suculento e purpúreo, e sementes pequenas, numerosas e claro amarronzadas. A folha é hipostomática com estômatos diacícticos e anomocíticos. O mesófilo é dorsiventral apresentando parênquima paliçádico com duas camadas de células e parênquima lacunoso com 4 a 5 camadas de células. Observou-se tricomas glandulares simples contendo óleo em seu interior. A nervura principal é côncava-convexa com parênquima cortical apresentando 7 camadas de células, drusas e células esclerificadas. O pecíolo tem contorno convexo-levemente côncavo. O caule jovem, em corte transversal, apresenta forma oval com sulcos na região central. O extrato etanólico bruto e as frações diclorometano, acetato de etila e aquosa das folhas de *M. cuspidata* apresentaram atividade forte (CIM = 4-16 µg/mL) frente *Candida glabratae* e *Candida krusei*.

Palavras-chave: anatomia vegetal; extrato bruto; antimicrobiana; *Candida*.

ABSTRACT

Miconia cuspidata Naudin, widely known as "*pixirica*" or "*sabiazzeira-da-folha-fina*", is a tree that belongs to Melastomataceae family. The aim of this work was making the morphoanatomical study, and evaluate the antimicrobial activity of essential oil, crude ethanol extract and hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and aqueous fractions from *M. cuspidata* leaves. The morphological and anatomical studies were accomplished according to conventional techniques of vegetal anatomy. The essential oil obtained by hydrodistillation in a Clevenger apparatus. Antimicrobial activity was assessed by determining the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) using the broth serial microdilution test. The study showed *M. cuspidata* is a tree about 5m high, has cylindrical stem, grayish bark, simple, opposite and short petiole leaves, white flowers, bacaceous, juicy and purplish fruit. And small, numerous and light brownish seeds. The leaf is hypostomatic with diacytic and anomocytic stomata. The mesophyll is dorsiventral, presenting palisade parenchyma with two layers of cells and spongy parenchyma with 4 to 5 layers of cells. Was observed presence of simple glandular trichomes containing oil inside. The main vein is concave-convex with cortical parenchyma presenting 7 layers of cells, druse and sclerified cells. The petiole has a convex-slightly concave outline. The young twig, in cross-section, has an oval shape with grooves in the central region. The crude



Submissão: 13/06/2023



Aceite: 16/10/2023



Publicação: 27/10/2023



ethanol extract and dichloromethane, ethyl acetate, and aqueous fractions from aerial parts showed strong antimicrobial activity (CIM = 4-16 µg/MI) against *Candida glabrata* and *Candida krusei*.

Keywords: vegetal anatomy; crude extract; antimicrobial; *Candida*.

1. Introdução

Melastomataceae é uma família que apresenta 166 gêneros e cerca de 4.570 espécies, concentrando-se predominantemente nas regiões tropicais e subtropicais do globo. No Brasil, apresenta-se como a sexta maior família de angiospermas, com aproximadamente 68 gêneros e mais de 1500 espécies (Romero & Martins 2002). Distribui-se por todo território nacional, sendo comuns nos biomas Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica. No Cerrado ocorrem muitos gêneros, com frutos capsulares e bagas, como *Cambessedesia*, *Chaetostoma*, *Fritzschia*, *Lavoisiera*, *Lithobium*, *Macairea*, *Marctia*, *Microlepis*, *Microlicia*, *Potheranthera*, *Stenodon*, *Svitramia*, *Trembleya*, *Miconia* e *Clidemia* (Goldenberg et al. 2012). A família é facilmente reconhecida, principalmente, pelas folhas decussadas com nervação acródroma, estames geralmente falciformes e anteras poricidas (Romero & Martins 2002).

O gênero *Miconia* Ruiz & Pav. é um dos maiores neotropicais dentro das Angiospermas, contando com aproximadamente 1050 espécies (Goldenberg 2000) sendo que 122 delas são endêmicas no Brasil. *Miconia* é caracterizada por apresentar folhas destituídas de formicários, inflorescências geralmente terminais e não envoltas por brácteas foliosas, cálice com 05 lacínias externas reduzidas, corola com 05 pétalas de ápice arredondado ou emarginado, androceu com 10 estames, hipanto sem constrição no ápice e frutos tipo baga (Goldenberg 2000).

As folhas e ramos das diferentes espécies deste gênero são utilizadas popularmente como tratamento natural de muitas enfermidades, se destacando as espécies: *Miconia aplostachya* (Bonpl.) DC com atividade antisséptica, cicatrizante e usada no tratamento de ulcerações pela comunidade da Bacia do Alto Paru de Oeste, Tumucumaque (Cavalcante & Friel 1973); *Miconia rubiginosa* (Bonpl.) DC. no tratamento de infecções de garganta pela comunidade de Alto Rio Grande, Minas Gerais (Rodrigues & Carvalho 2001); *Miconia cinnamoniifolia* (DC.) Naudin para hipertermia e resfriados pela população de Quissamã, RJ (Boscolo 2003); *Miconia ferruginata* DC. como anti-inflamatória, tratamento de infecções e de dores pelos quilombolas do Raso da Catarina, Jeremoabo, Bahia (Almeida & Bandeira 2010).

Quanto às atividades biológicas, Spessoto et al. (2003) verificaram atividade analgésica do extrato hexânico e diclorometano de *M. rubiginosa* Serpeloni et al. (2008) observou inibição da secreção de proteases aspárticas produzidas por *C. albicans* pelos compostos fenólicos de *Miconia myriantha* Benth., atividade antioxidante de *M. albicans* (Sw.) Triana, potencial de redução de mutagenicidade do DNA de *M. cabucu* Hoehne e *M. stenostachya* DC. Leite (2016) verificou atividade antimicrobianas dos extratos brutos em hexano, acetato de etila e metanol das folhas de *Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC. Tomé et al. (2019) verificaram atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto das folhas de *Miconia albicans* (Sw.) Triana frente a *L. innocua*, da fração acetato de etila frente *B. cereus*, *L. innocua*, *L. monocytogenes* e da fração hexano frente *L. monocytogenes*.

