

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS - UniEVANGÉLICA  
PRÓ REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA, EXTENSÃO E AÇÃO  
COMUNITÁRIA (PROPPE)  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SOCIEDADE, TECNOLOGIA E MEIO  
AMBIENTE (PPSTMA)  
MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Justicia  
thunbergioides* (Lindau) Leonard. (ACANTHACEAE)**

Laryssa Rosset Provensi

ANÁPOLIS – GO  
2018

**LARYSSA ROSSET PROVENSI**

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Justicia thunbergioides* (Lindau) Leonard. (ACANTHACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais. Área de Concentração: Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente

Orientador(a): Lucimar Pinheiro Rosseto

Coorientador: André Luiz Meleiro Porto

ANÁPOLIS – GO  
2018

P969

Provensi, Laryssa Rosset.

Estudo fitoquímico e atividade antioxidante de *Justicia thunbergioides* (Lindau) Leonard. (ACANTHACEAE) / Laryssa Rosset Provensi – Anápolis: Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica, 2018. 164 p.; il.

Orientador: Prof. Dr. Lucimar Pinheiro Rosseto.

Co-Orientador: André Luiz Meleiro Porto

Dissertação (mestrado) – Programa de pós-graduação em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente – Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica, 2018.

1. *Justicia thunbergioides* 2. *Justicia pectoralis* 3. Metabólicos secundários  
4. Atividade biológica 5. Controle de qualidade  
I. Rosseto, Lucimar Pinheiro II. Porto, André Luiz Meleiro III. Título.  
CDU 504

Dedico esse trabalho aos meus pais, Gilmar Luiz Provensi e Sueli Helena Rosset Provensi pelo amor incondicional e apoio em todos os meus projetos pessoais e sem os quais eu não teria obtido tantas realizações.

## AGRADECIMENTOS

- Agradeço em primeiro lugar a Deus, que me concede diariamente o dom da vida;
- Ao Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica e ao Mestrado em Ciências Ambientais do Programa de Pós-graduação em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente pela disponibilização dos recursos e infraestrutura para a realização da pesquisa;
- À minha família, em especial aos meus pais Gilmar Luiz Provensi e Sueli Helena Provensi, e meus irmãos Mateus Ricardo Provensi e Lucas Luiz Provensi, pelo apoio em cada segundo para a realização desse sonho;
- À professora Dr. Lucimar Pinheiro Rosseto, pela dedicação, paciência e atenção para a orientação durante a realização desse trabalho;
- Ao meu companheiro Reginaldo Júnior pelo incentivo e paciência durante essa jornada;
- Aos técnicos dos laboratórios do Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, Cristiane de Fátima Sá Sousa, Geane Fortaleza dos Santos, Adriano Pereira Ramiro e Willian Caixeta Brito, pela preciosa ajuda e contribuição na realização dos experimentos de prospecção fitoquímica.
- Ao professor Dr. Clarimar José Coelho e seus alunos do Laboratório de Computação Científica da Escola de Ciências Exatas e da Computação da Pontífca Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás), pela realização das análises de imagem hiperespectral.
- À Universidade Estadual de Goiás, em especial à professora Dra. Josana de Castro Peixoto pela co-orientação.
- À Universidade de São Paulo (USP) pela disponibilização dos recursos e infraestrutura para a realização da pesquisa, em especial ao professor André Luiz Meleiro Porto pela orientação, dedicação e tempo prestado, assim como toda sua equipe do Laboratório de Química Orgânica e Biocatálise (IQSC);
- Aos meus colegas Kelvin Picro, Charlene Anjos e Rafaely Lima, que durante essa trajetória me apoiaram e contribuíram de forma significativa para a obtenção dos resultados finais;
- Ao meu primo Guilherme Rosset e à minha amiga Fernanda Fernandes que me apoiaram ao decorrer da realização desse trabalho.

## RESUMO

*Justicia thunbergioides* (Lindau) Leonard e *Justicia pectoralis* Jacq. pertencem à família Acanthaceae, sendo que muitas espécies da mesma são amplamente utilizadas na medicina popular para o tratamento de doenças respiratórias e gastrointestinais (CORRÊA et al., 2012). Neste sentido, este trabalho visa o uso da imagem hiperespectral para distinguir as espécies *J. thunbergioides* e *J. pectoralis* assim como o estudo fitoquímico e a atividade antioxidante das folhas de *J. thunbergioides*. A imagem hiperespectral de folhas secas e pulverizadas de espécies de *Justicia* foram obtidas utilizando-se equipamento SisuCHEMA que produz imagens no infravermelho de ondas curtas (*Short Wave Infrared*; SWIR) (TANKEU et al., 2015; SANDASI et al., 2014). Das folhas de *J. thunbergioides* foram obtidos os extratos brutos (hexânico [HEX], diclorometânico [DC] e metanólico [ME]). O extrato DC foi fracionado por cromatografia em coluna e as substâncias identificadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. A avaliação da atividade antioxidante dos extratos (HEX, DC e ME) de *J. thunbergioides* foi realizado pelo método do DPPH (MELAGRAKI et al., 2009). Na triagem fitoquímica das folhas de *J. thunbergioides* verificou-se a presença de heterosídeos cardioativos, flavonoides, cumarinas, alcaloides e saponinas e nas folhas de *J. pectoralis* a presença de heterosídeos antraquinônicos, cardioativos, flavonoides, cumarinas e alcalóides. As análises de componentes principais (*Principal Component Analysis*, PCA) mostrou uma distinção clara e diferenciação entre as folhas das duas amostras de *Justicia*, sendo considerado um método de controle de qualidade objetivo e não destrutivo, justificando assim o uso dessa tecnologia na comparação da autenticidade de matérias-primas vegetais. O extrato ME apresentou forte ação antioxidante inibindo o radical DPPH (0,5 mmol/mL) em cerca de em cerca de 75% na presença da concentração a 12 µg/mL e IC<sub>50</sub> de 3,2 µg/mL, apresentando potente atividade antioxidante (AAI > 2), sendo mais eficiente que o extrato DC de *J. thunbergioides* o qual foi obtido IC<sub>50</sub>= 78,5 e AAI de 0,25 considerado baixa atividade antioxidante (AAI < 0,5), assim como o extrato HEX que apresentou uma atividade menor ainda, com AAI = 0,11 (baixo potencial antioxidante) e o IC<sub>50</sub> obtido foi muito superior (186,38). No extrato DC foram identificados 29 compostos, entre eles, terpenos, hidrocarbonetos, cetonas; aldeídos, álcoois graxos, lignanas, vitamina E e β-sitosterol. Estudos de atividade antioxidante e identificação de compostos químicos foram relatados pela primeira vez em *J. thunbergioides*.

**Palavras-chave:** *Justicia thunbergioides*. *Justicia pectoralis*. Metabólitos Secundários. Atividade Biológica. Controle de qualidade.

## ABSTRACT

*Justicia thunbergioides* and *Justicia pectoralis* belong to the family Acanthaceae, many species of this family are widely used in traditional medicine for the treatment of respiratory and gastrointestinal diseases (CORRÊA et al., 2012). In this sense, this paper aims to use the hyperspectral image to distinguish the species *J. thunbergioides* and *J. pectoralis*, the phytochemical study and antioxidant activity of the leaves of *J. thunbergioides*. The hyperspectral image of dried and pulverized leaves of *Justicia* species were obtained using SisuCHEMA which produces Short Wave Infrared images (SWIR) (TANKEU et al., 2015; SANDASI et al., 2014). From the leaves of *J. thunbergioides* the brut extracts were obtained (hexane [HEX], dichloromethane [DC] and methanolic [ME]). The DC extract was fractionated by column chromatography and the substances identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The evaluation of the antioxidant activity of the extracts (HEX, DC and ME) of *J. thunbergioides* was performed by the DPPH method (MELAGRAKI et al., 2009). In the phytochemical analysis of leaves from *J. thunbergioides* the presence of cardioactive heterosides, flavonoids, coumarins, alkaloids and saponins was verified and in the leaves from *J. pectoralis* the presence of anthraquinones, cardioactive, flavonoids, coumarins and alkaloids heterosides. The Principal Component Analysis (PCA) showed a clear distinction and differentiation between the leaves of the two *Justicia* samples, being considered an objective and non-destructive quality control method, thus justifying the use of this technology in the comparison of authenticity of vegantal raw materials. The extract ME showed a strong antioxidant action by inhibiting the DPPH radical (0.5 mmol / mL) by about 75% in the presence of the concentration at 12 µg / mL and IC<sub>50</sub> of 3.2 µg / mL, presenting potent antioxidant activity (AAI > 2), being more efficient than the DC extract of *J. thunbergioides*, which obtained IC<sub>50</sub> = 78.5 and AAI of 0.25 considered low antioxidant activity (AAI < 0.5), as well as the HEX extract showed a lower activity with AAI = 0.11 (low antioxidant potential) and the IC<sub>50</sub> obtained was much higher (186,38). In the DC extract were identified 29 compounds, among them, terpenes, hydrocarbons, ketones; aldehydes, fatty alcohols, lignans, vitamin E and β-sitosterol. Studies of antioxidant activity and identification of chemical compounds were first reported in *J. thunbergioides*.

**Keywords:** *Justicia thunbergioides*. *Justicia pectoralis*. Secondary metabolites. Biological activity. Quality control.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> -	Mapa geral dos registros de <i>Justicia</i> em Goiás	31
<b>Figura 2</b> -	Estrutura de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) antes (1) e depois (2) reação com antioxidante	33
<b>Figura 3</b> -	Metabólitos secundários isolados de espécies de <i>Justicia</i>	40
<b>Figura 4</b> -	<i>Justicia pectoralis</i> Jacq. (ACANTHACEAE) – A) Aspecto geral da planta. B) Flores	48
<b>Figura 5</b> -	Mapa de distribuição geográfica de <i>J. thunbergioides</i> no Brasil	51
<b>Figura 6</b> -	<i>Justicia thunbergioides</i> (ACANTHACEAE) – A) Aspecto geral da planta. B) Flores	52
<b>Figura 7</b> -	Ilustração de um hipercubo spectral criado através da combinação de duas dimensões espaciais (x;y) e de comprimento de onda ( $\lambda$ )	53
<b>Figura 8</b> -	Imagens espectrais SWIR das amostras pulverizadas das folhas de <i>J. pectoralis</i> e <i>J.thunbergioides</i>	67
<b>Figura 9</b> -	HSI de três amostras pulverizadas de <i>J. pectoralis</i> e três <i>J. thunbergioides</i> (a) juntamente com os escores da PCA destas amostras	68
<b>Figura 10</b> -	Amostras dos extratos secos para o treinamento, sendo três de <i>J. pectoralis</i> (em verde) e três de <i>J. thunbergioides</i> (em azul), juntamente com sua respectiva PCA	69
<b>Figura 11</b> -	Amostras dos extratos pulverizados - <i>J. pectoralis</i> (em verde) e <i>J. thunbergioides</i> (em azul)	70
<b>Figura 12</b> -	Resultado da classificação utilizando PLS-DA	71
<b>Figura 13</b> -	Estrutura básica de uma antraquinona (9,10-antraquinona)	75
<b>Figura 14</b> -	Reações de Caracterização dos Heterosídeos Antraquinônicos (Reação de Borntrager Indireta) em: (a) <i>J. pectoralis</i> e em (b) <i>J. thunbergioides</i>	76
<b>Figura 15</b> -	Estrutura básica dos heterosídeos cardioativos	77
<b>Figura 16</b> -	Reações de caracterização de heterosídeos cardioativos em <i>J. pectoralis</i> e <i>J. thunbergioides</i> : Reação de Liebermann-Burchard (1), Reação de Keller-Kiliani (2), Reação de Pesez (3), Reativo de Kedde (4)	78
<b>Figura 17</b> -	Estruturas básicas de compostos flavônicos. A - flavona; B- chalcona	79

<b>Figura 18</b> - Reações de caracterização dos flavonoides em <i>J. pectoralis</i> e <i>J. thunbergioides</i> : reação de Shinoda (1), reação com hidróxidos alcalinos (2), reação com cloreto férrico (3) e reação com cloreto de alumínio (4)	80
<b>Figura 19</b> - Estrutura de Flavona (A); Flavonol (B); Flavonona (C) e Isoflavonona	81
<b>Figura 20</b> - Estrutura de Flavona (A); Flavonol (B); Flavonona (C) e Isoflavonona	82
<b>Figura 21</b> - Estruturas básicas das saponinas. A - Saponina esteroidal; B - Saponina triterpênica	83
<b>Figura 22</b> - Reações de caracterização das saponinas em <i>J. pectoralis</i> e <i>J. thunbergioides</i>	83
<b>Figura 23</b> - Estruturas básicas dos taninos. A – ácido gálico; B – ácido elágico	85
<b>Figura 24</b> - Reações com sais de alcaloides em <i>J. pectoralis</i> e <i>J. thunbergioides</i>	86
<b>Figura 25</b> - Reações de caracterização de taninos em <i>J. pectoralis</i> e <i>J. thunbergioides</i>	87
<b>Figura 26</b> - Reações com hidróxidos alcalinos em <i>J. pectoralis</i> e <i>J. thunbergioides</i>	88
<b>Figura 27</b> - Estrutura básica dos alcalóides. A – Codeína; B – Morfina	89
<b>Figura 28</b> - Reações de caracterização de alcalóides em <i>J. pectoralis</i> e <i>J. thunbergioides</i> : Reativo de Mayer (1), Reativo de Dragendorff (2), R. de Bouchardat (3), R. de Bertrand (4), R. de Hager (5) e Acido Tânico (6)	90
<b>Figura 29</b> - Estrutura básica de uma cumarina	91
<b>Figura 30</b> - Reações de caracterização de cumarinas em <i>J. pectoralis</i> e <i>J. thunbergioides</i>	92
<b>Figura 31</b> - Concentração inibitória (IC <sub>50</sub> ) do extrato hexânico frente ao radical DPPH	94
<b>Figura 32</b> - Concentração inibitória (IC <sub>50</sub> ) do extrato diclorometânico frente ao teste antioxidante com radical DPPH	95
<b>Figura 33</b> - Concentração inibitória (IC <sub>50</sub> ) do extrato metanólico frente ao radical DPPH	95
<b>Figura 34</b> - Curva cinética do extrato metanólico frente ao radical DPPH	99
<b>Figura 35</b> - Curva cinética do extrato diclorometânico frente ao radical DPPH	100

<b>Figura 36</b> - Cromatograma da partição com acetato de etila do extrato diclorometânico de <i>J. thunbergioides</i>	102
<b>Figura 37</b> - Constituintes químicos identificados na partição acetato de etila do extrato diclorometânico de <i>J. thunbergioides</i>	104
<b>Figura 38</b> - Cromatograma da partição com diclorometano do extrato diclorometânico de <i>J. thunbergioides</i>	110
<b>Figura 39</b> - Cromatograma da partição com diclorometano do extrato diclorometânico de <i>J. thunbergioides</i>	111
<b>Figura 40</b> - Cromatograma de íons totais da fração acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	117
<b>Figura 41</b> - Cromatograma de íons totais (CG-EM) das frações F57-63, provenientes da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico da espécie <i>J. thunbergioides</i>	118
<b>Figura 42</b> - Espectro de massas obtido por ionização de elétrons (70 eV) das frações 57-63 provenientes da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico da espécie <i>J. thunbergioides</i>	118
<b>Figura 43</b> - Estrutura do Isoascaridol	119
<b>Figura 44</b> - Cromatograma de íons totais (CG-EM) do dibutilhidroxitolueno obtido do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	119
<b>Figura 45</b> - Espectro de massas obtido por ionização de elétrons (70 eV) das frações F201-210, provenientes da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	119
<b>Figura 46</b> - Estrutura do hidroxitolueno butilado – BHT	120
<b>Figura 47</b> - Cromatograma das frações F102-199, provenientes da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	121
<b>Figura 48</b> - Cromatograma de íons totais da fração F34-75 C3, provenientes da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	122
<b>Figura 49</b> - Espectro de massas obtido por ionização de elétrons (70 eV) da fração F34-75 C3, provenientes da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	122
<b>Figura 50</b> - Espectro infravermelho da fração F34-75 C3 da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	123
<b>Figura 51</b> - Espectro de massa de alta resolução da fração F34-75 C3 da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	123

<b>Figura 52</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da fração F34-75 C3 da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	124
<b>Figura 53</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da fração F34-75 C3 da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	124
<b>Figura 54</b> - Espectro de RMN 2D ( $^1\text{H}$ e $^1\text{H}$ gCOSY, 500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da fração F34-75 C3 da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	125
<b>Figura 55</b> - Espectro de RMN 2D acoplamentos de longa distancia 3-4J ( $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ HMBC, 500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da fração F34-75 C3 da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	126
<b>Figura 56</b> - Espectro de RMN 2D ( $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ HSQC, 500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da fração F34-75 C3 da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	127

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1 -</b>	Lista Oficial das Espécies da Família Acanthaceae pertencente à Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção	21
<b>Quadro 2 -</b>	Atividades biológicas dos extratos brutos de espécies do gênero <i>Justicia</i>	34
<b>Quadro 3 -</b>	Atividade biológica de metabólitos secundários isolados de espécies de <i>Justicia</i>	36
<b>Quadro 4 -</b>	Reações de Caracterização dos Metabólitos Secundários das Folhas de <i>J. thunbergioides</i> e <i>J. pectoralis</i> .	74
<b>Quadro 5 -</b>	Comparação com dados da literatura das principais classes de metabólitos secundários detectados nas folhas de <i>J. thunbergioides</i> Jacq	92
<b>Quadro 6 -</b>	Comparação com dados da literatura das principais classes de metabólitos secundários detectados nas folhas de <i>J. pectoralis</i> Jacq	93

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 -</b>	Extratos brutos obtidos após maceração dinâmica a frio do material seco e moído das folhas de <i>J. thunbergioides</i> e <i>J. pectoralis</i>	56
<b>Tabela 2 -</b>	Valores de IC <sub>50</sub> e AAI para os extratos de <i>J. thunbergioides</i>	96
<b>Tabela 3 -</b>	Resultado do teste antioxidante para o extrato hexânico de <i>J. thunbergioides</i> realizado com o uso do radical DPPH	97
<b>Tabela 4 -</b>	Resultado do teste antioxidante para o extrato diclorometânico de <i>J. thunbergioides</i> realizado com o uso do radical DPPH	97
<b>Tabela 5 -</b>	Resultado do teste antioxidante para o extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i> realizado com o uso do radical DPPH	98
<b>Tabela 6 -</b>	Tempos de retenção (TR) e comparação dos índices de Kovats (KI) calculados para os compostos presentes na partição com acetato de etila do extrato diclorometânico de <i>J. thunbergioides</i>	103
<b>Tabela 7 -</b>	Tempos de retenção (TR) e comparação dos índices de Kovats (KI) calculados para os compostos presentes na partição com diclorometano do extrato diclorometânico de <i>J. thunbergioides</i>	111

## LISTA DE FLUXOGRAMAS

<b>Esquema 1 -</b>	Procedimento para isolamento e purificação dos constituintes do extrato diclorometânico das folhas de <i>J. thunbergioides</i>	62
<b>Esquema 2 -</b>	Procedimento para isolamento e purificação dos constituintes do extrato metanólico das folhas de <i>J. thunbergioides</i>	64
<b>Esquema 3 -</b>	Procedimento cromatográfico da fração Acetato de Etila e obtenção da F34-75 C3	66

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAI -	Índice de atividade antioxidante
ACP -	Análise de componentes principais
1D -	Unidimensional
2D -	Bidimensional
%AA -	Porcentagem da atividade antioxidante
AcOEt -	Acetato de etila
AlCl <sub>3</sub> -	Cloreto de alumínio
CC -	Cromatografia em Coluna
CCD -	Cromatografia em Camada Delgada
CHCl <sub>3</sub> -	Clorofórmio
CDCl <sub>3</sub> -	Clorofórmio deuterado
CD <sub>3</sub> OD -	Metanol deuterado
CG-EM -	Cromatografia em fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
COSY -	Correlation Spectroscopy
CLAE -	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DEPT 135° -	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer – ângulo 135°
DMSO -	Dimetilsufóxido
DPPH -	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EM -	Espectrometria de Massas
EtOH -	Etanol
F -	Fração
KI -	Índice de Kováts
<i>PLS-DA</i> -	<i>Análise discriminante por mínimos quadrados parciais</i>
HCl -	Ácido Clorídrico
HMBC -	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC -	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HSQC -	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz -	Hertz
IV -	Infravermelho
MeOH -	Metanol
Rbc1 -	Ribulose biphosphate carboxylase large chain

RMN <sup>13</sup> C -	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN <sup>1</sup> H -	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
TMS -	Tetrametilsilano
TR -	Tempo de retenção
UV -	Ultravioleta

OBS.: As abreviaturas e símbolos utilizados neste trabalho que não constam nesta relação, encontram-se descritas no decorrer do texto ou são convenções adotadas universalmente.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>19</b>
<b>1.1</b>	Justificativa	21
<b>1.2</b>	Objetivos	23
<b>1.2.1</b>	Objetivo Geral	23
<b>1.2.2</b>	Objetivos Específicos	23
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>25</b>
<b>2.1</b>	Bioma Cerrado e plantas medicinais	26
<b>2.2</b>	Família Acanthaceae: distribuição geográfica, taxonomia e dados morfológicos	28
<b>2.2.1</b>	<i>Justicia</i> : distribuição geográfica, atividade biológica e metabólitos secundários isolados	30
<b>2.2.2</b>	<i>Justicia pectoralis</i> e <i>Justicia thunbergioides</i>	47
<b>2.2.3</b>	Imagem hiperespectral no controle de qualidade de plantas medicinais	52
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>55</b>
<b>3.1</b>	Coleta do material botânico	55
<b>3.2</b>	Secagem e extração	55
<b>3.2.1</b>	Extrato bruto de <i>J. thunbergioides</i>	55
<b>3.3</b>	Infravermelho de onda curta (SWIR) imagem hiperespectral	56
<b>3.4</b>	Determinação da perda por dessecação dos materiais vegetais	57
<b>3.5</b>	Determinação do teor de cinzas	58
<b>3.5.1</b>	Determinação do teor de cinzas totais	57
<b>3.5.2</b>	Determinação do teor de cinzas insolúveis em ácido clorídrico (HCl)	58
<b>3.6</b>	Triagem fitoquímica das espécies vegetais ( <i>J. pectoralis</i> e <i>J. thunbergioides</i> )	59
<b>3.7</b>	Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila DPPH	59
<b>3.8</b>	Fracionamento, purificação e identificação dos constituintes químicos presentes no extrato bruto de <i>J. thunbergioides</i>	60
<b>3.8.1</b>	Cromatografia em coluna	61
<b>3.8.2</b>	Cromatografia em camada delgada analítica	61
<b>3.8.3</b>	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	61
<b>3.8.4</b>	Cromatografia gasosa – GC/MS	61
<b>3.8.5</b>	Espectrometria na região de absorção do Infravermelho (IV)	62
<b>3.8.6</b>	Fracionamento do extrato diclorometânico das folhas de <i>J. thunbergioides</i>	62
<b>3.8.6.1</b>	Análises por CG-EM das frações JTFDD e JTFDA obtidas do fracionamento do extrato diclorometânico da folha de <i>J. thunbergioides</i>	63
<b>3.8.7</b>	Fracionamento do extrato bruto metanólico das folhas de <i>J. thunbergioides</i>	64

3.8.7.1	Isolamento e purificação dos compostos da fração acetato de etila (F2) do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	65
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	67
4.1	Resultados de Infravermelho de onda curta (SWRI) imagem hiperespectral	67
4.2	Teor de voláteis dos materiais vegetais	72
4.3	Teor de cinzas totais	72
4.4	Teor de cinzas insolúveis em ácido clorídrico	73
4.5	Triagem fitoquímica de <i>J. thunbergioides</i> e <i>J. pectoralis</i>	73
4.6	Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre (DPPH) para <i>J. thunbergioides</i>	93
4.7	Isolamento, purificação e identificação dos metabólitos secundários do extrato bruto diclorometânico de <i>J. thunbergioides</i>	101
4.7.1	Identificação dos compostos presentes no extrato diclorometânico da espécie <i>J. thunbergioides</i>	102
4.7.2	Isolamento dos metabólitos secundários do extrato metanólico de <i>J. thunbergioides</i>	117
5	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	121
6	<b>CONCLUSÃO</b>	128

## 1 INTRODUÇÃO

A biodiversidade é reconhecidamente fonte de muitos recursos às populações humanas ao redor do Globo, de acordo com as suas peculiaridades geolocalizadas. É entendida como a variabilidade de organismos vivos de todas as origens, que diferem em importância, chegando a ocupar missão fundamental seja na cadeia alimentar, seja no fornecimento de matérias-primas e na produção de fármacos (SIMÕES et al., 2017).

A combinação da biodiversidade com o conhecimento tradicional de seu uso concede ao Brasil uma posição privilegiada para o desenvolvimento de novos produtos. A utilização da medicina tradicional no Brasil pode ser justificada pelo fato de que o país é detentor de cerca de 20% da biodiversidade mundial (BRASIL, 2018). Cerca de 50 mil espécies de plantas superiores catalogadas ocorrem no Brasil, das quais apenas 8% tiveram seus componentes pesquisados e em torno de mil espécies foram avaliadas quanto as suas propriedades farmacológicas (BRASIL, 2006).

As florestas tropicais concentram mais de 50% das espécies de plantas do mundo, mas a Floresta Amazônica não é a única região de vasta biodiversidade na América do Sul. A Floresta Atlântica e o Cerrado também são considerados *hotspots* de biodiversidade, ou seja, estão incluídos entre os mais ricos e ameaçados reservatórios de vida animal e vegetal do Planeta, com pelo menos 1.500 espécies endêmicas de plantas e que tenha perdido mais de 3/4 de sua vegetação original (MYERS et al., 2000; apud BRANDÃO et al., 2010).

O Bioma Cerrado é a segunda maior formação vegetacional da América do Sul, ele ocupa cerca de 204 milhões de hectares, abrangendo 23% do território nacional, e é o Estado de Goiás que detém grande parte do mesmo. Considerado a maior savana do mundo, sua área original supera dois milhões de km<sup>2</sup> e encontra-se predominantemente no Planalto Central. A sua área contínua abrange, além do Estado de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Maranhão, Piauí, Rondônia, Paraná, São Paulo e Distrito Federal, além dos enclaves no Amapá, Roraima e Amazonas. Estima-se que de 31 a 34% das regiões remanescentes de Cerrado possam desaparecer até 2050, sendo considerado assim um dos 25 *hotspots* mundiais para a conservação da biodiversidade (OLIVEIRA, 2008; STRASSBURG et al., 2017).

Este bioma se apresenta como promissora fonte de produtos naturais com propriedades medicinais. A investigação de produtos naturais sempre foi objeto de inúmeros estudos e tem fornecido notável contribuição na busca de protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos. Ao avaliar sua evolução, observa-se uma

significativa queda de interesse em meados da década de 1960, provavelmente em função das complexidades químicas dos produtos naturais e difícil obtenção através da utilização de processos muitas vezes lentos, caros e que resultavam em quantidades mínimas, que em muitas vezes, não são suficientes para conclusão dos estudos (SIMÕES, 2017).

Os produtos naturais possuem fitoativos, ou seja, componentes químicos que conferem às plantas medicinais atividade terapêutica. Estes, por sua vez, são provenientes do metabolismo secundário das plantas e podem ser divididos em três grupos quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Nesse sentido, a fitoquímica tem por objetivo fornecer informações relevantes da presença de metabólitos secundários (ou especiais) presentes nas plantas, através de etapas de identificação, isolamento e elucidação estrutural dos constituintes mais importantes do vegetal, responsáveis ou não pela ação biológica (TAIZ; ZEIGER, 2004; LOPEZ, 2006; SIMÕES et al., 2017).

No bioma Cerrado, com um arsenal de substâncias ainda não totalmente exploradas na sua biodiversidade, destaca-se a família botânica Acanthaceae, que possui ampla distribuição nas regiões tropicais de todo o mundo, alcançando algumas áreas temperadas, com cerca de 250 gêneros e aproximadamente 4000 espécies. Os dois gêneros de maior expressividade são *Justicia*, com 350 a 900 espécies e *Ruellia*, apresentando cerca de 250 espécies. No Brasil estima-se que ocorram cerca de 45 gêneros e 706 espécies, como *Justicia axillaris* (Nees) Lindau, *Justicia brandegeana* Wassh. & Smith, *Justicia brasiliana* Roth, *Justicia carnea* Lindl., *Justicia comata* (L.) Lam., *Justicia floribunda* (C. Koch) Wassh., *Justicia laevilinguis* (Nees), *Justicia pectoralis* Jacq var. *stenophylla* Leonard, *Justicia thunbergioides* (Lindau) Leonard, sendo que pelo menos 254 espécies são endêmicas, com grande concentração das espécies na região Sudeste e Centro-Oeste (SARTIN, 2015; PROFICE et al., 2015).

As espécies de estudo deste trabalho são: *Justicia pectoralis* Jacq. e *Justicia thunbergioides* (Lindau) Leonard., as quais pertencem à família Acanthaceae e são encontradas preferencialmente no Cerrado. Poucas espécies de *Justicia* foram estudadas (36 espécies de cerca de 900 espécies catalogadas), entre elas e sendo considerada uma das mais estudadas, cita-se a *J. pectoralis* Jacq. conhecida popularmente como “chambá”, “anador” e utilizada na medicina popular contra dores e inflamações (SARTIN, 2015; CORRÊA et al., 2012).

Diversos são os estudos envolvendo essa espécie, desde isolamento até atividades

biológicas. Fonseca (2010) através de estudos fitoquímicos revelou a presença de vários compostos incluindo cumarina (1,2-benzopirona) e umbeliferona (7-hidroxicumarina). Alguns compostos isolados do extrato hidroalcoólico das folhas de *J. pectoralis* apresentaram atividades anti-inflamatórias, antinociceptivas e broncodilatadora como é o caso da umbeliferona (LEAL et al., 2000; LINO et al., 1997).

Chariandy et al. (1999) relata em seu trabalho o potencial antibacteriano e larvicida do extrato hidroalcoólico das folhas *J. pectoralis*, em que dos 51 extratos de 29 espécies de plantas utilizadas para o teste de atividade antibacteriana, o extrato hidroalcoólico de *Justicia pectoralis* mostrou melhor resultado.

Por outro lado, a espécie *J. thunbergioides* possui apenas estudos de prospecção fitoquímica das folhas (PEIXOTO et al., 2013; SOUZA, 2014) e não há até o momento, na literatura, trabalhos sobre isolamento, determinação estrutural de compostos químicos, assim como estudos de atividades biológicas.

### 1.1 Justificativa

Várias espécies da família Acanthaceae são amplamente utilizadas na medicina popular para o tratamento de doenças respiratórias e gastrointestinais. Possuem ainda efeitos no sistema nervoso central como alucinógenos, soníferos, sedativos, depressores e são utilizadas para o tratamento de epilepsia, cefaléia, febre, diabetes, entre outros (CORRÊA et al., 2012). Sendo assim, o conhecimento etnofarmacológico desta família exige documentação urgente visto que algumas de suas espécies estão perto da extinção de acordo com o Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2008) (**Quadro 1**).

**Quadro 1** - Lista Oficial das Espécies da Família Acanthaceae pertencente à Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção.

Espécie	Unidades da Federação	Bioma
<i>Ruellia chamaedrys</i> (Nees) Angely	SP	Mata Atlântica
<i>Staurogyne brachiata</i> (Hiern) Leonard	RJ	Mata Atlântica
<i>Staurogyne veronicifolia</i> (Nees) Kuntze	ES	Mata Atlântica

<i>Staurogyne warmingiana</i> (Hiern) Leonard	MG	Cerrado
<i>Stenandrium stenophyllum</i> Kameyama	MG	Cerrado

Fonte: BRASIL, 2018.

Entre as 36 espécies de *Justicia* estudadas, 15 espécies foram encontradas nas Américas, 13 espécies na Ásia, e 8 espécies na África. Entre elas, 31 espécies possuem informações etnofarmacológicas/farmacológicas, 23 espécies foram quimicamente investigadas e apenas 18 espécies foram química e biologicamente estudadas, principalmente na última década. As espécies mais estudadas são *Justicia pectoralis* Jacq., *Justicia procumbens* L., *Justicia gendarussa* Burm. f., e *Justicia anselliana* (News) T. Anderson. Consequentemente, o potencial fitoquímico e biológico de outras espécies de *Justicia* precisam ser explorados (CORRÊA et al., 2012).

Em relação aos estudos anatômicos, os principais trabalhos referentes à família Acanthaceae são dos autores Paliwal (1966) para 14 gêneros; Pant & Mehra (1963) para o gênero *Asteracantha*; Ahmad (1964) para o gênero *Thunbergia*; Inamdar (1970) apresentou estudos da ontogenia dos estômatos em 31 espécies de Acanthaceae; Ahmad (1976), estudos da epiderme para os gêneros *Dyschoriste* e *Hygrophila*; Inamdar et al. (1990) estudos da estrutura dos cristólitos nas Acanthaceae; Tavares (1993) para a espécie *Justicia cydoniifolia* (Nees) Lindau coletada no Rio de Janeiro; Larcher & Boeger (2006) estudo de anatomia foliar da espécie *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze, coletada no município de Curitiba, PR.

Estudos citogenéticos têm evidenciado uma variação no número de cromossomos nos diferentes gêneros ( $n=7$  a  $n=21$ ), inclusive em *Justicia* L. (GRANT, 1955; DANIEL; CHUANG, 1998; McDADE et al., 2000).

Em relação a alguns dos estudos de biologia reprodutiva das Acanthaceae brasileiras evidenciam-se estudos realizados por Machado (1990) e Machado & Sazima (1995) no nordeste brasileiro e na região sudeste por Buzato et al. (2000); Pereira (1998) e Braz et al. 2000).

Estudos moleculares para alguns gêneros pertencentes à tribo *Justiceae* têm sido realizados com o objetivo de confirmação da monofilia desta família com a utilização de análises de parcimônia de sequências rbcL (SCOTLAND, 1995; McDADE et al. 2000; WASSHAUSEN, 2004). Entretanto, apesar de bem representada na flora do Brasil, a identificação das espécies brasileiras de Acanthaceae é bastante difícil, o que

pode justificar em parte a falta de estudos morfoanatômicos, fitoquímicos e quimiotaxonômicos das diferentes espécies dos biomas brasileiros, inclusive do Cerrado (LEMES et al., 2016).