Miconia cuspidata Naudin, popularmente conhecida como pau-canela ou sabiazeira-da-folha-fina, tem porte arbóreo, 5 a 8 m de altura, baga imatura verde, arroxeadada quando madura. Ocorre no Brasil (Goldenberg et al. 2012) nos estados do Amapá, Pará, Amazonas, Acre, Pernambuco, Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal e Minas Gerais, em região de Cerradão e Mata de Galeria (Goldenberg 2010). Floresce nos meses de fevereiro a abril e a frutificação ocorre em abril. Seus frutos servem de alimento para aves passeriformes e não-passeriformes. Tem grande potencial de utilização para recuperação de áreas degradadas, servindo como poleiro natural e atrativo para espécies de aves frutívoras e onívoras (Moura & Mantovani 2017).



Embora seja bastante presente no Cerrado, ainda é pouco explorada cientificamente e não há estudos na literatura dos aspectos anatômicos nem da atividade antimicrobiana dessa espécie. Devido a esta ausência de dados, este trabalho propõe realizar o estudo morfoanatômico e avaliar atividade antimicrobiana do óleo essencial, extrato bruto e frações hexano, diclorometano, metanol, acetato de etila e aquosa das folhas.

2. Materiais e Métodos

O material botânico foi coletado numa área de mata, no município de Hidrolândia – Goiás (786 m altitude, 16° 53' 59" S e 49° 13' 29" W). A identificação botânica foi realizada pelo Prof. Dr. José Realino de Paula e uma exsicata foi depositada e registrada no Herbário da Universidade Federal de Goiás (UFG) com o n° 67844. Para realizar as extrações, as folhas foram secas em estufa com circulação de ar durante 48 horas a 40°C.

2.1. Análise morfológica

A caracterização macroscópica da *M. cuspidata* foi realizada à vista desarmada e com auxílio de microscópio estereoscópico Olympus SZ-ST. O desenvolvimento dos indivíduos adultos no seu habitat natural foi acompanhado, mensalmente, durante 12 meses. As imagens foram registradas com máquina fotográfica digital (Canon EOS T4i).

2.2. Estudo anatômico

Para o estudo anatômico, o material botânico foi constituído por folhas e caules jovens frescos. Os materiais foram fixados em FPA (formalina, ácido propiônico e etanol 70% 1:1:18 v/v) e conservadas em etanol 70% sob refrigeração. As secções transversais e paradérmicas foram realizadas à mão livre e preparados para análise microscópica usando a coloração azul de Alcian/safranina 9:1 (Kraus & Arduin 1997), e histoquímica com Lugol e Steinmetz. O registro fotográfico das estruturas anatômicas foi realizado em fotomicroscópio (Zeiss-Axiostar plus) com máquina fotográfica digital acoplada (Canon Power Shot G10), utilizando o programa Axion Vision 4.8.

2.3. Óleo essencial

Para a extração do óleo essencial, cerca 320g do material botânico constituído por folhas secas da *M. cuspidata* foi triturado com triturador comercial (Skymesen, LS-08MB-N) imediatamente antes da extração do óleo essencial, evitando perdas por volatilização e submetido à hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger por 3 horas. O óleo essencial assim obtido foi dessecado com Na₂SO₄, acondicionado em frasco de vidro âmbar e mantidos a uma temperatura de -18° C para análise posterior.

2.4. Obtenção do extrato etanólico bruto e frações

Para a preparação do extrato etanólico bruto, as folhas secas foram trituradas em triturador comercial (Skymesen, LS-08MB-N) e maceradas com etanol 80% na proporção de 1:5 à temperatura ambiente, por três vezes e concentrado em evaporador rotativo (Fisatom, 801) a 38°C. Para a obtenção das frações, o extrato etanólico bruto foi solubilizado em metanol. A mistura resultante foi extraída por partições líquido/líquido sucessivas com hexano, diclorometano e acetato de etila e concentradas no evaporador rotativo (Ferri 1996). A fração aquosa restante foi seca em temperatura ambiente.

2.5. Avaliação da atividade antimicrobiana



A atividade antimicrobiana foi avaliada por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) utilizando o teste de microdiluição seriada em caldo de acordo com Clinical & Laboratory Standards Institute M7-A10 (CLSI 2015), M27-A3 (CLSI 2008) e M38-A2 (CLSI 2017).

Os microrganismos utilizados foram cepas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) adquiridas por doação da Universidade de São Paulo, cultivadas e armazenadas sob refrigeração no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás (UFG) (Tabela 1).

Tabela 1. Microrganismos usados nos testes de microdiluição em caldo para avaliação da atividade antimicrobiana.

Bactérias Gram-positivas
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 10240
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
Bactérias Gram-negativas
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Salmonella</i> sp. ATCC 14028
Fungos
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028
<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750
<i>Cryptococcus gatti</i> ATCC 24065
<i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 28957
<i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 90112
L2

Fonte: próprio autor

O óleo essencial, extrato e frações foram solubilizados em Dimetilsulfóxido (DMSO) 10% (1% no volume final) (CLSI 2008) e Tween 80 (0,02% no volume final) (Paula et al. 2012). Posteriormente foi preparada uma solução estoque em RPMI-1640 tamponado com MOPS pH 7,0. Nos primeiros orifícios da placa de microtitulação foram adicionados 200µL da solução do óleo essencial, extrato e frações separadamente e nos restantes adicionou-se 100µL de RPMI. A diluição seriada foi realizada até o décimo orifício de cada linha, de modo que se obtiveram concentrações variando de 2 a 1024 µg/mL.

Para o preparo dos microrganismos, uma suspensão das cepas fúngicas foi preparada em solução salina estéril (NaCl 0,85%), ajustada a 1×10^6 células/mL e em seguida as diluições foram realizadas em caldo Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640, resultando na concentração final de 10^3 UFC/mL. E para as bactérias, as diluições foram realizadas em caldo Muller Hinton, obtendo uma concentração final de 10^5 UFC/mL.

Na placa de microtitulação contendo a diluição seriada do óleo essencial, extrato etanólico bruto e das frações foram adicionados 100µL do inóculo em cada orifício. Foram avaliadas 13 cepas diferentes, sendo um em cada placa. A penúltima coluna foi utilizada para controle de crescimento do inóculo, não havendo a presença do composto teste. O controle de esterilidade do meio, contendo apenas RPMI foi realizado na última coluna. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C durante 48 horas para *Candida* spp. e 24 horas para bactérias.