A falta de padronização farmacobotânica, constitui um obstáculo sob o aspecto de identificação de indivíduos sob a mesma nomenclatura popular. Sendo necessário a realização de um estudo detalhado morfoanatômico, histoquímico, bem como, ensaios de pureza que contribuirão para a determinação de parâmetros de identificação de futuras amostras das plantas (OLIVEIRA et al., 2016). Combinado a estes estudos, a análise fitoquímica permitirá a elucidação do perfil de classes metabólicas de diferentes espécies, dentre as quais, espécies do gênero *Justicia* Linnaes da família Acanthaceae Juss. Assim, partindo dos poucos estudos realizados com algumas espécies de *Justicia* L., bem como a falta de informações sobre as propriedades botânicas, químicas, farmacológicas e toxicológicas da espécie vegetal *J. thunbergioides*, o presente estudo se torna relevante.

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivo geral:

Propôr parâmetros para o controle de qualidade, a partir de análises por imagem hiperespectral de *J. thunbergioides* (Lindau) Leonard e *J. pectoralis* Jacq., assim como, o estudo fitoquímico e atividade antioxidante dos extratos brutos das folhas de *J. thunbergioides*.

### 1.2.2 Objetivos específicos:

- Utilizar a imagem hiperespectral em combinação com análise de dados multivariadas para distinguir os materiais vegetais de *J. thunbergioides* e *J. pectoralis* em nível taxonômico;
- Efetuar a triagem fitoquímica do material vegetal das folhas de *J. thunbergioides* e *J. pectoralis*;
- Determinar a atividade antioxidante total dos extratos brutos das folhas de *J. thunbergioides* pela captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazina);

- Purificar, isolar e identificar os metabólitos secundários presentes nos extratos brutos das folhas de *J. thunbergioides*, utilizando técnicas de análises espectroscópicas e espectrométricas (UV, IV, EM, RMN 1D, 2D).

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 Bioma Cerrado e plantas medicinais**

Existem na Terra aproximadamente 350.000 a 550.000 espécies de plantas, mas grande parte dessas sem estudos químicos e farmacológicos que permitam a elaboração de monografias completas e modernas. Apesar do aumento de estudos nessa área, os dados disponíveis mostram que, em todo o mundo, apenas 17% das plantas foram estudadas de alguma maneira quanto ao seu emprego medicinal e, na maioria dos casos, sem grande aprofundamento nos aspectos fitoquímicos e farmacológicos. Esses dados demonstram o enorme potencial das plantas para a descoberta de novos fitoterápicos e fitomedicamentos (FOGLIO, 2006).

O Brasil apresenta uma das floras mais ricas do mundo, com uma estimativa de aproximadamente 55.000 espécies, incluindo espécies catalogadas e as desconhecidas ou não registradas. Representando aproximadamente 22% da flora mundial, distribuída em seis biomas continentais brasileiros: Amazônia, Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Pantanal e Pampa (BRASIL, 2018). Na opinião de alguns autores, pelo menos a metade pode ter alguma propriedade terapêutica útil à população, porém nem 1% dessas espécies com potencial terapêutico foi motivo de estudos adequados (GIULIETTI et al., 2005). Sendo, portanto, um celeiro para pesquisa de substâncias novas, de interesse biológico ou não.

Muitas espécies são usadas empiricamente, sem respaldo científico quanto à eficácia e segurança, o que demonstra que em um país como o Brasil, com enorme biodiversidade, existe uma lacuna entre a oferta de plantas e as poucas pesquisas. Desta forma, considera-se este um fator de incentivo ao estudo com plantas, visando sua utilização como fonte de recursos terapêuticos, pois o reino vegetal representa um vasto celeiro de moléculas a serem descobertas (FOGLIO et al., 2006).

Com relação à obtenção de substâncias orgânicas naturais a partir da biodiversidade, o Cerrado é destacado como promissora fonte de plantas possuidoras de substâncias bioativas, sendo o segundo maior bioma do Brasil, sua área original supera dois milhões de km<sup>2</sup> e, o estado de Goiás, detém grande parte do Constitui 23% do território nacional. Estima-se que ocorram no Cerrado cerca de 320.000 espécies, representando, no Brasil, cerca de 30% mesmo (COUTINHO, 2008; BRASIL, 2018).

Segundo Ratter et al. (2003), 44% da flora do Cerrado é endêmica o que o caracteriza como sendo a mais diversificada savana tropical do mundo e amplamente

utilizada para fins econômicos, destacando-se as espécies de interesse medicinal, alimentício, ornamental, forrageiro, apícola, e as produtoras de madeira, cortiça, fibras, óleos, taninos dentre outros.

Apesar de toda a sua biodiversidade, estima-se que cerca de 50% do bioma já foi convertido em áreas de pastagem e agricultura nos últimos anos, 70% de sua cobertura natural já tenha se perdido, sendo que somente 4,1% encontram-se em unidades de conservação, sendo 2,2% destes de proteção integral. As maiores ameaças à biodiversidade culminam na degradação do solo e dos ecossistemas nativos e na dispersão de espécies exóticas. Além disso, as queimadas utilizadas para abrir novas áreas agrícolas causam perda de nutrientes, compactação e erosão dos solos, caracterizando num problema grave que atinge grandes áreas, especialmente nas regiões montanhosas do leste goiano e oeste mineiro naturais (PORTAL SEIA, 2008; DURIGAN et al., 2011).

O bioma cerrado, ao lado da Mata Atlântica é considerado um dos “*hotspots*” mundiais para a conservação devido a sua alta diversidade biológica e rapidez com que está sendo destruído. Os “*hotspots*” são habitats naturais que correspondem a apenas 1,4% da superfície do planeta, onde se concentra cerca de 60% do patrimônio biológico do mundo (MYERS et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2008; PORTAL SEIA, 2008).

Estudo de Napolitano et al. (2016) indica que 151 espécies e morfoespécies (identificação ao nível de gênero ou de Reino) encontradas no domínio geográfico do Cerrado são utilizadas em biotecnologia, ou seja, em tecnologias que utilizam organismos vivos, ou produtos elaborados a partir deles, para criar ou modificar produtos para fins específicos. As espécies que são utilizadas em biotecnologia se concentram principalmente nos grupos de fungos, bactérias, invertebrados (aranhas e quilópodes), anfíbios, répteis (serpentes) e plantas vasculares, não sendo encontradas informações para aves, mamíferos e peixes.

Nesse sentido, com relativa facilidade de coleta, condição ambiental favorável para desenvolvimento sustentável, biodiversidade estrutural de substâncias orgânicas naturais e a possibilidade de descoberta de princípios ativos, é possível destacar as plantas brasileiras como a principal fonte renovável para o surgimento e desenvolvimento de novos fármacos, além de outros produtos que podem ser utilizados para finalidades sociais adicionais (BRAZ FILHO, 2010).

Plantas medicinais são espécies vegetais que produzem algum princípio ativo utilizado para o tratamento de doenças, fornecendo material para tratamentos

fitoterápicos através de folhas, caules, flores, frutos, cascas, raízes entre outros (VEIGA et al., 2005; KANZLER, 2013).

Plantas com fins medicinais requerem investigações científicas efetivas, pois embora uma planta possa conter centenas de metabólitos secundários, apenas os compostos presentes em maior concentração são geralmente isolados e estudados. Por isto a necessidade de um trabalho interdisciplinar amplo entre químicos, botânicos, farmacologistas, farmacognostas, biólogos, entre outros para a análise de extratos, onde se obtém extratos semi-puros, frações e finalmente, compostos isolados (VEIGA et al., 2005; FILHO e YUNES, 1998).

Após uma série de transformações tecnológicas (química e física) a planta medicinal é considerada uma droga vegetal, esta contém certo número de substâncias que, na maior parte dos casos, agem sobre o organismo humano. É a fitoquímica que se encarrega de estudar estas substâncias ativas, a sua estrutura, a sua distribuição na planta, as suas modificações e os processos de transformação que se produzem no decurso da vida da planta, durante a preparação do remédio vegetal e no período de armazenagem (KANZLER, 2013; BARRACA, 1999).

As substâncias ativas das plantas medicinais são de dois tipos: os produtos do metabolismo primário (carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos) que são substâncias indispensáveis à vida da planta e resultantes da absorção do carbono, nitrogênio e da energia, que controlam a formação, manutenção e reprodução das plantas (BARRACA, 1999; LOPEZ, 2006). O segundo tipo de substâncias é composto pelos produtos do metabolismo secundário, ou seja, óleos essenciais, resinas, alcaloides, terpenoides, flavonoides, cardiotônicos, cumarinas, carotenoides, antraquinonas, saponinas, taninos. Estes produtos embora não essenciais para o organismo da planta, garantem vantagens para sua sobrevivência e para a perpetuação de sua espécie, em seu ecossistema, além disso, os seus efeitos terapêuticos são notáveis (SIMÕES, 2017).

Metabólitos secundários são divididos em três grandes grupos: compostos fenólicos, terpenos e alcaloides (compostos nitrogenados). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico (formado por dois metabólitos da glicose, o fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fostato) ou ácido mevalônico. Os terpenos são formados a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto). Por fim, os alcaloides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico e também de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina) (LOPEZ, 2006; SIMÕES, 2017).

A fitoquímica estuda os produtos provenientes do metabolismo secundário, compreendendo as etapas de identificação, isolamento, purificação e elucidação estrutural destes metabólitos. Este estudo, quando associado a ensaios específicos, permite identificar extratos e frações bioativas e caracterizar as substâncias presentes em uma determinada espécie (BRAZ FILHO, 2010).

As plantas e os extrativos vegetais foram e continuam sendo de grande relevância, tendo em vista a utilização das substâncias ativas como protótipos para o desenvolvimento de fármacos e como fonte de matérias-primas farmacêuticas ou, ainda, de medicamentos elaborados exclusivamente à base de extratos vegetais como os medicamentos fitoterápicos (apud PEIXOTO et al., 2013).

Com o arsenal elevado de metabólitos secundários ainda não totalmente explorados na biodiversidade do Cerrado, existe um apelo social e científico para identificação de possíveis novos fármacos a partir de plantas do Cerrado goiano. Dentre as famílias ainda inexploradas do bioma, Acanthaceae merece atenção por apresentar poucos estudos taxonômicos e aplicados e, estes serem escassos para a Região Centro-Oeste (LEMES et al., 2016).

## **2.2 Família Acanthaceae: distribuição geográfica, taxonomia e dados morfológicos**

Acanthaceae é uma família de expressividade e possui ampla distribuição, pertence à superordem Lamiales, ordem Scrophulariales (sensu Dahlgren), e compreende aproximadamente 250 gêneros e aproximadamente 4000 espécies ocorrendo pelas regiões tropicais, subtropicais e algumas áreas temperadas onde possuem pouca representatividade. São plantas herbáceas ou subarbustos, ou arbustivas com folhas simples, de disposição oposta, muitas vezes cruzada. Flores em geral grandes, reunidas em vistosas inflorescências, frequentemente com brácteas coloridas (JOLY, 1977; WASSHAUSEN & WOOD, 2004; SARTIN, 2015; PROFICE et al., 2015).

No Brasil compreende cerca de 45 gêneros, 706 espécies e 9 variedades. As quais estão distribuídas nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste, sendo os gêneros mais proeminentes *Justicia* Linnaeus, *Ruellia* Linnaeus e *Aphelandra* Brown. A maioria dos representantes dessa família ocorre nos Biomas Mata Atlântica e Cerrado (PROFICE et al., 2015). No Distrito Federal ocorrem 52 espécies distribuídas em 10 gêneros. A flora das Acanthaceae para o estado de Goiás ainda não foi finalizada. Entretanto, em

levantamentos baseados em material de herbário, foi apontado a ocorrência de 48 espécies em 8 gêneros (VILLAR, 2009; SARTIN, 2015).

Em relação à taxonomia, a família Acanthaceae está dividida em nove tribos, Thunbergieae, Nelsonieae, Hygrophileae, Ruellieae, Barlerieae, Aphelandreae, Gendarusseae, Eranthemeae e Dicliptereae (NEES, 1847a). Cronquist (1988), em seu sistema de classificação das Angiospermas, posiciona as Acanthaceae como pertencentes à subclasse Asteridae, com características bem derivadas quando comparadas a outras subclasses de dicotiledôneas caracterizadas pelo autor. Nesta subclasse localiza-se na ordem Scrophulariales composta pelas famílias Buddlejaceae, Oleaceae, Scrophulariaceae, Myoporaceae, Gesneriaceae, Acanthaceae, Pedaliaceae, Martyniaceae e Lentibulariaceae. De acordo com o Angiosperm Phylogeny Group II (APG II), sistema atual para a classificação das angiospermas, segundo critérios filogenéticos, a família Acanthaceae está classificada como Eurosídeas I na ordem Lamiales (HASTON et al., 2007).

A família Acanthaceae foi tradicionalmente dividida por Wasshausen (2004), em quatro subfamílias: 1) Mendoncioideae, com dois gêneros e 88 espécies no oeste da África, Madagascar, América do Sul, sudoeste do México e América Central; 2) Thunbergioideae, com um gênero e 90 espécies distribuídas na África, Madagascar, Ásia Tropical, Austrália e no sudoeste dos Estados Unidos à América do Sul; 3) Nelsonioideae, com seis gêneros (três monofiléticos) e 62 espécies em regiões tropicais e subtropicais do Hemisfério Oriental e Ocidental; 4) Anthoideae, uma grande subfamília, com 234 gêneros em regiões tropicais e subtropicais, ambos para Hemisfério Leste e Oeste e, também encontrada nos Estados Unidos, Austrália e Região do Mediterrâneo (CORTÊS et al., 2013; MARCHIORETTO et al., 2015).

Atualmente, para o estudo das Acanthaceae o sistema taxonômico na maioria dos trabalhos é o proposto por Scotland & Vollensen (2000), no qual prevalece a definição das Acanthaceae *sensu lato*. Morfologicamente, a família é descrita como ervas de base lenhosa, eretas ou prostradas, subarbustos, arbustos ou raramente árvores de pequeno porte (Trichanthera Jack) (NEES, 1847b; BARROSO et al., 1986; KAMEYAMA, 1997; WASSHAUSEN, 2004; BRAZ, 2005; SOUZA & LORENZI, 2008; VILLAR 2009). Nesta família encontram-se muitas espécies de alto valor ornamental, quer pelas brácteas, quer pelas flores, quer, em certos casos, pelas folhas variegadas (BARROSO, 1986; SARTIN et al., 2014). Dentre as espécies comumente cultivadas, encontram-se a tunbérquia (*Thunbergia grandiflora* Roxb), a sanquésia

(*Sanchezia nobilis* Hook), o camarão-amarelo (*Pachystachys lutea* Nees) e o camarão-vermelho (*Justicia brandegeana* Wass. & Smith). Entre os gêneros nativos, destacam-se *Justicia* e *Ruellia* (SOUZA & LORENZI, 2008).

Em relação à conservação, algumas espécies são consideradas ameaçadas (PROFICE et al. 2013): *Justicia brasiliiana* Roth (1821), *Justicia bullata* (Nees 1847) Profice, *Justicia catharinensis* Lindau, *Justicia clauseniana* (Nees 1847: 111) Profice (1996: 2), *Justicia congrua* (Nees ex Mart.) Lindau *Justicia genuflexa* Nees & Martius (1823: 57), *Justicia cydoniifolia* (Nees) Lindau, *Justicia genuflexa* Nees & Mart., *Justicia kleinii* Wassh. & L.B.Sm., *Justicia laevilinguis* (Nees) Lindau, *Justicia lythroides* (Nees) V.A.W.Graham *J. paranaenses* (Rizzini 1952: 162) Wasshausen e Smith (1969: 122), *J. polita* (Nees 1847: 109) Profice (1996: 30), *Justicia pseudoamazonica* Lindau *J. ramulosa* (Morong 1893: 194) Ezcurra (1988: 350), *Justicia scheidweileri* V.A.W.Graham. *Justicia symphyantha* (Nees ex Mart.) Lindau *J. tijuensis* Graham (1988: 601), *Justicia wasshauseniana* Profice.

### **2.2.1 *Justicia*: Distribuição geográfica, atividade biológica e metabólitos secundários isolados**

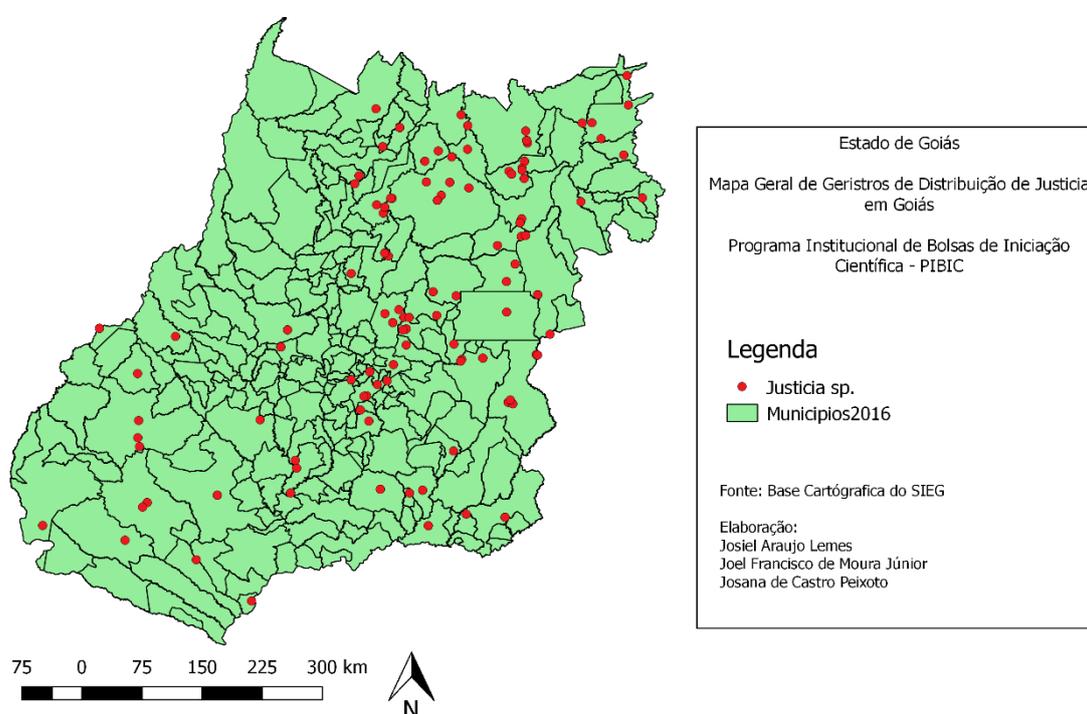
*Justicia* apresenta cerca de 900 espécies e distribuição pantropical, sendo considerado um dos gêneros mais amplos da família Acanthaceae (DANIEL; LOTT 2009; SARTIN, 2015; PROFICE et al., 2015). Ainda assim, o número total de espécies de *Justicia* na flora brasileira é desconhecido. As espécies desse gênero são descritas como ervas, subarbustos, arbustos, lianas ou, mais raramente, árvores. As plantas são hermafroditas, apresentam normalmente folhas opostas, simples e sem estípulas. As flores são isoladas ou em inflorescências. As brácteas e bractéolas são muitas vezes coloridas e vistosas. O cálice é persistente no fruto (PROFICE et al., 2015; SARTIN, 2015).

Em Goiás, os registros de ocorrência para espécies da família Acanthaceae ainda são escassos, comprovando a importância deste estudo, uma vez que várias espécies possuem potencialidade farmacológica e relevância do potencial medicinal, visto que em pesquisas recentes, a presença de metabólitos secundários, como alcalóides, ligninas, flavonoides, terpenoides e cumarinas foi evidenciada (RODRIGUES, 2017; LIMA, 2017; VARGEM, 2015; PEIXOTO, 2013).

Em trabalho de Lemes et al. (2016) foi registrado a ocorrência de espécies do gênero *Justicia* ocorrentes no Cerrado goiano a partir de pesquisas na base de dados de

herbários do “Species Link”, de espécies citadas em trabalhos (**Figura 1**). O trabalho resultou em 29 espécies citados em 61 municípios estado de Goiás, entre elas estão as espécies: *J. allocota*, *J. angustifolia*, *J. asclepiadea*, *J. boliviana*, *J. burchellii*, *J. chrysotrichoma*, *J. cydoniifolia*, *J. elegans*, *J. genistiformis*, *J. glaziovii*, *J. glischrantha*, *J. goianiensis*, *J. guttata*, *J. irwinii*, *J. laevilinguis*, *J. lanstyakii*, *J. lavandulaefolia*, *J. lythroides*, *J. matogrossensis*, *J. nodicaulis*, *J. oncodes*, *J. pectoralis*, *J. polygaloides*, *J. pycnophylla*, *J. riparia*, *J. sarothroides*, *J. sericographis*, *J. thunbergioides*, *J. tocantina*.

**Figura 1** - Mapa geral dos registros de *Justicia* em Goiás



**Fonte:** LEMES et al., 2016.

Muitas espécies de *Justicia* são usadas na medicina popular para o tratamento de processos inflamatórios, de doenças respiratórias e gastrointestinais. As plantas também são utilizadas pelos seus efeitos sobre o sistema nervoso central como alucinogênicos, agentes soníferos, sedativos, antidepressivos, para tratamentos da epilepsia e outras perturbações mentais. Outras espécies são popularmente utilizadas no tratamento de dor de cabeça e febre, tuberculose, reumatismo, giardícea, câncer, diabetes e HIV (CORRÊA et al., 2012; LOPES et al., 2014).

Algumas espécies de *Justicia* apresentam atividade antioxidante. Trueba et al. (2001) mostraram a atividade antioxidante *in vitro* de extrato seco de *J. pectoralis*

(0,0138-2,97 mg / ml) na lipoperoxidação em homogenato de cérebros de ratos. Em trabalho de Fernandes (2016), os extratos metanólicos de caulo e folhas de *J. wasshausseniana* e os extratos metanólicos e frações do caule e folhas de *T. acutilfolia* foram testados contra os radicais livres de DPPH sendo que o extrato do caule de *J. wasshausseniana* apresentou melhor atividade do que o extrato de folhas, já a fração hexânica de folhas de *T. acutilfolia* não apresentou uma boa atividade antioxidante, observando-se uma maior atividade para a fração de acetato de etila de caule e folhas.

A atividade antioxidante está relacionada à presença de grupos hidroxila em metabólitos secundários, tais como, taninos, flavonoides e alguns compostos voláteis. Estas substâncias agem interagindo com os radicais livres inibindo os processos oxidativos e diminuindo a atividade das enzimas oxidases ou ainda são capazes de atuar na complexação com íons metálicos que catalisam reações de oxidação (SILVA et al., 2010).

Recentemente, há um aumento no interesse em antioxidantes naturalmente encontrados em vegetais, pois estudos demonstram seu poder em atuar como agentes redutores, sequestradores de radicais livres, inibidores de enzimas e como quelantes de metais, assim como, a oportunidade de substituir os antioxidantes sintéticos, como butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT). Estes possuem a desvantagem de se acumularem no corpo resultando em danos ao fígado e carcinogênese (LEONG et al., 2008; SCHERER et al., 2009).

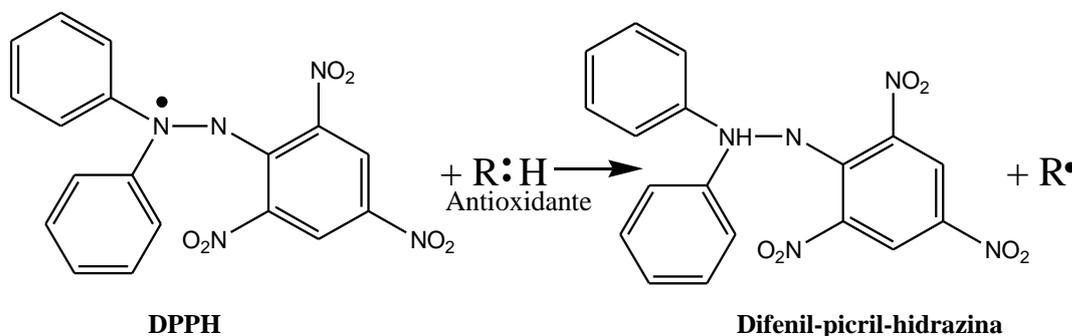
Os radicais livres induzem a oxidação e danos às biomoléculas. Esse dano causa aterosclerose, envelhecimento, câncer e várias outras doenças. Além disso, os radicais livres são conhecidos por participarem na peroxidação lipídica em alimentos, que é responsável por odores e sabores rançosos. Atualmente, antioxidantes sintéticos como BHA, BHT e *terc*-butil-hidroquinona (TBHQ) são amplamente utilizados na indústria alimentar como potenciais inibidores da peroxidação lipídica (DELMONDES et al., 2013).

O sequestro de radicais livres, utilizando 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) é um dos principais métodos usados para avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de extrato de plantas. Baseia-se na capacidade dos compostos presentes no extrato em remover os radicais livres do meio através de rápida doação de um átomo de hidrogênio para estes radicais livres (DPPH) (ALVES, 2010).

A molécula de DPPH é caracterizada como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula. Esta deslocalização

confere a esta molécula uma coloração violeta, caracterizada por uma banda de absorção em etanol em cerca de 520 nm. Este ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina (**Figura 2**). Quando uma determinada substância que age como doadora de átomos de hidrogênio é adicionada a uma solução de DPPH, este é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, tendo assim uma mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorvância (ALVES, 2010).

**Figura 2** - Estrutura de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) antes (1) e depois (2) reação com antioxidante.



Fonte: ALVES, 2010.

A atividade antioxidante de espécies do gênero *Justicia* é muito estudada, Krishna et al. (2009) demonstrou que o extrato metanólico das folhas de *Justicia gendarussa* apresentou uma forte atividade antioxidante utilizando o método de sequestro de radicais livres de DPPH, sequestro de peróxido de hidrogênio e redução do íon férrico na presença e ausência de EDTA (ácido etilendiamino tetra-acético). Estudo de Verdam et al. (2015) comprova que a espécie *Justicia acuminatissima* possui um tanino condensado que, ao reduzir a quantidade do radical livre óxido nítrico em ratos, mostrou ser um bom antioxidante.

Mariutti & Bragagnolo (2007), mostraram a importância dos óleos essenciais extraídos das espécies da ordem Lamiales como antioxidantes naturais. Arteaga et al. (2010) relaciona a presença de *orto*-metoxilato glicosideoflavonas e compostos polifenólicos à capacidade antioxidante do extrato aquoso das partes aéreas de *J. pectoralis* utilizando o método de sequestro de radicais livres de DPPH.

Além da atividade antioxidante, são relatadas na literatura vários outros estudos de atividades biológicas relevantes (atividade antibacteriana, anti-inflamatória, entre

outras) em espécies vegetais de *Justicia* conforme dados compilados no **Quadro 2**.

**Quadro 2** - Atividades biológicas dos extratos brutos de espécies do gênero *Justicia*.

<b>Espécie</b>	<b>Parte da planta</b>	<b>Extrato</b>	<b>Atividade biológica</b>	<b>Referência</b>
<i>J. acuminatissima</i> (Miq.) Bremek.	Partes aéreas	Hidroalcolóli co	Atividade antibacteriana, anti- Inflamatória e antioxidante	CORRÊA et al., 2013.
	Folhas	H <sub>2</sub> O	Atividade anti- inflamatória e antiedematogênica	VERDAM et al., 2015.
<i>J. adhatoda</i> Mart. ex (Nees)	Folhas	H <sub>2</sub> O	Hepatoprotector	BHATTACHARYYA et al., 2005.
<i>J. albobracteata</i> Leonard.	Folhas	EtOH	Epilepsia e Ansiedade	AWAD et al., 2009.
<i>J. anselliana</i> T. Anderson (Nees)	Folhas e raízes	EtOH	Alelopatia	AHANCHEDE et al., 2004.
<i>J. aurea</i> Lindau.	Folhas	EtOH	Epilepsia e Ansiedade	AWAD et al., 2009.
<i>J. cataractea</i>	Planta inteira	EtOH	Anti-hipertensivo	JIMÉNEZ et al., 2001.
<i>J. ciliata</i> Jaqc.	Folhas	MeOH	Antitumoral (inibição do carcinoma cervical humano)	DAY et al., 1999.
<i>J. comata</i> (L.) Lam.	Planta inteira	H <sub>2</sub> O	Déficit cognitivo	MCKENNA et al., 2011.
<i>J. extensa</i> T. Anderson	Folhas	EtOH	Inseticida e Antiviral	WANG & RIPKA, 1983.
<i>J. gendarussa</i> Burm. F.	Folhas	EtOH	Antiartrítico	PAVAL et al., 2009.
	Partes aéreas	H <sub>2</sub> O	Inibição da transcriptase reversa in vitro do HIV tipo 1	SRIDHAR et al., 2006.
	Folhas	MeOH	Antioxidante	KRISHNA et al., 2009.
	Folhas	MeOH	Imunossupressor	AROKIYARAJ, 2007.
<i>J. patentiflora</i> Hemsl.	Folhas	EtOAc	Antitumoral	SUSPLUGAS et al., 2005.

**Quadro 2 - Atividades biológicas dos extratos brutos de espécies do gênero *Justicia*.**

Continuação...

<i>J. pectoralis</i> Jact.	Folhas	EtOAc	Antibacteriano e larvicida	CHARIANDY et al. 1999.
	Partes aéreas	MeOH	Estrogênico, progesterônico, e anti-inflamatório	LOCKLEARA et al., 2010.
	Folhas	EtOH	Epilepsia e Ansiedade	AWAD et al., 2009.
	Partes aéreas	H <sub>2</sub> O	Antioxidante	ARTEAGA et al., 2010.
<i>J. procumbens</i> T. Anderson ex (Nees)	Planta inteira	EtOH	Antitumoral (inibição do crescimento das células tumorais de Coelhos)	FUKAMIYA & LEE, 1986; CHEN et al., 1996.
<i>J. prostrata</i>	Folhas	H <sub>2</sub> O e EtOH	Anti-inflamatória, antiulcerogênica e antidepressivo	SANMUGAPRIYA et al., 2005.
<i>J. reptans</i> Sw.	Folhas	EtOH	Inibição da replicação do HIV-1	BEDOYA et al., 2008.
<i>J. rhodoptera</i> Baker.	Folhas	EtOH	Antitumoral (inibição de câncer de ovário humano)	WILLIAMS et al., 2003.
<i>J. schimperiana</i> T. Anderson.	Folhas	Hidroalcolico	Hepatoprotetor	UMER et al., 2010
<i>J. spicigera</i> Schltdl	Folhas e partes aéreas	H <sub>2</sub> O e EtOH	Antitumoral	CÁCERES-CORTÉS et al., 2001; VEGA-AVILA et al., 2009; ALONSO-CASTRO et al., 2011.
<i>J. spicigera</i> Schltdl	Planta inteira	EtOH	Atividade antibacteriana e antifúngica	VEGA-AVILA et al., 2012
<i>J. valida</i> Ridl.	Partes aéreas	H <sub>2</sub> O	Inibição da transcriptase reversa in vitro do HIV tipo 1	WORADULAYAPINIJ et al., 2005

Fonte: Própria autora, 2018.

Poucas espécies do gênero *Justicia* foram estudadas. Algumas espécies têm somente informações farmacológicas e poucas espécies foram quimicamente e biologicamente estudadas. As espécies mais estudadas são *Justicia pectoralis* Jacq.

*Justicia procumbens* L., *Justicia gendarussa* Burm., e *Justicia anselliana* (Nees) T. Anderson (FERNANDES, 2016)

Uma grande diversidade de classes químicas é encontrada nas espécies de *Justicia*, principalmente alcaloides, cumarinas, lignanas, flavonoides e terpenoides (iridoides, diterpenos e triterpenoides). Alguns dos metabólitos secundários já isolados das espécies de *Justicia*, assim como sua atividade biológica destes, estão representados no **Quadro 3** (CORRÊA et al., 2012; CORRÊA et al., 2013).

**Quadro 3** - Atividade biológica de metabólitos secundários isolados de espécies de *Justicia*.

Espécie	Metabólito secundário isolado	Extrato/Fração	Atividade Biológica	Referência
<i>J. adhatoda</i>	Vasicina (1)	EtOH	Broncodilatadora	ISMAIL et al., 1998; LORENZ et al., 1999; JINDAL et al., 1998; RACHANA et al., 2011.
	Vasicinona (2)			
	Vasicinol (3)			
<i>J. betonica</i>	5H,6H-Quinindolin-11-ona (4)	Éter/AcOEt	ND	SUBBARAJU et al., 2004.
	6H-Quinindolina (5) 10H-		ND	
			Quindolina (6)	
	Cilinaftalídeo A (7)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	Antitumoral	SUBBARAJU et al., 2004; CAPRIO et al., 2000.
	Cilinaftalídeo B (8)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	Efeito sobre a agregação plaquetária induzida pela adrenalina	DAY et al., 1999; WENGA et al., 2004.
	Jusbetonina (9)	CHCl <sub>3</sub> /MeOH	Antitumoral	DAY et al., 1999.

**Quadro 3** - Atividade biológica de metabólitos secundários isolados de espécies de *Justicia*.

Continuação...

<i>J. betônica</i>	Justiciosídeo A <b>(10)</b> Justiciosídeo B <b>(11)</b> Justiciosídeo C <b>(12)</b> Justiciosídeo D <b>(13)</b> Justiciosídeo E <b>(14)</b> Justiciosídeo F <b>(15)</b> Justiciosídeo G <b>(16)</b>	MeOH/ H <sub>2</sub> O	ND	KANCHANAP OOM et al., 2004; KANCHANAP OOM et al., 2005.
<i>J. cataractae</i>	3',4'-Di- hidroxiflavonol <b>(17)</b>	EtOH/ H <sub>2</sub> O	Antioxidant e e vasodilatado ra	JIMÉNEZ et al., 2001; WOODMAN et al., 2005; WOODMAN & MALAKUL, 2009; WANG et al., 2004.
<i>J. ciliata</i>	Cilinaftalídeo A <b>(7)</b> Cilinaftalídeo B <b>(8)</b> 4'-Dimetil chinensinaftol metil éter <b>(18)</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / MeOH	Antitumoral e Efeito sobre a agregação plaquetária induzida pela adrenalina	DAY et al., 1999.
	Chinensinaftol metil éter <b>(19)</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Agregação plaquetária	
	Tuberculatina <b>(20)</b>	ND	Antitumoral	DAY et al., 2000; LU et al., 2008.
<i>J. flava</i>	(+)-Isolariciresinol <b>(21)</b>	ND	Anti- inflamatória	RAJAKUMAR & SHIVANNA, 2009; KÜPELI et al., 2003 TSENG et al., 2008; CHANG et al., 2000; MECKES et al., 2004; CANEL et al., 2000.
	Helioxantina <b>(22)</b>		Hepatite B, Antitumoral e replicação viral	
	Podofilotoxina <b>(23)</b>		Quimioterap ia do câncer	

**Quadro 3** - Atividade biológica de metabólitos secundários isolados de espécies de *Justicia*.

Continuação...