Foram testados separadamente: DMSO 10% (p/v) (como controle de toxicidade), bactérias e fungos (como controle de crescimento microbiano), óleo essencial, extrato etanólico bruto e frações acetato de etila,



diclorometano, hexano e aquosa de *M. cuspidata* (controle de contaminação de amostras). Ampicilina, fluconazol, *E. coli* ATCC 25922 e *C. albicans* ATCC 22019 foram utilizadas como controle de qualidade da técnica. As placas foram submetidas à leitura visual comparada ao controle de crescimento. Todos os testes foram realizados em triplicata.

2.6. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi definida como a menor concentração da amostra (em $\mu\text{g/mL}$) capaz de inibir, de forma visível, totalmente o crescimento bacteriano. Segundo Alves et al. (2021) os valores CIM indicam bioatividade muito forte ($<3,515\mu\text{g/mL}$), forte ($3,516\text{-}25\mu\text{g/mL}$), moderada ($26\text{-}100\mu\text{g/mL}$), fraca ($101\text{-}500\mu\text{g/mL}$), muito fraca ($500\text{-}2000\mu\text{g/mL}$) e nenhuma bioatividade ($> 2000\mu\text{g/mL}$).

3. Resultados

3.1. Estudo Morfoanatômico

M. cuspidata é uma árvore com cerca de 5m altura (Figura 1A), tronco cilíndrico, casca acinzentada. Folhas simples e opostas, pecíolo curto com cerca de 8 mm comprimento, lâmina elíptico-lanceolada, glabra, ápice longo cuspidado, base obtusa, margem inteira, acródroma basal, levemente discolor, face ventral verde escuro-brilhante, face dorsal verde-claro, largura cerca de 4,5cm, comprimento variando de 5 a 14cm (Figura 1B), inflorescência terminal, ramificada, em panícula, cerca de 14cm comprimento, com ramos floridos terminando com três flores, em dicásio. Flores brancas, pedicelo cerca de 4 a 5 mm de comprimento, cálice laciniadas, caduco, esverdeadas, gamossépalo, corola com 5 pétalas livres entre si, brancas (Figura 1C). Androceu com 10 estames, anteras lineares, deiscência poricida; gineceu com ovário ínfero, plurilocular, óvulos numerosos. Fruto bacáceo, suculento, purpúreos, cerca de 6 mm comprimento (Figura 1D). Sementes, pequenas, numerosas e claro amarronzadas.



A

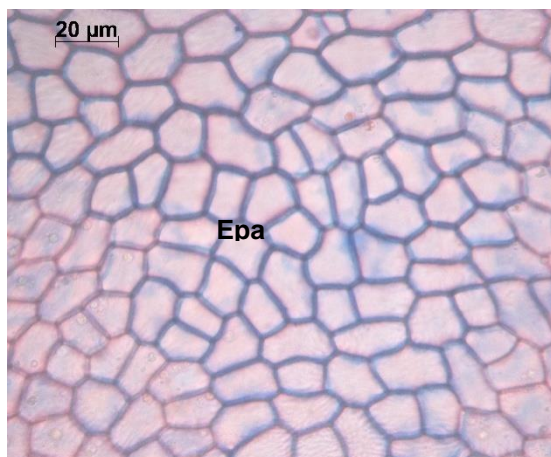
B



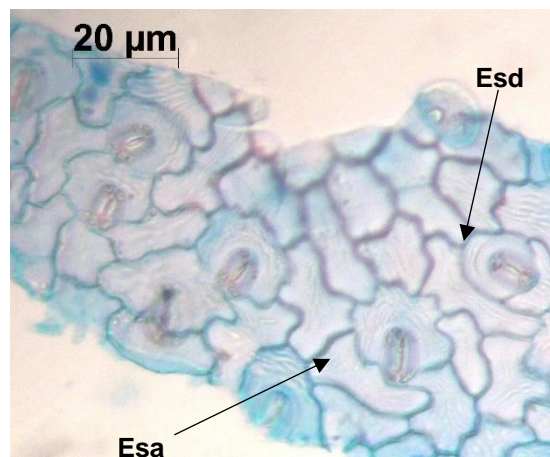
Figura 1. A – Árvore de *M.cuspidata*. B - Folha com face ventral verde escuro-brilhante evidenciando o comprimento. C – Flores brancas evidenciando o comprimento. D - Fruto bacáceo, imaturo à esquerda e maduro à direita. Fonte: próprio autor.

A lâmina foliar de *M. cuspidata*, em secção paradérmica, apresenta as células da epiderme com paredes retas a levemente curvas na face adaxial (Figura 2A) e células com paredes onduladas na face abaxial, revestida por estrias epicuticulares. A folha é hipoestomática com estômatos diacíticos e anomocíticos (Figura 2B). Em corte transversal, apresenta uma epiderme uniestratificada revestida por uma cutícula delgada (Figura 2C) com células da face adaxial maiores que a da face abaxial. O mesofilo é dorsiventral apresentando parênquima paliádico com 1-2 camadas de células e parênquima lacunoso com 4 a 5 camadas de células (Figura 2C). Observou-se tricomas glandulares simples contendo óleo em seu interior (Figura 2G).

A nervura principal é côncava-convexa (Figura 2D). A epiderme é uniestratificada revestida por cutícula com flanges cuticulares seguida de colênquima angular com 2 a 3 camadas de células na face abaxial e 4 camadas de células na face adaxial (Figura 2E). O parênquima cortical possui de 7 a 8 camadas de células, drusas, esclereides e cavidade secretoras. O sistema vascular é em arco aberto com floema interno e externo ao xilema. O parênquima medular apresenta células de tamanhos variados e drusas (Figura 2F) e células contendo amido (vermelhas) evidenciado pelo Lugol.



A



B

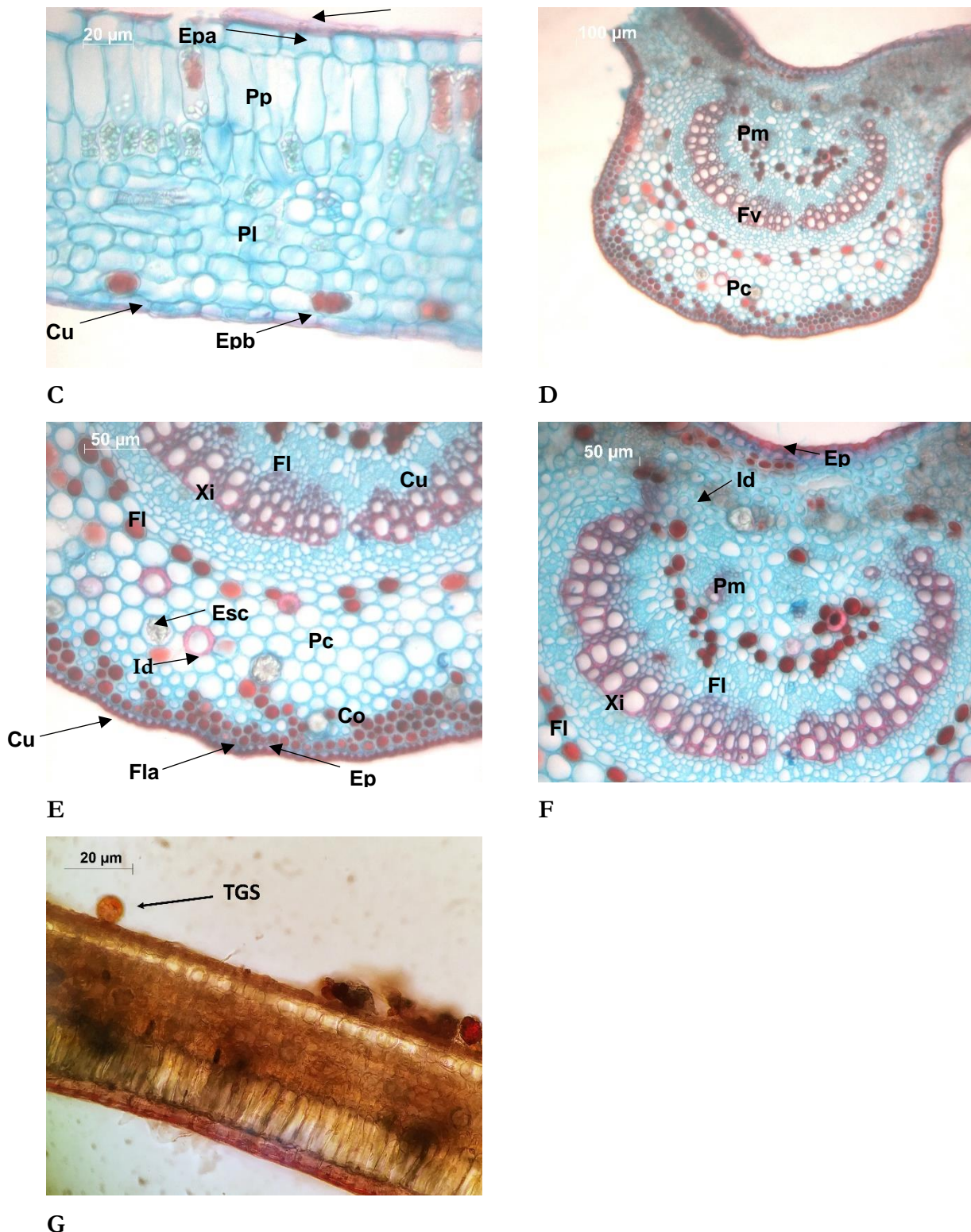
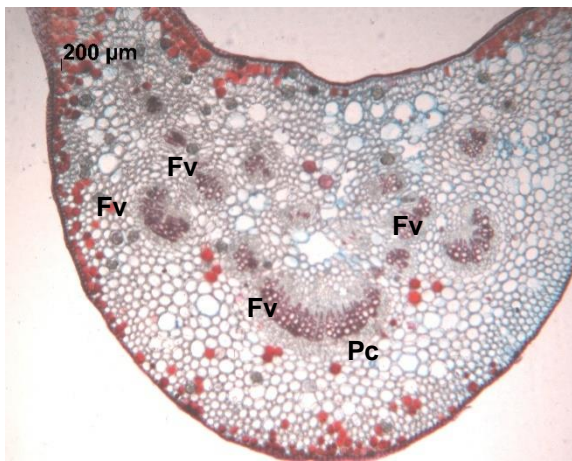


Figura 2. Lâmina foliar de *M.cuspidata*. **A** - Epiderme adaxial-seção paradérmica. **B** - Epiderme abaxial evidenciando estômatos diacíticos e anomocíticos. **C** – Mesofilo - corte transversal. **D** - Nervura principal-aspecto geral. **E** - Nervura principal - detalhe da região cortical. **F** - Nervura principal - detalhe da região medular. **G**-Internervura evidenciando tricoma glândulas. **A-F**= Coloração Azul de Alcian/safranina. **G**- Steinmetz. **Co**= Colênquima; **Cu** = Cutícula; **Ep** = Epiderme; **Epa** = Epiderme adaxial; **Epb** = Epiderme Abaxial; **Es**a = estômato anomocítico; **Es**d= estômato diacítico; **Es**c = Esclereídes; **Fl** = Floema; **Fl**a = Flanges cuticulares; **Fv** = Feixe vascular; **Id** = drusas; **Pc** = Parênquima Cortical; **Pl** = Parênquima lacunoso; **Pm** = Parênquima medular; **Pp** = Parênquima paliádico; **TGS** = Tricoma glandular simples; **Xi** = Xilema. Fonte: próprio autor.