<i>J. gendarussa</i>	Apigenina (24)	EtOH	Anti-inflamatória e propriedades antitumorais	WAHI et al., 1974; SAWATZKY et al., 2006; CAI et al., 2011.
	Vitexina (25)		Anti-inflamatória e antinociceptiva	SRIDHAR et al., 2006; GORZALCZANY et al., 2011.
<i>J. glauca</i>	Justiciresinol (26)	AcOEt	Citotóxica	SUBBARAJU et al., 1991.
<i>J. hyssopifolia</i>	Elenosídeo (27)	AcOEt	Sedativa, relaxante muscular, antiviral, inseticida, cardiotônica, analgésica e anti-inflamatória	NAVARRO et al., 2001a e 2001b; ALONSO et al., 1997.
<i>J. patentiflora</i>	Neesiinosídeo A (28)	MeOH	ND	SUBBARAJU et al., 2004.
	4''-O-Acetilpatentiflorina B (29) Justiflorinol (30) Patentiflorina A (31) Patentiflorina B (32)	AcOEt	Citotoxicidad e para carcinomas humanos	SUSPLUGAS et al., 2005.
<i>J. pectoralis</i>	Ácido 3,2 hidroxifenilpropiônico (33) Dihidroxicumarina (34) Umbeliferona (35)	EtOH/H <sub>2</sub> O	Anti-inflamatória, analgésica e broncodilatadora	LEAL et al., 2000; LINO et al., 1997
	<i>N,N</i> -dimetiltryptamina (36)	H <sub>2</sub> O	Alucinógeno	MCKENNA et al., 1984
	1,2-benzopiranona (37)	EtOH	ND	Joseph et al., 1988.
	2''-O-rhamnosylswertisin (38)			

**Quadro 3** - Atividade biológica de metabólitos secundários isolados de espécies de*Justicia*.

Continuação...

<i>J. procumbens</i>	Cilinaftalídeo B <b>(8)</b>	MeOH	Efeito sobre a agregação plaquetária induzida pela adrenalina	DAY et al., 1999; WENGA et al., 2004.
	Chinensinaftol metil éter <b>(19)</b>	EtOH	Agregação plaquetária	CHEN et al., 1996.
	Justicidinósídeo A <b>(39)</b> Justicidinósídeo B <b>(40)</b> Justicidinósídeo C <b>(41)</b>	MeOH	Atividade antiviral	ASANO et al., 1996.
	Neojusticina A <b>(42)</b>	EtOH e MeOH	Inibição antiplaquetária	CHEN et al., 1996; FUKAMIY A & LEE, 1986; WU et al., 2007.
	Taiwanina E <b>(43)</b>	EtOH	Inibição da agregação plaquetária e antitumoral	CHEN et al., 1996; CHANG et al., 2000.
	Patentiflorina B <b>(32)</b>	MeOH	Antitumoral	DAY et al., 2000; LU et al., 2008.
<i>J. purpurea</i>	Clestantina B <b>(44)</b>	MeOH	Antitumoral	KAVITHA et al., 2003; PRADHEEP KUMAR et al., 2000.
	Juspurpurina <b>(45)</b> Justalacina <b>(46)</b>	MeOH	ND	
	Taiwanina E metil éter <b>(47)</b>		Inibição da agregação plaquetária e citotoxicidade contra carcinoma cervical humano	KAVITHA et al., 2003
	Sesamina <b>(48)</b>		Angiogênica	KAVITHA et al., 2003; CHUNG et al., 2010.
<i>J. simplex</i>	Justicisaponina <b>(49)</b>	MeOH	Antiabortiva	GHOSAL et al., 1981; BADAMI et al., 2003.

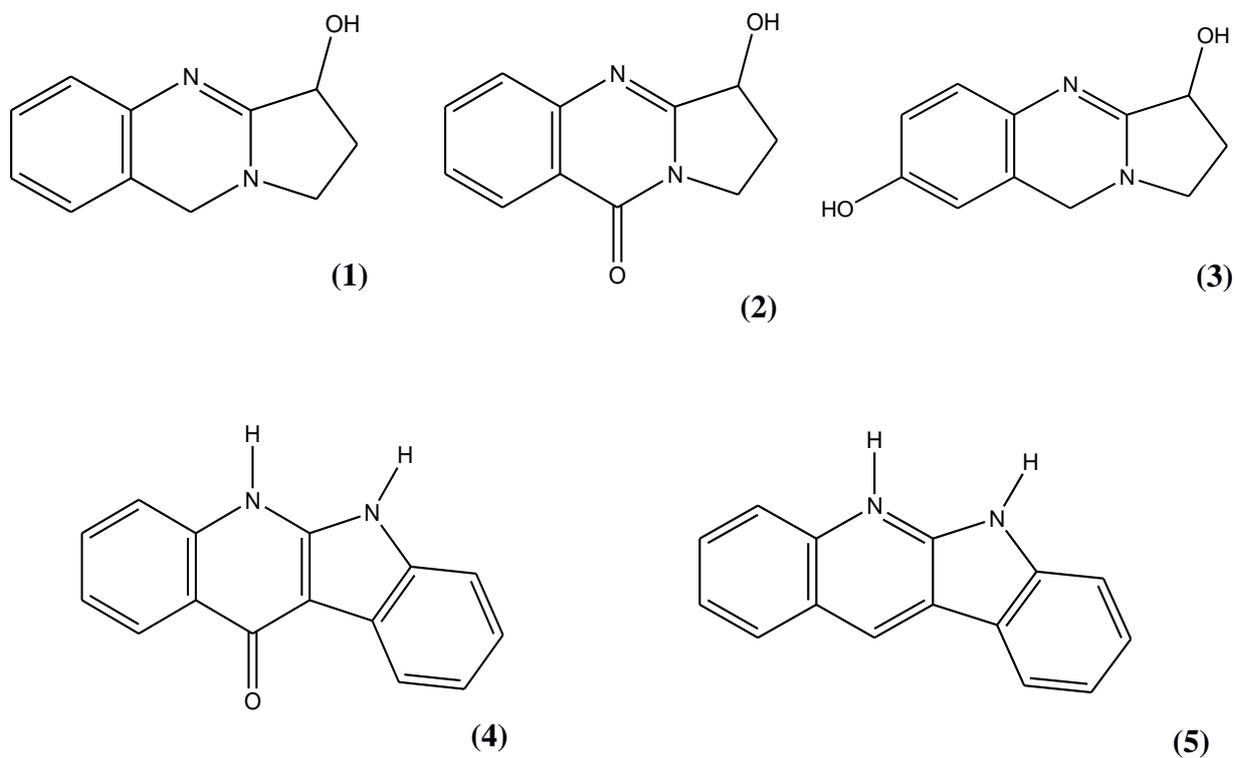
**Quadro 3** - Atividade biológica de metabólitos secundários isolados de espécies de *Justicia*.

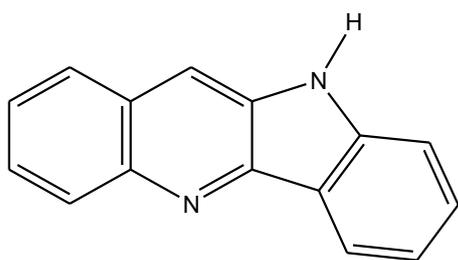
Continuação...

<i>J. spicigera</i>	Alantoína (50)	ND	Anti-inflamatória e úlcera	DOMINGUE Z et al., 1990; NIU et al., 2010.
	Caempferitrina (51)	CHCl <sub>3</sub>	Antimicrobiana, anti-inflamatória e reduz o nível de glicose no sangue	DOMINGUE Z et al., 1990; ABDEL-GHANI et al., 2001; FANG et al., 2005; CAZAROLLI et al., 2006.
	Criptoxantina (52)	EtOH	Antioxidante	DOMINGUE Z et al., 1990; SLAVIN et al., 2009

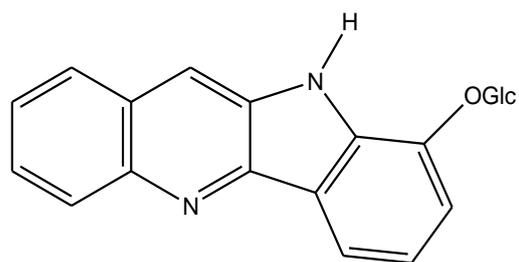
Fonte: Própria autora, 2018.

**Figura 3** - Metabólitos secundários isolados de espécies de *Justicia*.

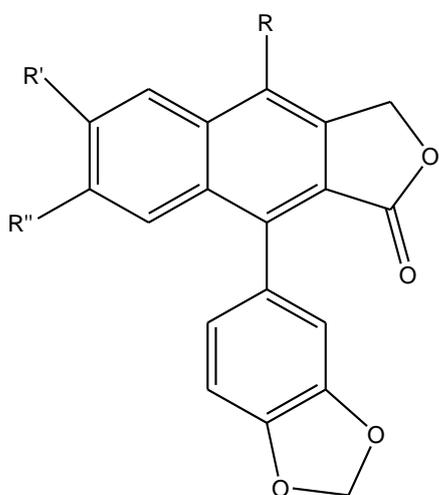




(6)



(9)



(7): R = OGlc; Me; R' = R'' = OMe

(8): R = O-D-apiofuranosyl; Me; R' = R'' = OMe

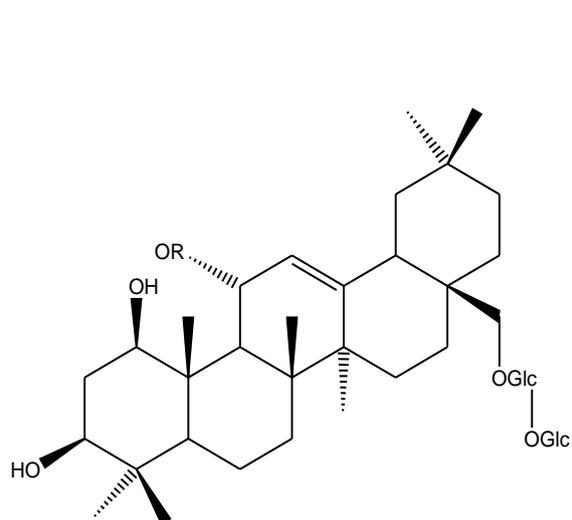
(20): R = OGlc-OGlc; Me; R' = R'' = OMe

(28): R = H; R' = R'' = OMe

(29): R = OH; R' = R'' = OMe

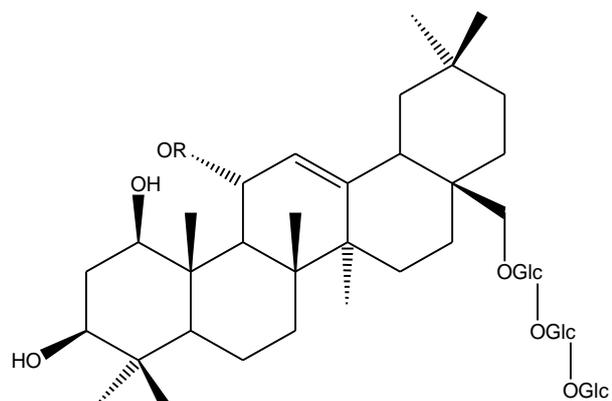
(31): R = R' = R'' = OMe

(32): R = OGlc; R' = R'' = OMe



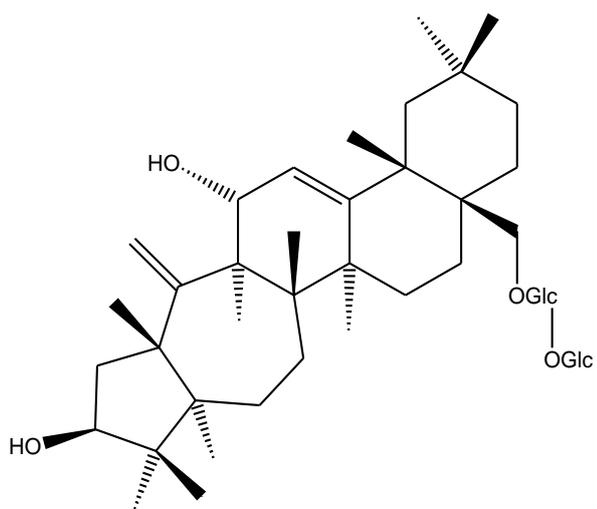
(10): R = H

(11): R = Me

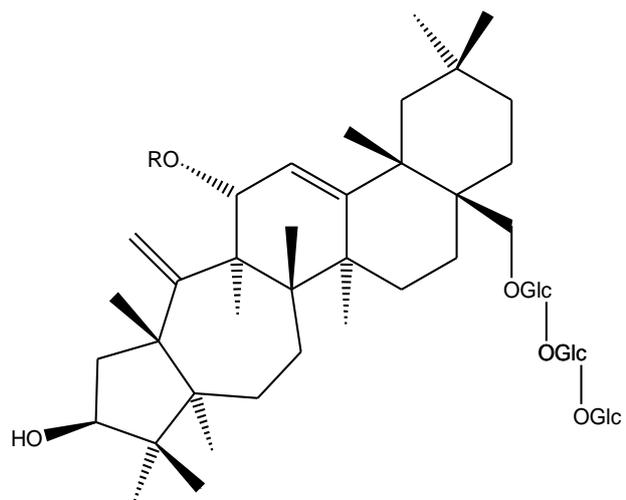


(12): R = H

(13): R = Me

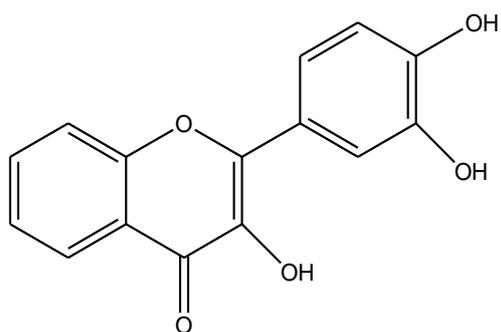


(14)

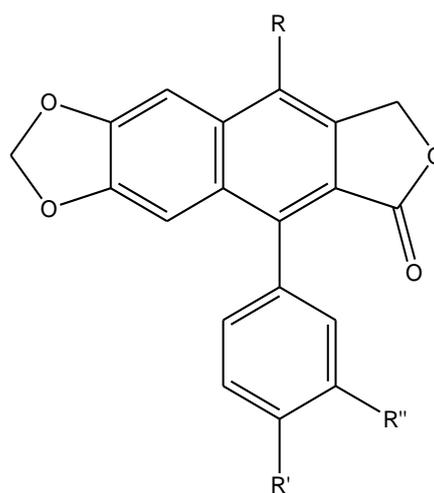


(15): R = H

(16): R = Me



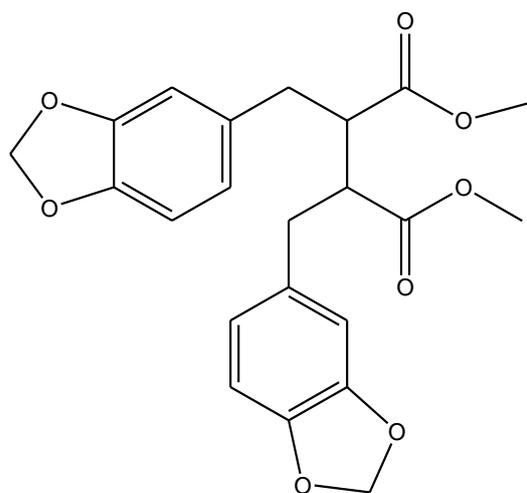
(17)



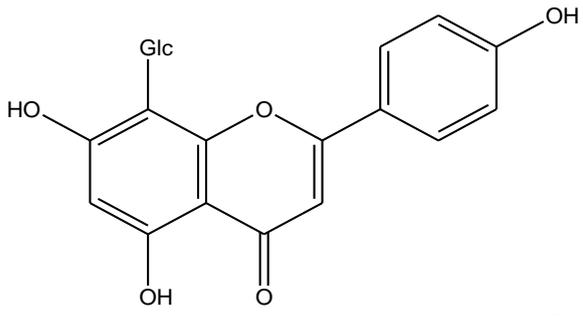
(18): R = OH; R' = R'' = OMe

(19): R = OMe; R' = OH; R'' = OGlc

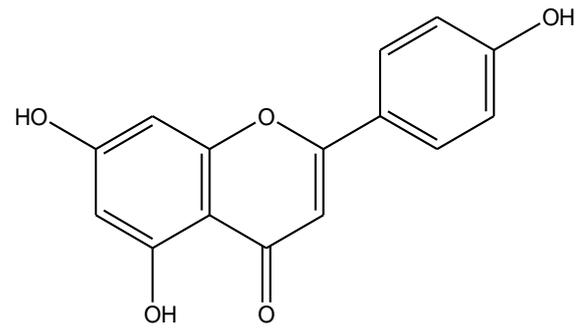
(41): R = R'' = OMe; R' = OH



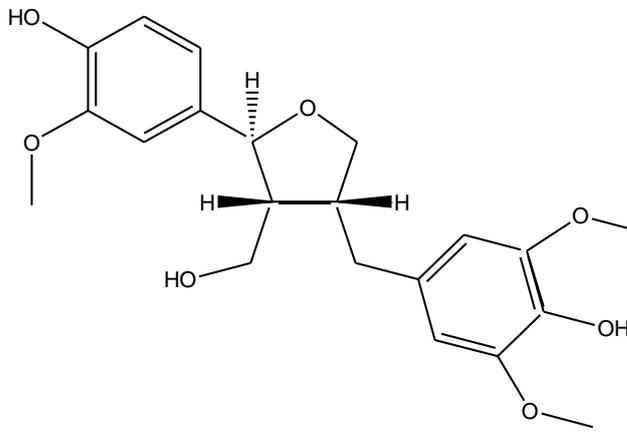
(23)