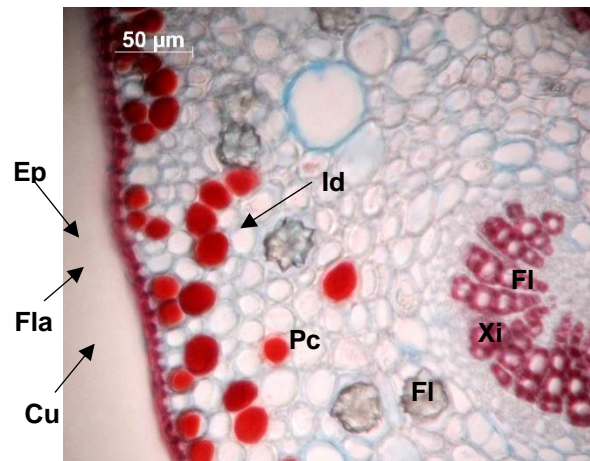


O pecíolo, em corte transversal, apresenta contorno convexo-levemente côncavo (Figuras 3A, 3B e 3C). A epiderme é uniestratificada revestida por cutícula (Figura 3B). Observam-se vários feixes vasculares anficrivais (Figuras 3A e 3C), colênquima angular com 3 a 4 camadas de células seguido de parênquima cortical com 10 camadas de células. Presença de drusas e células contendo amido nos parênquimas cortical e medular.

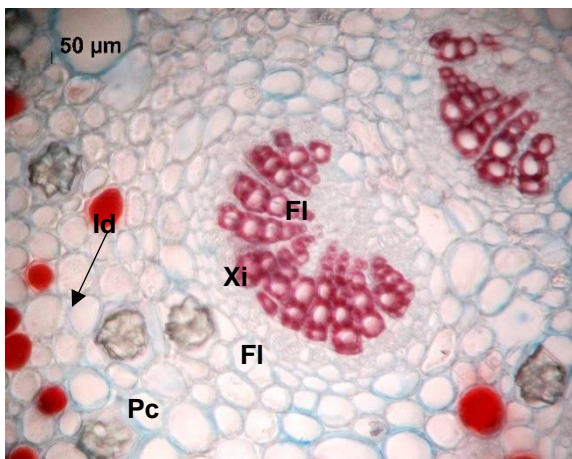
O caule jovem, em corte transversal, apresenta forma oval com sulcos na região central (Figuras 3D, 3E), epiderme uniestratificada revestida por cutícula. Colênquima com 3 camadas de células, parênquima cortical com 8 a 9 camadas de células (Figura 3E), cilindro vascular anficrival fechado com floema externo e interno ao xilema. Observam-se vários feixes vasculares anficrivais no parênquima medular. O parênquima medular é amplo com células de tamanhos variados. Presença de drusas nos parênquimas cortical e medular. (Figura 3F).



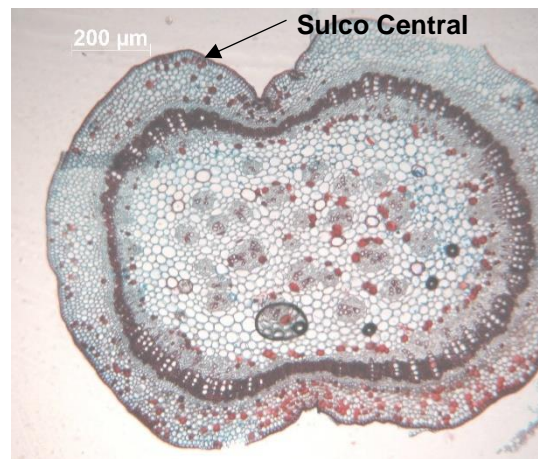
A



B



C



D

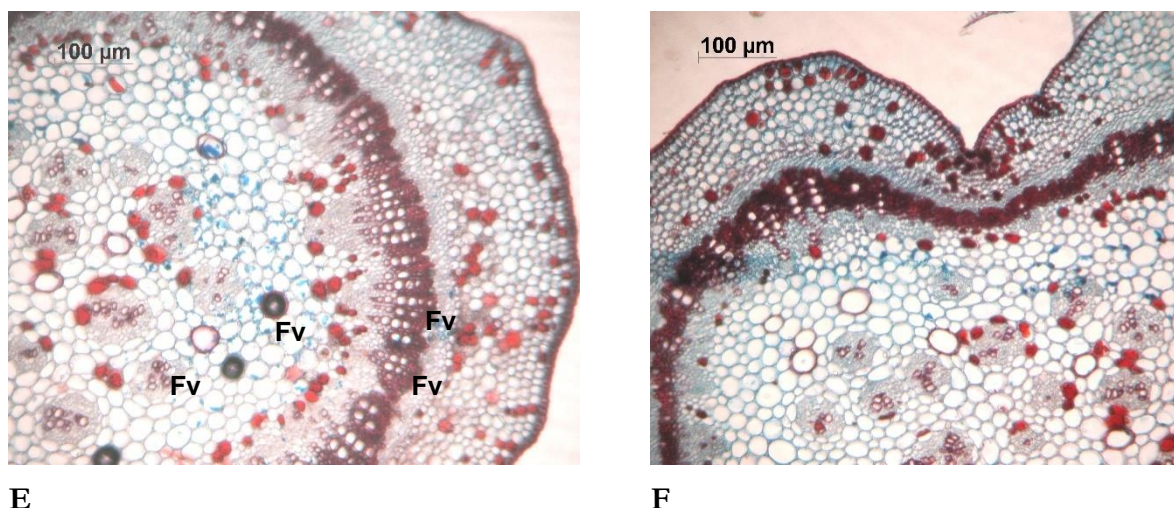


Figura 3. Corte transversal de *M.cuspidata*. **A-** Pecíolo - aspecto geral. **B-** Pecíolo - detalhe da região cortical. **C.** Pecíolo-detalhe da região medular. **D-** Caule jovem-aspecto geral. **E.** Caule jovem- detalhe da invaginação na porção mediana. **F.** Caule jovem - detalhes dos parênquimas cortical e medular. Coloração Azul de Alcian/Safranina. **Cu** = Cutícula; **Co** = Colênquima; **Ep** = Epiderme; **Epa** = Epiderme adaxial; **Epb** = Epiderme Abaxial; **Esc** = Células Esclerificadas; **Fl** = Flanges cuticulares; **Fv** = Feixe vascular; **Id** = drusas; **Pc** = Parênquima Cortical; **Pm** = Parênquima medular; **Xi** = Xilema. Fonte: próprio autor.

3.2. Atividade Antimicrobiana

O extrato etanólico bruto apresentou atividade forte frente *C. krusei* (8 µg/mL) e *C. glabrata* (16 µg/mL), atividade moderada frente *C. gatti* (32 µg/mL) e *C. neoformans* (32 µg/mL) e atividade fraca frente *C. albicans* (256 µg/mL), *C. tropicalis* (512 µg/mL) e o isolado clínico L2 (512 µg/mL). A fração diclorometano apresentou atividade forte frente *C. glabrata* (16 µg/mL), atividade fraca frente *C. krusei* (128 µg/mL) e *C. gatti* (256 µg/mL) e atividade muito fraca frente *C. albicans* (1024 µg/mL) (Tabela 2).

A fração acetato de etila teve atividade forte frente *C. glabrata* (4 µg/mL) e *C. krusei* (16 µg/mL), atividade moderada frente *C. gatti* (32 µg/mL), atividade fraca frente *C. albicans* (512 µg/mL), *C. neoformans* (256-512 µg/mL) e L2 (512 µg/mL) e atividade muito fraca frente *C. tropicalis* (1024 µg/mL). E a fração aquosa demonstrou atividade forte frente *C. glabrata* (4 µg/mL), atividade moderada frente *C. krusei* (32 µg/mL) e *C. neoformans* (32 µg/mL), atividade fraca frente *C. gatti* (128 µg/mL) e atividade muito fraca frente L2 (1024 µg/mL) (Tabela 2).

As frações diclorometano (FD), acetato de etila (FAC) e aquosa (FAQ) apresentaram atividade fraca (512 µg/mL) frente *P. aeruginosae* o óleo essencial apresentou atividade muito fraca (1024 µg/mL) frente o mesmo microrganismo. Não houve atividade frente as demais bactérias (Tabela 2).

O extrato etanólico bruto apresentou atividade forte frente *C. krusei* (8 µg/mL) e *C. glabrata* (16 µg/mL), atividade moderada frente *C. gatti* (32 µg/mL) e *C. neoformans* (32 µg/mL) e atividade fraca frente *C. albicans* (256 µg/mL), *C. tropicalis* (512 µg/mL) e o isolado clínico L2 (512 µg/mL). A fração diclorometano apresentou atividade forte frente *C. glabrata* (16 µg/mL), atividade fraca frente *C. krusei* (128 µg/mL) e *C. gatti* (256 µg/mL) e atividade muito fraca frente *C. albicans* (1024 µg/mL).

A fração acetato de etila teve atividade forte frente *C. glabrata* (4 µg/mL) e *C. krusei* (16 µg/mL), atividade moderada frente *C. gatti* (32 µg/mL), atividade fraca frente *C. albicans* (512 µg/mL), *C. neoformans* (256-512 µg/mL) e L2 (512 µg/mL) e atividade muito fraca frente *C. tropicalis* (1024 µg/mL). E a fração aquosa demonstrou atividade forte frente *C. glabrata* (4 µg/mL), atividade moderada frente *C. krusei* (32 µg/mL) e *C.*



neoformans (32 µg/mL), atividade fraca frente *C. gatti* (128 µg/mL) e atividade muito fraca frente *L2* (1024 µg/mL).

Tabela 2. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial das folhas, extrato bruto e frações das folhas de *M.cuspidata*.

Microrganismos	Extrato Etanólico Bruto	Fração Hexano	Fração Diclorometano	Fração Acetato de Etila	Fração Aquosa	Óleo Essencial
Bactérias Gram-positivas						
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 10240	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048
Bactérias Gram-negativas						
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>2048	>2048	512	512	512	1024
<i>Salmonella sp.</i> ATCC 14028	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048
Fungos						
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	256	<2048	1024	512	<2048	<2048
<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	16	2048	16	4	4	<2048
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	8	2048	128	16	32	<2048
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	512	<2048	2048	1024	2048	<2048
<i>Cryptococcus gatti</i> ATCC 24065	32	>2048	256	32	128	<2048
<i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 28957	32	>2048	>2048	512	64	<2048
<i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 90112	128	>2048	2048	256	512	<2048
<i>L2</i>	512	>2048	2048	512	1024	<2048

Fonte: próprio autor.



As frações diclorometano (FD), acetato de etila (FAc) e aquosa (Faq) apresentaram atividade fraca (512 µg/mL) frente *P. aeruginosa* e o óleo essencial apresentou atividade muito fraca (1024 µg/mL) frente o mesmo microrganismo. Não houve atividade frente as demais bactérias.

4. Discussão

Nesse estudo foi evidenciado nas folhas de *M. cuspidata* epiderme uniestratificada, e células na face adaxial maiores que na face abaxial, comuns em algumas espécies de *Miconia* (Reis et al. 2005). No presente estudo foram identificados em *M. cuspidata* epiderme revestida com cutícula e flanges cuticulares, presença de tricomas glandulares simples, cilindro vascular em arco aberto. Tomé et al. (2019) também verificaram que o cilindro vascular de *M. albicans* é em arco aberto, porém notaram a presença de tricomas aracnóides e ausência de flanges na cutícula. Ferreira et al. (2022) observaram em *M. ferruginata* feixe vascular em arco aberto e evidenciaram a presença de flanges cuticulares, mas os tricomas encontrados foram do tipo estrelado estipitado. Tricomas estrelados também foram descritos para *Miconia tristis* Spring e *Miconia doriana* Cogn. (Souza & Marquete 2000). Portanto a morfologia dos tricomas é uma forma de diferenciar as espécies de *Miconias*.

O teste histoquímico de Steinmetz evidenciou a presença de óleo essencial nos tricomas glandulares presentes nas folhas. Silva et al. (2023) identificaram no óleo essencial extraído das folhas de *M. cuspidata* 18 compostos químicos, sendo majoritários limoneno (46,8%), α -ylangene (13,9%), (E)-cariofileno (9,0%) e α -trans-bergamoteno (8,0%).

Na espécie estudada, o mesofilo possui parênquima lacunoso com 4 a 5 camadas de células, diferindo de *M. ferruginata*, onde o parênquima lacunoso possui 2-4 camadas de células (Ferreira et al. 2022) e, também se diferencia de *M. tristis*, que apresenta parênquima lacunoso com 3-5 camadas (Souza & Marquete 2000).