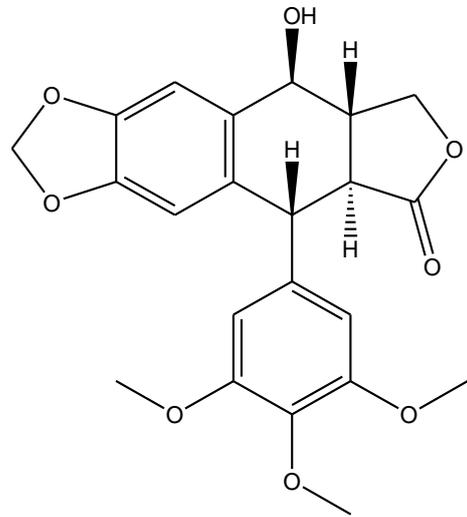
(25)



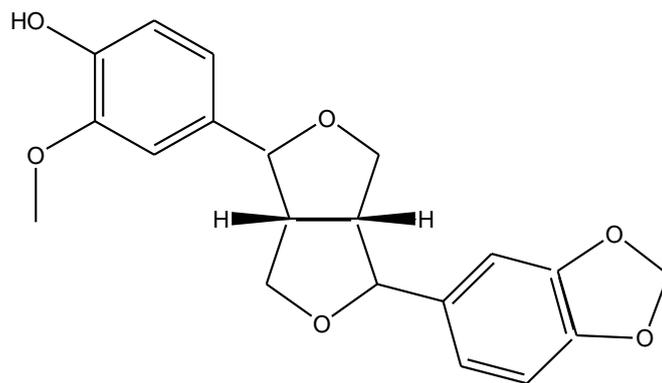
(24)



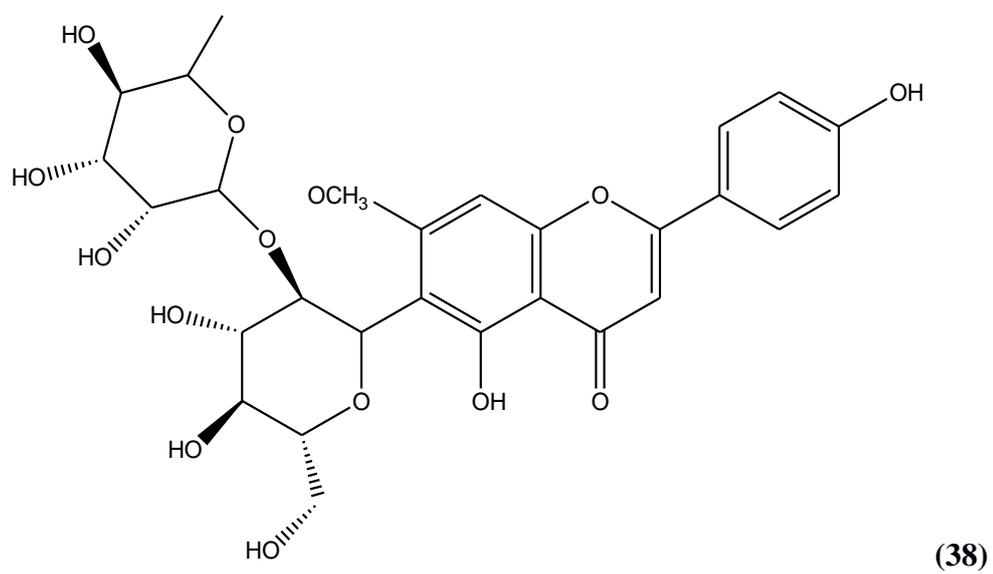
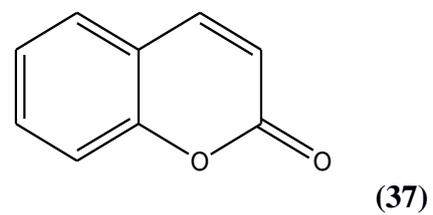
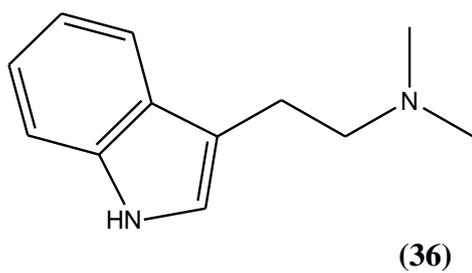
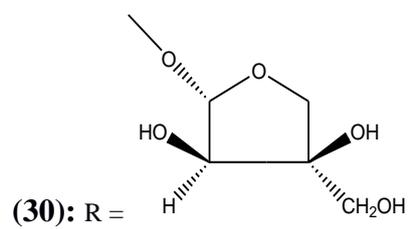
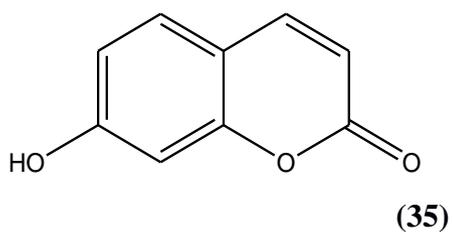
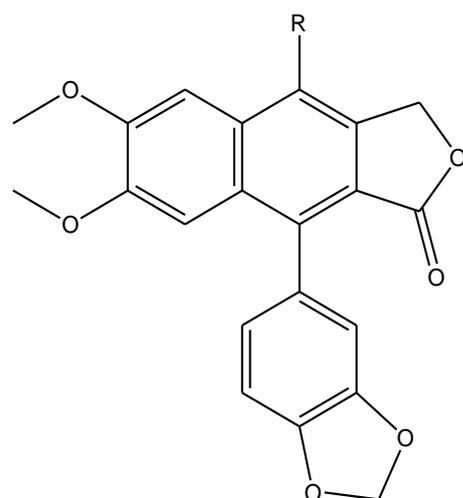
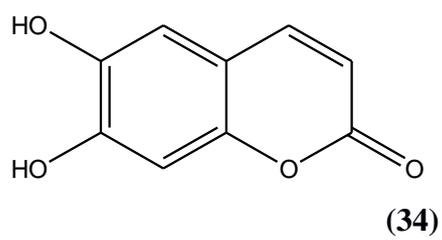
(21)

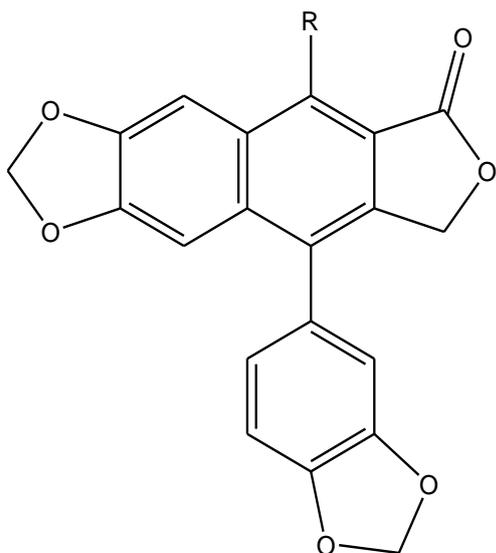


(26)

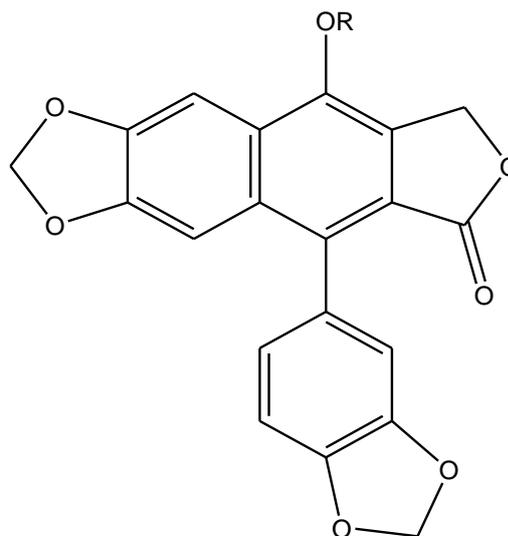


(22)

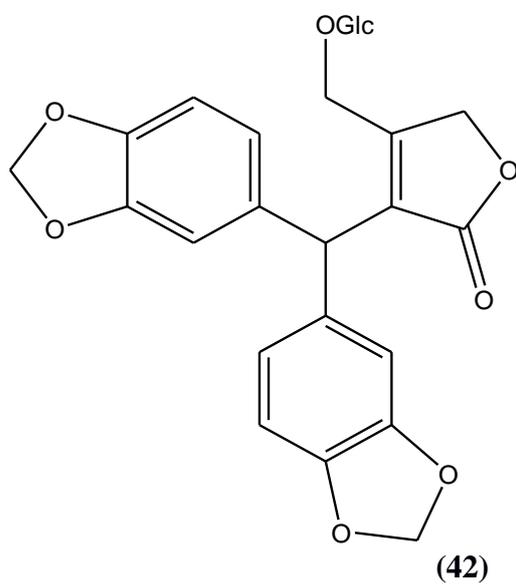




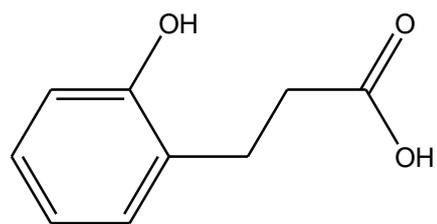
(40): R = H  
(39): R = OMe O



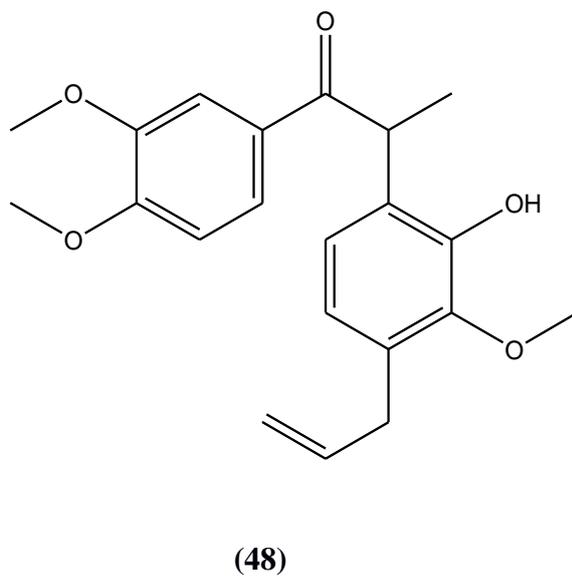
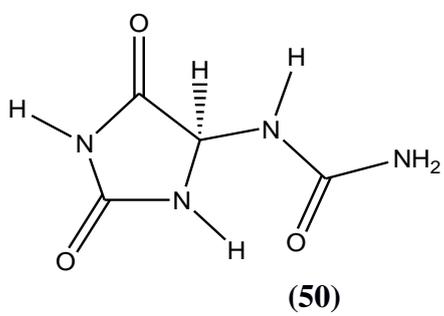
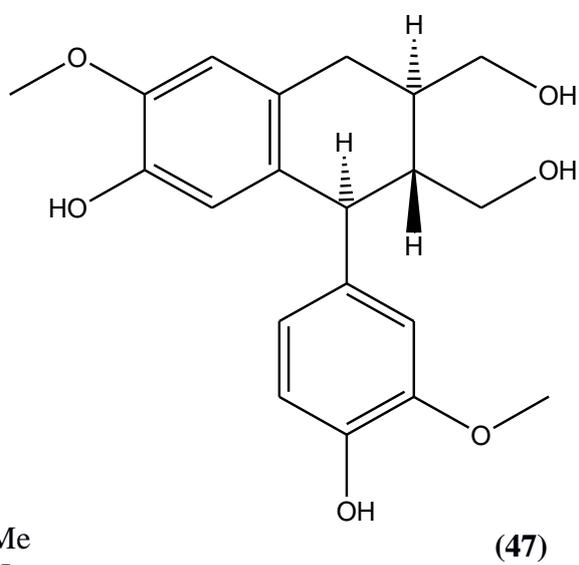
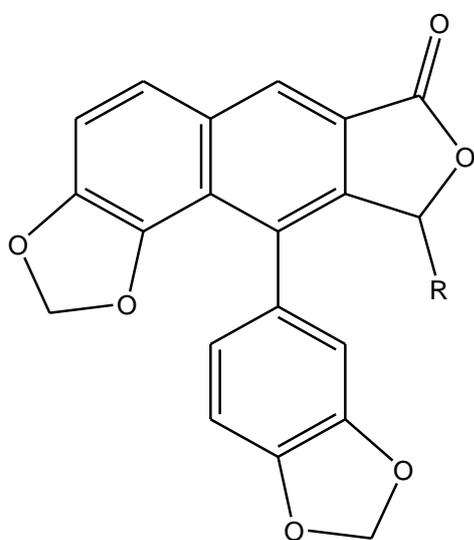
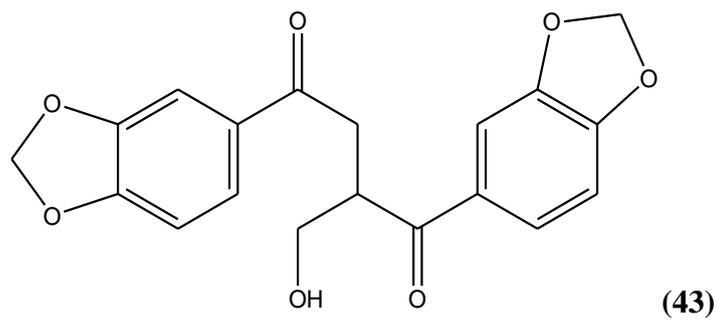
(41): R = Me  
(44): R = H

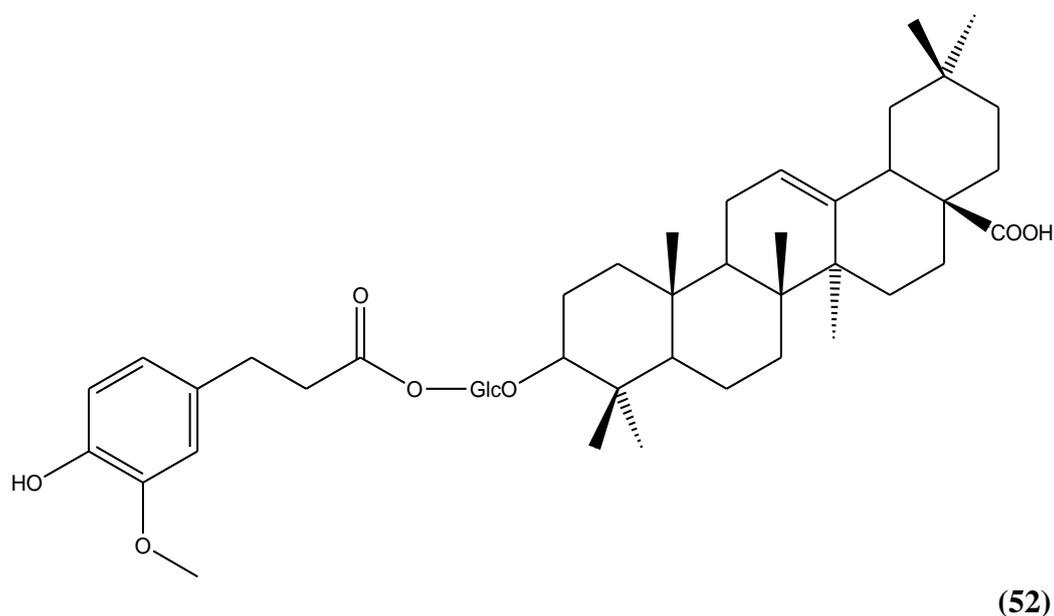
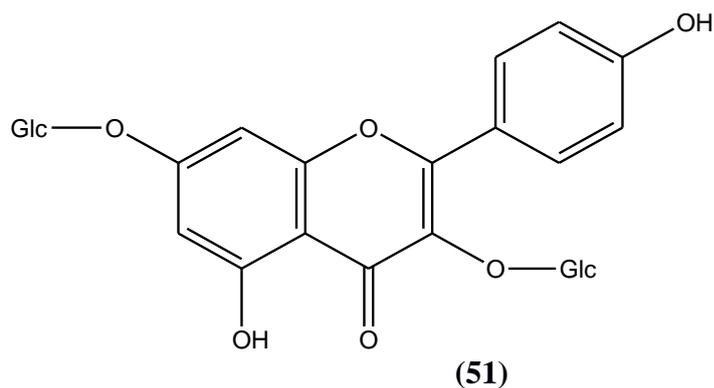


(42)



(34)





**Fonte:** Própria Autora, 2018.

### 2.2.2 *Justicia pectoralis* e *Justicia thunbergioides*

*Justicia pectoralis* é popularmente conhecida como “chambá”, “anador”, “cerebril”, “erva-de-santo-antônio”, “carpinteiro”, “trevo-cumaru”, “melhoral”, “canelinha”, entre outros. É uma erva doméstica encontrada em vários países da América do Norte, do Sul e Central, como México, Trinidad e Tobago, Cuba, Jamaica, Equador Ocidental, Venezuela, Colômbia e Brasil. Existem registros dessa espécie no Centro-Oeste, Norte e Nordeste do Brasil, incluindo estados de Goiás, Mato Grosso, Acre, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Maranhão e Ceará (VIANA et al., 2013;

PROFICE et al., 2015; MOURA et al., 2017).