O caule jovem *M. cuspidata* no presente estudo possui forma oval com sulcos na região central o que diferencia de *M. albicans* que tem forma oval mas não possui sulcos (Tomé et al. 2019).

Em *M. cuspidata*, o pecíolo apresentou um contorno convexo-levemente côncavo, epiderme uniestratificada e parênquima com drusas, semelhantes as descritas por Tomé et al. (2019) em *M. albicans* diferenciando-se pela presença de tricomas aracnoides observados na espécie. A estrutura também se assemelha à de *M. ferruginata* descrita por Ferreira et al. (2022) e se distinguem na presença de uma grande quantidade de tricomas estrelados estipitados na epiderme.

Esse estudo morfológico releva a importância da caracterização morfoanatômica das plantas, onde ficam nítidas as semelhanças entre gêneros e famílias, como as células da face adaxial maiores que na face abaxial, o sistema vascular da nervura principal das folhas em arco aberto, presença de duas camadas de células no parênquima paliádico e a observação de drusas. Além disso, também é notório as diferenças entre espécies, como o número diferente de camadas no parênquima lacunoso, os diferentes tipos de tricomas descritos e a quantidade observada em cada espécie.

O extrato etanólico bruto e as frações diclorometano, acetato de etila e aquosa das folhas de *M. cuspidata* apresentaram atividade antimicrobiana forte (CIM = 4-16 µg/mL) frente a *C. glabrata* e *C. kerusei*. Celotto et al. (2003) verificaram pelo método de difusão em disco que os extratos etanólicos brutos das folhas de *M. albicans* e *M. rubiginosa* foram ativos para *C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* e *Salmonella* sp., já o extrato bruto das folhas de *M. stenostachya* foi ativo apenas frente *C. albicans*, com halos de inibição de 10,7-20,7 mm. Rodrigues et al. (2008) observaram atividade (CIM = 1,5-10 mg/mL) do extrato metanólico das folhas de *M. rubiginosa* e *M. stenostachya* para *C. albicans*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *M. luteus*, *B. subtilis*, e *B. cereus* e do extrato clorofórmico das



folhas de *M. cabucu* frente *C. albicans* (CIM = 1,5 mg/mL). Barroso (2015) observou uma atividade fraca (CIM = 500 µg/mL) do extrato bruto de folhas e flores de *M. ferruginata* frente *B. cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *L. monocytogenes*, *Micrococcus* sp., *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *S. aureus* e *Streptococcus agalactiae*. Tomé et al. (2019) verificaram atividade inibitória moderada (CIM = 500 µg/mL) do extrato etanólico bruto das folhas de *M. albicans* frente *L. innocua*. Ferreira et al (2022) atividade fraca (CIM = 250-500 µg/mL) do extrato etanólico bruto das folhas de *M. ferruginata* para cepas de *B. cereus* e *M. luteus* e atividade fraca frente *B. subtilis*, *S. aureus*, e *S. epidermidis*.

Verificou-se fraca atividade antimicrobiana da fração diclorometano, acetato de etila e aquosa das folhas de *M. cuspidata* frente *P. aeruginosa*. Não foi encontrado na literatura atividade antibacteriana dessa espécie, contudo estudos com outras espécies do mesmo gênero apresentaram atividade. Tomé et al. (2019) verificaram atividade inibitória moderada (CIM = 500 µg/mL) da fração acetato de etila de *M. albicans* frente a *B. cereus*, *L. innocua* e *L. monocytogenes* e da fração hexano (FH) frente *L. monocytogenes*.

Também foi verificado por Cunha et al. (2020) uma fraca atividade (CIM = 250-500 µg/mL) de uma mistura de ácido ursólico e ácido oleanólico, triterpenos isolados do extrato etanólico das folhas de *M. ferruginata* frente *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*, resultados próximos aos observados neste trabalho. Outro estudo de Cunha et al. (2019) comparou algumas espécies de *Miconia* quanto as atividades biológicas, onde foi encontrada atividade antimicrobiana moderada (IC50 = 27.5 µg/ml) pelo método de difusão em disco do ácido arjunólico, um triterpeno isolados do extrato etanólico das raízes de *Miconia pilgeriana* Ule, frente *C. albicans* e *C. neoformans*, atividade do extrato metanólico e clorofórmico das folhas de *M. cabucu* (CIM = 1,5-10 mg/mL) contra *S. epidermidis*, *C. albicans*, *S. aureus*, *M. luteus*, *E. faecalis*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli* e *Salmonella*, indicando que o gênero é um potencial combatente antimicrobiano.

De acordo com a literatura, análises fitoquímicas de *M. cuspidata* revelaram a presença de esteroides/triterpenos e flavonoides nas partições em etanol 70%, hexano, clorofórmio e acetato de etila. Saponinas e alcaloides estavam presentes nas partições hidroalcolica, hexânica e clorofórmica. Taninos não foram encontrados na partição hexânica enquanto as cumarinas estavam ausentes apenas na partição clorofórmica (Alves 2016).

5. Conclusão

O estudo realizado contribui com a descrição anatômica de *M. cuspidata*, possibilitando realizar a identificação correta e diferenciá-la das demais espécies do gênero. Verificou-se forte atividade antifúngica (CIM = 4-16 µg/mL) do extrato etanólico bruto e das frações diclorometano, acetato de etila e aquosa das folhas de *M. cuspidata* frente cepas de *C. glabrata*, *C. krusei* e atividade moderada (32 µg/mL) frente cepas de *C. gatti* e *C. neoformans*. Dessa forma, os resultados observados neste trabalho, indicam que *M. cuspidata* é promissora como fonte de matéria-prima no combate antimicrobiano. Este trabalho representa o primeiro estudo da atividade antimicrobiana das folhas da *M. cuspidata*.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG). Este estudo foi parcialmente financiado pela CAPES, Código Financeiro 001.



Referências

- Almeida VS, Bandeira FPSF 2010. O significado cultural do uso de plantas da caatinga pelos quilombolas do Raso da Catarina, município de Jeremoabo, Bahia, Brasil. *Rodriguésia*, 61(2):195-209.
- Alves DN, Ferreira AR, Duarte ABS, Melo AKV, Sousa DP, Castro RD 2021. Breakpoints for the classification of anti-*Candida* compounds in antifungal screening. *BioMed Research International* 2021(4):1-8.
- Alves NR 2016. Estudo dos extratos de três espécies do gênero *Miconia* sobre a Inibição das MMPs 2 e 9 e sobre o crescimento tumoral *in vitro*. Dissertação de Mestrado, Programa Multicêntrico de Pós Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de São João Del Rei, 81 pp.
- Barroso PR 2015. Fitoquímica e atividades biológicas de *Miconia ferruginata* DC.(Melastomataceae). Tese de Mestrado, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 255 pp.
- Boscolo OH 2003. Estudos etnobotânicos do município de Quissamã-RJ. Tese de Mestrado em Ciências Biológicas (Botânica) - Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 206 pp.
- Cavalcante PB, Friel P 1973. A Famacopéia Tiriyo: estudo étno-botânico. Gráfica Falangola Editora LTDA, Belém, 157 pp.
- Celotto AC, Nazario DZ, Spessoto MDA, Martins CHG, Cunha WR 2003. Evaluation of the *in vitro* antimicrobial activity of crude extracts of three *Miconia* species. *Brazilian Journal of Microbiology* 34:339-340.
- CLSI 2008. Clinical and Laboratory Standards Institute, Reference method for Broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved Standard—Second Edition. CLSI document M38-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI 2015. Clinical and Laboratory Standards Institute, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria. That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. CLSI document M07-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI 2017. Clinical and Laboratory Standards Institute, Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, 4th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cunha GOS, Terezan AP, Matos AP, Melo-Burger MC, Vieira PC, Fernandes JB, Menezes ACS 2020. Antimicrobial activity of isolated compounds and semisynthetic derivatives from *Miconia ferruginata*. *Acta Brasiliensis* 4(1):49-52.
- Cunha GOS, Cruz DC, Menezes ACS 2019. An Overview of *Miconia* genus: Chemical constituents and biological activities. *Pharmacognosy Reviews* 13(26):77-88.
- Ferreira HD, Lima LAR, Rezende MH, Paula JR, Alves VF, Chaul LT, Fiuza TS 2022. Estudo Morfoanatômico e Atividade Antimicrobiana das Folhas de *Miconia ferruginata* DC. *Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science* 11(2):19-30.



- Ferri PH 1996. Química de produtos naturais: métodos gerais. In LC Di Stasi. Plantas Medicinais: arte e ciência, um guia de estudos interdisciplinares. Editora da UEP, São Paulo, 129-56 pp.
- Goldenberg R 2000. Gênero *Miconia* Ruiz et Pavon (Melastomataceae): I. Listagens Analíticas; II. Revisão Taxonômica da Seção *Hypoxanthus* (Rich. ex DC.) Hook.f. 249 pp.
- Goldenberg R 2010. Melastomataceae: *Miconia*. In: FORZZA, R. C. et al. (Eds.). Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Vol. II, Andrea Jakobsson Estúdio e Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1255-1263 pp.
- Goldenberg R, Baumgratz JFA, Souza MLDR 2012. Taxonomia de Melastomataceae no Brasil: retrospectiva, perspectivas e chave de identificação para os gêneros. *Rodriguésia* 68:145-161.
- Kraus JE, Arduin M 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Ed. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 131 pp.
- Leite TCC 2016. Estudo químico e farmacológico biomonitorado de sete espécies do gênero *Miconia* (Melastomataceae). Tese de Doutorado em Inovação Terapêutica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 96 pp.
- Moura C, Mantovani W. 2017. Regeneração natural da floresta ombrófila densa após oito anos de abandono de atividades agrícolas em Miracatu, Vale do Ribeira, SP. *Revista do Instituto Florestal*, 29(1), 91-119.
- Paula JAMD, Silva MDRR, Costa MP, Diniz DGA, Sá FA, Alves SF, Paula JRD 2012. Phytochemical analysis and antimicrobial, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of two chemotypes of *Pimenta pseudocaryophyllus* (Myrtaceae). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012:1-15.
- Reis CD, Bieras AC, Sajo MDG 2005. Anatomia foliar de Melastomataceae do Cerrado do estado de São Paulo. *Brazilian Journal of Botany* 28: 451-466.
- Rodrigues VEG, Carvalho DD 2001. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande-Minas Gerais. *Ciência e agrotecnologia* 25(1):102-123.
- Rodrigues J, Michelin DC, Rinaldo D, Zocolo GJ, Santos LC, Vilegas W, Salgado HRN 2008. Antimicrobial activity of *Miconia* species (Melastomataceae). *Journal of Medicinal Food* 11(1):120-126, 2008.
- Romero R, Martins AB 2002. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. *Brazilian Journal of Botany* 25(1):19-24.
- Silva PHS, Romano CA, Oliveira-Neto JR, Cunha LC, Abrao FY, Santos AH, Paula JR, Fiuza TS 2023. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Miconia cuspidata*. *Chemistry of Natural Compounds* 59 (2):394-395.
- Souza RCOS, Marquete O 2000. *Miconia tristis* Spring e *Miconia dorianana* Cogn. (Melastomataceae): anatomia do eixo vegetativo e folhas. *Rodriguésia* 51(78/79):133-142.



Serpeloni JM, Bisarro-Reis M, Rodrigues J, Campaner-Santos L, Vilegas W, Varanda EA, Cólus IMS 2008. *In vivo* assessment of DNA damage and protective effects of extracts from *Miconia* species using the comet assay and micronucleus test. *Mutagenesis*, 23(6), 501-507.

Spessoto MA, Ferreira, DS, Crotti AEM, Silva MLA, Cunha WR 2003. Evaluation of the analgesic activity of extracts of *Miconia rubiginosa* (Melastomataceae) *Phytomedicine* 10: 606–609.

Tomé LU, Ferreira HD, Alves VF, Oliveira LG, Borges LL, Sá S, Paula JR, Fiuza TS 2019. Estudo morfoanatômico, triagem fitoquímica, avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto e frações das folhas de *Miconia albicans* (Sw.) Triana. *Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science* 8(2):372-391.