*J. pectoralis* possui flores que variam do lilás ao azul, inconspícua, perene, suberecta, sempre verde, com folhas estreitas e longas atingindo até 5 cm de comprimento (**Figura 4**). A planta propaga-se facilmente por rebentos e estacas, crescendo em canteiros e jarros, formando conjuntos aglomerados, atingindo cerca de 40 cm de altura (OLIVEIRA et al., 2000a).

É considerada uma planta de uso medicinal nas regiões Norte e Nordeste como expectorante, antiasmática e analgésica. Também é usados contra tosse e bronquite, assim como, alucinógena pelos índios da América do Sul (MATOS, 2007; OLIVEIRA et al., 2000a).

Atualmente, o xarope é a única apresentação farmacêutica produzida a partir do Chambá, pelos programas governamentais de fitoterapia do Nordeste denominado “Farmácias Vivas” (BRASIL, 2013). Além disso, esta espécie pertence ao Relação Nacional de Plantas de Interesse do SUS (RENISUS, 2009). A presença desta espécie na referida relação mostra sua potencialidade terapêutica para elaboração de produtos fitoterápicos com aplicabilidade no SUS, uma vez que evidências científicas mostram sua segurança e eficácia (BRASIL, 2009).

**Figura 4** - *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE) – A) Aspecto geral da planta. B) Flores.



Fonte: Própria autora, 2018.

A avaliação clínica preliminar da eficácia do xarope de "chambá" no tratamento de pacientes com asma leve a moderada mostrou que, após uma semana de tratamento, os pacientes apresentaram obstrução reduzida das vias aéreas, com aumento em volume expiratório forçado, capacidade vital forçada e fluxo expiratório máximo (FONSECA, 2010). Em trabalho de Nascimento (2018) o Xarope de Chambá foi eficaz no alívio sintomático da tosse, da congestão nasal e da rinorreia, além de melhorar a capacidade

de dormir das crianças e de seus responsáveis, quando comparado ao placebo, com placebo.

Análise fitoquímica preliminar realizada com o extrato de folhas de *J. pectoralis* através de reações gerais de identificação ou cromatografia em camada fina, revelaram além da presença de cumarinas e alcalóides, flavonóides, esteroides e triterpenóides (LEAL et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2000b; ARAÚJO et al., 2014; LEAL et al., 2017).

Duke (1987) menciona a presença de alcalóides (*N,N*-dimetiltriptamina) (**36, pag. 44**) em baixas concentrações em *J. pectoralis*, justificando o efeito alucinógeno das espécies e sua utilização para esse fim em tribos indígenas na América do Sul. No entanto, outros autores negam a presença de alcalóides, justificando o uso dessas preparações em rituais meramente como aromatizante devido ao odor agradável das cumarinas (MELO; ANDRADE, 1989; LEAL et al., 2017).

A cumarina é um grupo heterocíclico, aromático, encontrada em numerosas espécies de plantas com potencial farmacológico. Devido à sua capacidade para aumentar a atividade proteolítica dos macrófagos tem sido indicada para o tratamento de pacientes com linfedema, enquanto que derivados de cumarinas, tais como *umbeliferona* (UMB) (**35, pag. 44**), possuem numerosas propriedades farmacológicas específicas, incluindo anti-inflamatória, hipoglicemiantes e hipolipemiantes (FONSECA et al., 2010; CLODIUS; PILLER, 1978; LINO et al., 1997; RAMESH; PUGALENDI, 2005).

A presença de cumarinas em *J. pectoralis* já foi referida por vários autores, sendo estas os principais constituintes desta espécie, sugerindo serem tais substâncias as principais responsáveis pela sua atividade fitoterápica (OLIVEIRA et al., 2000b; FONSECA et al., 2010).

Em estudos mais antigos, De Vries et al. (1988), isolaram vários compostos do extrato das partes aéreas de *J. pectoralis*, tais como 7-hidroxicumarina (**umbeliferona, 35, pag. 44**), dihidroxi-cumarina (**34, pag. 45**) e 3,2 ácido hidroxifenilpropiónico (**33, pag. 44**).

Joseph et al. (1988) isolaram vários tipos de flavonoides do extrato etanólico da planta inteira (raízes, folhas e caules) de *J. pectoralis*, e alguns deles foram encontrados pela primeira vez em espécies pertencentes à família Acanthaceae, como é o caso de 2''-*o*-ramnosil-swertisina (**38, pag. 44**). Cinco compostos foram identificados no extrato hidroalcolico das folhas em espécies cultivadas em Fortaleza/Ceará: 1,2-benzopirona (**cumarina, 37, pag. 44**), 7-hidroxi-1,2-benzopirona (**umbeliferona, 35, pag. 44**), além

de pequenas quantidades de ácido *o*-hidroxi-transcinâmico acetilado (ácido cumárico acetilado), entre outros (LINO et al., 1997).

Rodrigues (2017) constatou que o óleo essencial obtido das partes aéreas de *J. pectoralis* apresenta potencial ação antibacteriana, uma vez que, apesar de uma cepa de *Escherichia coli* ter demonstrado resistência (baixa susceptibilidade), o óleo apresentou fraca ação antibacteriana sobre *Pseudomonas aeruginosa* e moderada atividade antibacteriana sobre as cepas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.

Fonseca (2009) investigou a avaliação toxicológica "in vitro" do extrato seco padronizado das partes aéreas de *Justicia pectoralis*, onde foi constatada a sua baixa citotoxicidade em neutrófilos humano, mensurada pela atividade da enzima lactato desidrogenase, além de reduzir a liberação de mieloperoxidase por eles. Neste estudo, reduziu em até 38 % o edema de pata induzido por carragenina e 79,6 % a nocicepção induzida por capsaicina.

Lockleara et al. (2010) concluiu em seu trabalho que o extrato metanólico das partes aéreas de *Justicia pectoralis* possui efeitos estrogênicos, progestagênicos e anti-inflamatórios, portanto, têm um mecanismo de ação plausível, explicando seu uso tradicional para a menopausa. Em trabalho de Ramesh and Pugalendi (2006) os extratos metanólicos preparados das partes aéreas induziram, *in vitro*, a diminuição da afinidade de estradiol e progesterona aos seus receptores em células cancerosas de mama humana. Essas ações explicam o uso tradicional da espécie no tratamento dos sintomas pré-menstruais e menopausa, bem como, a ação anti-inflamatória (LOCKLEARA et al., 2010)

Por outro lado, não há, até onde se sabe, nenhum metabólito secundário isolado e nem mesmo estudos de atividade biológica da espécie vegetal *J. thunbergioides* (Lindau) Leonard, a qual pertence ao gênero *Justicia Linnaes* e possui distribuição no Bioma Cerrado.

É encontrada na Bolívia, norte da Argentina e no Brasil. No Brasil, encontra-se distribuída nos Estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo, Paraíba (**Figura 5**) (VILAR, 2009; SOUSA et al., 2016).



**Figura 6** - *Justicia thunbergioides* (ACANTHACEAE) – A) Aspecto geral da planta. B) Flores.



Fonte: Própria autora, 2018.

### 2.2.3 Imagem hiperespectral no controle de qualidade de plantas medicinais

A impressão digital química baseada em várias técnicas analíticas tem sido utilizada para a identificação, autenticação e controle de qualidade de produtos fitoterápicos e produtos relacionados. Algumas técnicas cromatográficas usadas para impressão digital química incluem cromatografia de camada fina de alto desempenho (*High-Performance Thin-Layer Chromatography*, HPTLC), cromatografia a líquido de alta eficiência (*High performance liquid chromatography*, HPLC), cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*, GC-MS) e cromatografia a líquido acoplada a espectrometria de massa (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*, LC-MS) (YANG et al., 2011; DENG; YANG; 2013; HE et al., 2015) As vantagens desses métodos incluem boa repetibilidade, ampla aplicabilidade e capacidades qualitativas e quantitativas. Estes métodos, no entanto, requerem preparação complicada e grande quantidade de amostras, pessoal especializado e tempo de análise mais longo (DJOKAM et al., 2017).

Sendo assim, tem sido utilizados na literatura métodos de controle de qualidade que permitem rapidamente autenticar materiais vegetais por meio de análise hiperespectral de imagens (*HyperSpectral Image*, HSI) (DJOKAM et al., 2017, GRAHN; GELADI, 2007). Além da aplicação em pesquisas científicas, as análises utilizando HSI podem ser aplicadas ainda na área forense, nas indústrias alimentícia, farmacêutica, agrícola que exigem resultados qualitativos e quantitativos (DALE et al., 2013).

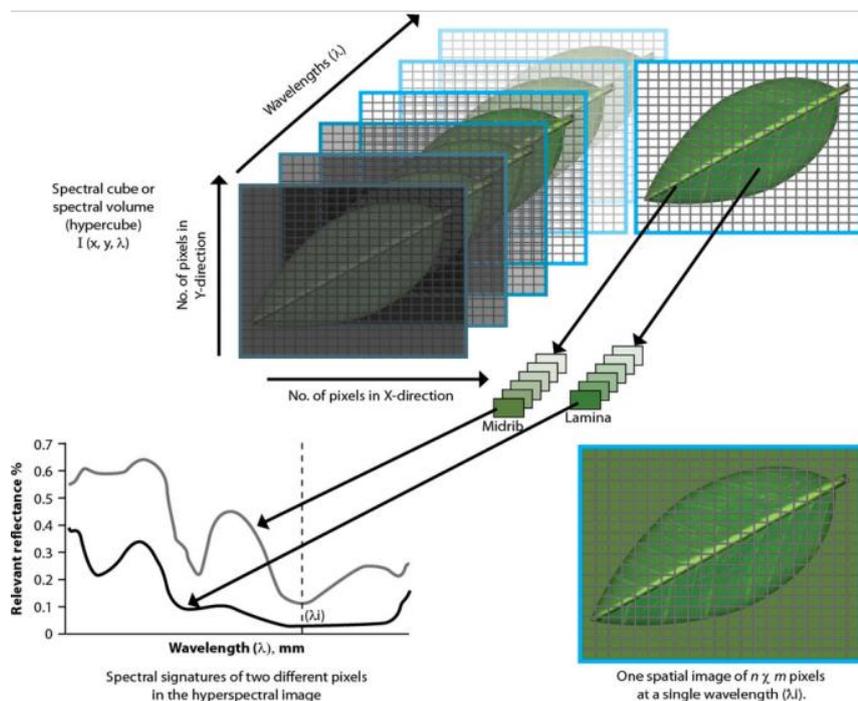
A imagem HSI é uma técnica que tem a capacidade de analisar tanto as propriedades químicas quanto físicas de uma amostra simultaneamente. HSI combina ambas as informações (espaciais e espectrais) de uma amostra e produz imagens em

cada comprimento de onda ( $\lambda$ ), resultando num conjunto de imagens/dados (**Figura 7**) (TANKEU et al., 2015). Ou seja, as imagens são coletadas em função do comprimento de onda resultando em um conjunto de imagens referidas como um hiper-cubo, este possui duas dimensões espaciais (x;y) e um comprimento de onda. Em qualquer comprimento de onda, a imagem compreende vários pixels, onde cada pixel representa um espectro contendo a informação química. As imagens são analisadas para identificar regiões de onda onde são observadas diferenças químicas nas amostras (ou espécies) investigadas (SANDASI et al., 2014).

Para análise da HSI são usados vários modelos matemáticos, tais como a análise de componentes principais (*Principal Component Analysis*, PCA), mínimos quadrados parciais e análise discriminante (*Partial Least Squares*, PLS, *Discriminant Analysis*, DA). Em geral, PCA é usado em HSI para a redução de imagens e identificação de região espectral importante no processo de classificação de objetos/analitos de interesse (GOWENA et al., 2017).

A PLS-DA permite discriminar classes baseadas nos espectros de cada pixel ligados à natureza química dos constituintes da amostra no processo de identificação do objeto/analito de interesse (EYLENBOSCH et al., 2014).

**Figura 7** - Ilustração de um hiper-cubo espectral criado através da combinação de duas dimensões espaciais (x;y) e de comprimento de onda ( $\lambda$ ).



Fonte: SANDASI et al., 2014.

Na área da botânica os modelos matemáticos são usados para estimar aspectos biofísicos e bioquímicos das plantas, medir a clorofila das plantas, detectar mudanças na vegetação, medir a variação de umidade, assim como ferramenta analítica de controle de qualidade de matérias-primas (SOUZA, 2013).

Outra característica da HSI é que se caracteriza por análises não destrutivas e podem ser realizadas num período muito mais curto em comparação com métodos de análise convencionais, tais como, cromatografia a líquido (SANDASI et al., 2014).

O potencial da HSI foi usado como método de controle de qualidade rápido para matérias-primas e produtos contendo três espécies vegetais da família *Echinacea* por Sandasi et al. (2014) onde as análises da PCA mostraram uma clara distinção entre as amostras de raízes e folhas das espécies vegetais, mostrando assim que a HSI é um método de controle de qualidade objetivo e não destrutivo para autenticar matérias-primas de origem vegetal.

Em outro estudo, Tankeu et al. (2015) sugere o uso da HSI e PLS-DA como método para distinguir entre duas espécies de famílias diferentes *Stephania tetrandra* ("hang fang ji") e *Aristolochia fangchi* ("guang fang ji") utilizadas na medicina tradicional chinesa para a mesma finalidade (diurético, antireumático, analgésico e anti-inflamatório) e que são comumente referidas como "fangji".

Neste estudo, as análises por HSI foram utilizadas com o objetivo de realizar a distinção química e física entre *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*. Enquanto que para a primeira espécie vegetal os estudos fitoquímicos são diversos (sendo encontrados cumarinas, heterosídeos antraquinônicos, cardioativos, saponinas, taninos e flavonoides) em contrapartida para a segunda espécie há raros estudos relacionados à sua composição química e atividade biológica (CORRÊA et al., 2012; CORRÊA et al., 2013).

A distinção entre ambas as espécies permitirá avaliar a qualidade dos materiais vegetais através de uma metodologia rápida e não destrutiva em comparação com análises convencionais, tais como, a cromatografia líquida

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta do material botânico

As folhas de *J. thunbergioides* foram coletadas em Corumbá de Goiás: Rodovia Corumbá de Goiás-Pirenópolis, 15°56'05"S 48°50'46"W em maio de 2016.

As folhas de *J. pectoralis* foram coletadas na Casa de Vegetação no Centro Universitário de Anápolis-UniEVANGÉLICA, Anápolis/GO (16°34'50"S e 48°92'88"W), em fevereiro de 2017. O cultivo foi realizado em canteiros, com espaçamento aproximado de 40x40 cm, adubação orgânica, irrigação com água potável e sem o abrigo da luz. As matrizes das plantas também foram coletadas nas proximidades do Córrego do Ouro, Brasília, DF (15°30'S, 47°57'W).

Exsicatas das folhas de *J. thunbergioides* e *J. pectoralis* foram depositadas no herbário da Universidade Estadual de Goiás, campus Anápolis, sob os números 723 e 1234, respectivamente.

Foram coletadas folhas adultas de *J. thunbergioides* e *J. pectoralis*. As folhas frescas não apresentaram sinais de necrose, clorose ou contaminação por fungos. Para uma maior uniformidade das amostras, as coletas foram realizadas sempre por volta das 10 AM.

#### 3.2 Secagem e extração

As folhas dos materiais vegetais foram secas em estufa com circulação de ar interna, (40°C) (QUIMIS, modelo Q317M42) durante 7 dias e pulverizados em moinho de facas rotativas (WILLYE TECNAL, modelo TE 650) (OLIVEIRA e AKISUE, 1989). Foram obtidos 270g e 75g de material vegetal pulverizado de *J. thunbergioides* e *J. pectoralis*, respectivamente. O pó assim obtido de cada espécie foi devidamente identificado, acondicionado e armazenado à temperatura ambiente até a sua utilização nos experimentos. Esta etapa foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Biodiversidade (LAPEBIO) do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA.

##### 3.2.1 Extrato bruto de *J. thunbergioides*

Os extratos-brutos foram obtidos a partir do material seco e pulverizado das folhas de *J. thunbergioides* (250 g) através da técnica de maceração dinâmica a frio (FILHO, 1998). Foram realizadas 5 extrações com hexano, 5 extrações com diclorometano e 5 extrações metanol, num intervalo de 72h entre elas, num período de

45 dias, utilizando o mesmo material (250 g). Foram utilizados 700 mL de solvente em cada extração, ou seja, 0,35 g/mL (m/v).

Em seguida, cada extrato foi concentrado à pressão reduzida em evaporador rotatório (45°C), os extratos foram armazenados em freezer (-10°C) até a sua utilização nos experimentos. Foram obtidos 7g de extrato bruto hexânico, 10g de extrato bruto diclorometânico e 62g de extrato bruto metanólico (**Tabela 1**).

**Tabela 1 - Extratos brutos obtidos após maceração dinâmica a frio do material seco e moído das folhas de *J. thunbergioides*.**

Quantidade material moído (g)	Extrato bruto obtido após extração	Quantidade (g)	Quantidade (%)
250,0	Hexânico	7,0	8,9
	Diclorometânico	10,0	12,6
	Metanólico	62,0	78,9

Fonte: Própria autora, 2018.

### 3.3 Infravermelho de onda curta (SWIR) imagem hiperespectral

As amostras pulverizadas de *J. thunbergioides* e *J. pectoralis* foram obtidos conforme descrito no **item 3.2** e analisados por HSI (TANKEU et al., 2015; SANDASI et al., 2014). As imagens foram adquiridas usando a estação de trabalho SisucHEMA da Specim, *Spectral Imaging* Ltd. da Finlândia que produz imagens no infravermelho de ondas curtas (*Short Wave Infrared*; SWIR).

Estas análises foram realizadas no Laboratório de Computação Científica da Escola de Ciências Exatas e da Computação da Pontífca Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás), Goiânia, GO.

As amostras de *Justicia* (*J. thunbergioides* e *J. pectoralis*) foram depositadas em batoques, contendo 6 porções de aproximadamente 5 gramas para cada espécie.

Foi realizado um pré-processamento das imagens afim de suavizar ruídos (tanto ambientais quanto dos próprios sensores) e ressaltar características mais relevantes das amostras. Foram utilizados a normalização dos espectros, para que fossem proporcionais entre si e também a variação normal padrão (*Standard Normal Variate*, SVN) para suavizar atributos que não contribuem na etapa de classificação.

A análise exploratória da HSI com o PCA removeu informações não relacionadas

com as amostras, tais como, o batoque, a bandeja onde são depositadas. Assim, no final do processo de pré-processamento a HSI resultante continha os espectros mais representativos das amostras.

Uma vez que as amostras são linearmente separáveis no plano da PCA, foi possível construir um modelo de classificação capaz de identificar novas amostras, uma vez que a PCA não é capaz de classificar cada amostra. O modelo de classificação utilizado no trabalho foi a PLS-DA. A classificação foi realizada em duas etapas. A primeira de treinamento foi realizada utilizando um subconjunto de amostras de *Justicia* para que o modelo utilizado *aprendesse* a distinguir as duas espécies: *J. thunbergioides* e *J. pectoralis*. A segunda etapa foi o teste do modelo treinado com o objetivo de verificar a capacidade de identificar cada uma das espécies. O teste foi realizado com um subconjunto de amostras de *Justicia* não inclusas na etapa de treinamento.

### 3.4 Determinação da perda por dessecação dos materiais vegetais

Os ensaios para a determinação do teor de umidade foram realizados em triplicata conforme Farmacopéia Brasileira V (2010). Foi pesado, em balança analítica de precisão (Modelo AG-200, Gehaka), 2 g do material botânico pulverizado, de cada uma das espécies (*J. pectoralis* e *J. thunbergioides*), e transferido para um cadinho, previamente pesado e dessecado a 100-105°C por 30 minutos. Em seguida, a amostra foi colocada em estufa (Brasdonto, modelo 1) a 100-105°C por 2h, retirada e pesada. Pesou-se o material vegetal em intervalos de 1 hora. O ensaio foi concluído quando duas pesagens sucessivas não diferiram entre si por mais de 5 mg. A porcentagem de materiais voláteis foi calculada em relação à amostra seca ao ar utilizando a fórmula (COSTA, 1982; PREGNOLATTO; PREGNOLATTO, 1985):

$$\% \text{ teor de voláteis} = N/P \times 100$$

Em que:

N – Perda de peso da amostra (g).

P – Peso inicial da amostra (g).

### 3.5 Determinação do teor de cinzas

#### 3.5.1 Determinação do teor de cinzas totais

Para a determinação do teor de cinzas totais, os ensaios foram realizados em

triplicata, conforme a Farmacopéia Brasileira V (2010). Foi pesado em balança analítica de precisão (modelo AG-200, Gehaka), 3 g da amostra pulverizada, de ambas as espécies, as quais foram transferidas para cadinho de porcelana previamente calcinado, resfriado e pesado. A amostra foi distribuída de forma uniforme e incinerada em mufla (modelo Q318M21, QUIMIS), durante período indeterminado, mas até que as cinzas ficassem brancas ou acinzentadas. Em seguida, a amostra foi retirada da mufla, colocada em dessecador, resfriada e pesada. A porcentagem de cinzas totais foi calculada em relação à amostra seca ao ar (COSTA, 1982; PREGNOLATTO; PREGNOLATTO, 1985) conforme fórmula abaixo:

$$\% \text{ teor de cinzas} = N/P \times 100$$

Em que:

N – Massa de cinzas totais da amostra (g).

P – Massa inicial da amostra (g).

### **3.5.2 Determinação do teor de cinzas insolúveis em ácido clorídrico (HCl)**

Para a determinação desse parâmetro de qualidade, os resíduos obtidos na determinação do teor de cinzas totais de ambas as espécies, em triplicata, foram fervidos durante 5 minutos com 20 ml de HCl 7%, preparado conforme Farmacopeia Brasileira V (2010) em cadinhos cobertos com vidro relógio. O resíduo foi filtrado em papel-filtro quantitativo. Os cadinhos e os vidros de relógios foram lavados em água quente. O papel de filtro contendo o resíduo foi lavado com água quente até que o filtrado se tornasse neutro. O papel-filtro contendo o resíduo foi transferido para o cadinho original e levado à secagem e carbonização em fogareiro. Em seguida, os cadinhos foram transferidos para uma mufla QUIMIS modelo Q318M21, pré-aquecida a 500°C, incinerando-se o resíduo por 5 horas, obtendo-se a formação de cinzas brancas. Os cadinhos foram resfriados em dessecador e pesados. A porcentagem de cinzas insolúveis em ácido clorídrico foi calculada em relação à amostra inicial (COSTA, 2001).

$$\% \text{ teor de cinzas insolúveis em ácido} = (P1 - P2)/ P3 \times 100$$

Em que:

P1 – peso do cadinho após a calcinação e resfriamento (g);

P2 – peso do cadinho com a amostra após a calcinação e resfriamento (g);

P3 – peso inicial da amostra (g).

### **3.6 Triagem fitoquímica das espécies vegetais (*J. pectoralis* e *J. thunbergioides*)**

As análises relacionadas à triagem fitoquímica foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Biodiversidade (LAPEBIO) do Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, utilizando métodos adaptados de Costa (2001), Matos (1988), Matos & Matos (1989) e Simões et al. (2017) para a pesquisa de: Heterosídeos antraquinônicos, heterosídeos cardioativos, heterosídeos flavonoides, heterosídeos saponínicos, taninos, alcalóides e cumarinas.

### **3.7 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila DPPH**

A atividade antioxidante para os extratos brutos de diferentes polaridades (hexânico, diclorometânico e metanólico - **item 3.2.1**) foram realizadas pela captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH).

O procedimento consistiu no preparo de uma solução estoque de DPPH em etanol (0.1 mmol), a qual foi adicionada 1ml desta à 1 mL das soluções contendo os extratos brutos de diferentes polaridades e concentrações (MELAGRAKI et al., 2009).

As soluções contendo os extratos metanólico de *J. thunbergioides* nas concentrações de 1, 2, 4, 6, 8, 10, 16, 22 e 32 µg/mL foram previamente preparadas a partir de uma solução estoque contendo 1600 µg/mL de extrato metanólico. As soluções resultaram na concentração final de 0,05 mmol de DPPH e 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 8, 12 e 16 µg/mL de extrato metanólico das folhas de de *J. thunbergioides*.

Para o extrato diclorometânico das folhas de *J. thunbergioides* as concentrações finais foram de 10, 20, 30, 40, 60, 125, 190 e 250 µg/mL, e foram preparadas a partir de uma solução estoque de 2140 µg/mL de extrato diclorometânico.

Para o extrato hexânico das folhas de *J. thunbergioides* as concentrações finais foram de 10, 25, 50, 125, 250, 400 e 500 µg/mL e foram preparadas a partir de uma solução estoque de 2500 µg/mL de extrato hexânico.

As misturas foram agitadas a 450 rpm por 30 min e mantidas em ambiente sem luz a temperatura ambiente (25°C).

As leituras das absorvâncias das amostras foram realizadas em espectrofotômetro (UV-VIS Shimadzu). Como branco (controle negativo) utilizou-se uma solução contendo 1 mL de DPPH e 1 mL de etanol, e como controle positivo foi utilizada uma solução contendo ácido gálico a 10 µmol (BORGES, et.al., 2015; MALKI, et al., 2017).

O experimento foi realizado em duplicata.

Os resultados desta atividade foram expressos em percentagem de inibição de oxidação, ou seja, a porcentagem de atividade antioxidante é correspondente à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante. Quanto maior o consumo de DPPH pela amostra, maior é sua atividade antioxidante (AA) (ALVES et al., 2007)

O percentual de radical DPPH capturado foi calculado seguindo a seguinte equação (SCHERER et al., 2009):

$$\text{(\% DPPH capturado)} = (\text{Abs}_0 - \text{Abs}_1 / \text{Abs}_0) \times 100$$

Onde: **Abs<sub>0</sub>** foi a absorbância da reação controle (1 mL DDPH + 1 mL etanol) e

**Abs<sub>1</sub>** a absorbância na presença da amostra teste (extrato bruto + DPPH).

O IC<sub>50</sub> foi calculado com base na equação da reta obtida por meio de regressão linear.

$$y = ax + b$$

$$\text{IC}_{50} = (50 - b) / a$$

Em que: - a e b são os coeficientes da equação da reta  $Y = ax + b$ .

O index de atividade antioxidante (AAI) foi calculado com base na seguinte equação (SCHERER et al., 2009). Sendo que 0,5 mmol equivalem a 19,71 µg/mL de DPPH.

$$\text{AAI} = \text{concentração final de DPPH (19,71 } \mu\text{g/mL)} / \text{IC}_{50} (\mu\text{g/mL)}$$

As análises de determinação da atividade antioxidante foram realizadas no Laboratório de Química Orgânica e Biocatálise (IQSC) na Universidade de São Paulo (USP).

### **3.8 Fracionamento, purificação e identificação dos constituintes químicos presentes nos extratos brutos de *J. thunbergioides***

O fracionamento, isolamento e identificação dos compostos descritos nesse trabalho foram realizados no Laboratório de Biocatálise e Química Orgânica do Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo (IQSC-USP).

### 3.8.1 Cromatografia em coluna

O fracionamento e purificação das substâncias foram realizados por cromatografia líquida em coluna (CC) de sílica-gel 60 VETEC (63 – 200  $\mu\text{m}$ ). Foram utilizadas colunas de diâmetro variável, preparadas com fases móveis em hexano:acetato de etila de modo isocrático e/ou gradiente de acordo com as características de cada amostra.

### 3.8.2 Cromatografia em camada delgada analítica

As análises das frações por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas utilizando-se placas de alumínio WHATMAN UV 254 (espessura de 0,250 mm) recobertas com sílica-gel. As placas foram observadas sob lâmpada ultravioleta (254 nm), solução de anisaldeído e permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ).

### 3.8.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) unidimensionais (RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135°) e bidimensionais (HSQC, HMBC, COSY e NOESY) foram obtidos em espectrômetro Agilent 400/54 premium shielded ou Agilent 500/54 premium shielded e foram operados na frequência de 500 e 400 MHz (RMN  $^1\text{H}$ ) e 125 e 100 MHz (RMN  $^{13}\text{C}$ ), respectivamente. Os espectros de RMN foram analisados pelo software Mestre Nova versão 9.0.

Os solventes deuterados utilizados foram acetona, clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ), dimetilsulfóxido ( $\text{DMSO-d}_6$ ) e metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ). Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados em relação ao sinal do padrão interno tetrametilsilano (TMS). As constantes de acoplamento ( $J$ ) foram expressas em Hertz (Hz).

### 3.8.4 Cromatografia gasosa – GC/MS

As análises por cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS) foram realizadas em um aparelho da marca Shimadzu/GC2010 plus, com um auto injetor Shimadzu/ AOC-500 acoplado a um detector seletivo de massa (Shimadzu MS2010plus) em modo ionização eletrônica (EI, 70 eV).

O GC-MS foi equipado com uma coluna de cromatografia tipo DB-5MS (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25  $\mu\text{m}$ , J & W Scientific), com programação de temperatura inicial de 60 °C (permanência: 1 min) elevação de 5 °C/min até 250 °C; mode de injeção split 1:20;

fluxo de 1  $\mu\text{L}$ , o gás de arraste foi hélio a 57kPa; 35 minutos de análise.

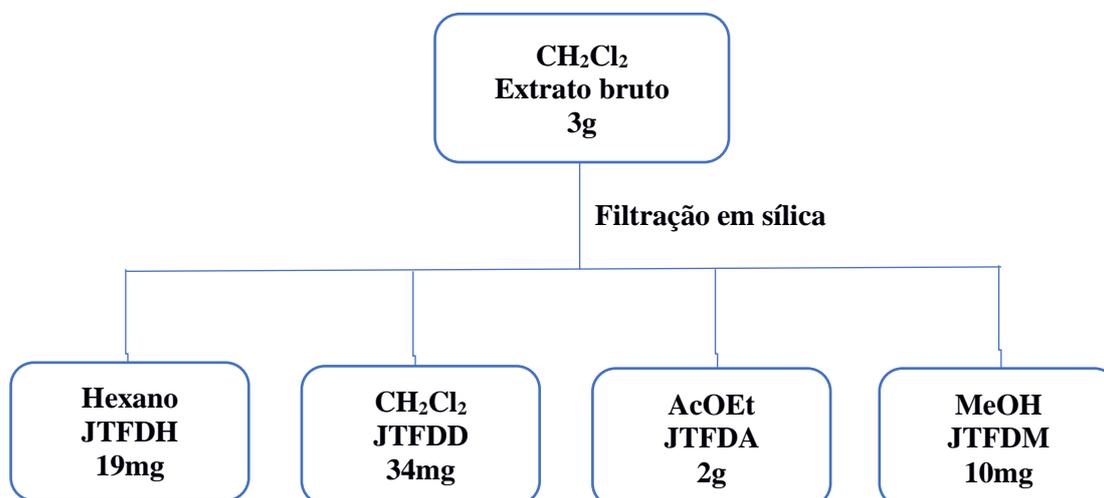
### 3.8.5 Espectrometria na região de absorção do Infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando um aparelho Shimadzu, modelo IRAffinity-1, operando com Transformada de Fourier e foram realizadas na Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos – CAQI/IQSC. As análises foram realizadas utilizando pastilhas de KBr para as amostras sólidas e cristal de silício para as amostras líquidas. Os espectros foram obtidos em comprimentos de onda na região de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$

### 3.8.6 Fracionamento do extrato diclorometânico das folhas de *J. thunbergioides*

Cerca de 3 g do extrato diclorometânico das folhas de *J. thunbergioides* (item 3.2.1) foram submetidas a processo de filtração seletiva em funil sinterizado utilizando como meio filtrante sílica-gel (60g) de 6 nm de diâmetro de poro da marca Acros Organic (FERNANDES, 2016). Foram obtidas as frações: hexano (JTFDH), diclorometano (JTFDD), acetato de etila (JTFDA) e metanol (JTFDM) (**Esquema 1**).

**Esquema 1** - Procedimento para isolamento e purificação dos constituintes do extrato diclorometânico das folhas de *J. thunbergioides*.



Fonte: Própria autora, 2018.

Em seguida, cada fração (JTFDH; JTFDD; JTFDA e JTFDM) foi concentrada à pressão reduzida em evaporador rotatório e analisadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA). Dessa forma, com o auxílio de tubos capilares, tanto o extrato

bruto diclorometânico quando as frações obtidas foram aplicados em cromatofolhas de alumínio de sílica gel 60 F<sub>254</sub> e eluídas com sistemas de solventes modo gradiente: *hexano/acetato* de etila (9:1, 1:1, 7:3, v/v), diclorometano/acetato de etila (9:1, 7:3, v/v) acetato de etila/metanol (9:1).

Após a eluição, as placas foram reveladas com reagentes específicos, tais como, anisaldeído e permanganato de potássio (KM<sub>n</sub>O<sub>4</sub>) e analisadas em câmara de UV nos comprimentos de onda de 254 nm e 365 nm.

### **3.8.6.1 Análises por CG-EM das frações JTFDD e JTFDA obtidas do fracionamento do extrato diclorometânico da folha de *J. thunbergioides*.**

Os compostos foram identificados através da comparação dos seus índices de retenção e espectros de massas com àqueles existentes na literatura (ADAMS,1995; JARDIN et al., 2008; ANDRIAMAHARAVO et al., 2014; KURASHOV et al., 2014; BOULANGER et al., 2000; SEO et al., 2005; PETRAKIS et al., 2001; ANDRIAMAHARAVO et al., 2014; VEDERNIKOV et al., 2010; ISIDOROV et al., 2008)

A concentração dos constituintes foi calculada através da área integral de seus respectivos picos, relacionada com a área total de todos os constituintes da amostra. Os compostos das frações JTFDD e JTFDA foram identificados através do índice de retenção de Kováts (KI). Foram injetados 1mg/mL de amostra da fração (JTFDD) em diclorometano e 1mg/mL da fração (JTFDA) em acetato de etila, assim como padrões de hidrocarbonetos saturados (com cadeias de 9 a 22 átomos de carbono) a 1mg/mL em diclorometano, injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras. Os KI foram calculados através da equação:

$$ikx = 100n + 100\Delta n[(trx - trn)/(trm - trn)]$$

Em que:

ikx= índice de retenção de Kovats da substância desconhecida “x”

n = número de carbonos do hidrocarboneto que elui antes de x

$\Delta n$  = número de carbonos do hidrocarboneto que elui depois de x menos o número de carbonos do hidrocarboneto que elui antes de x

trx = tempo de retenção da substância desconhecida

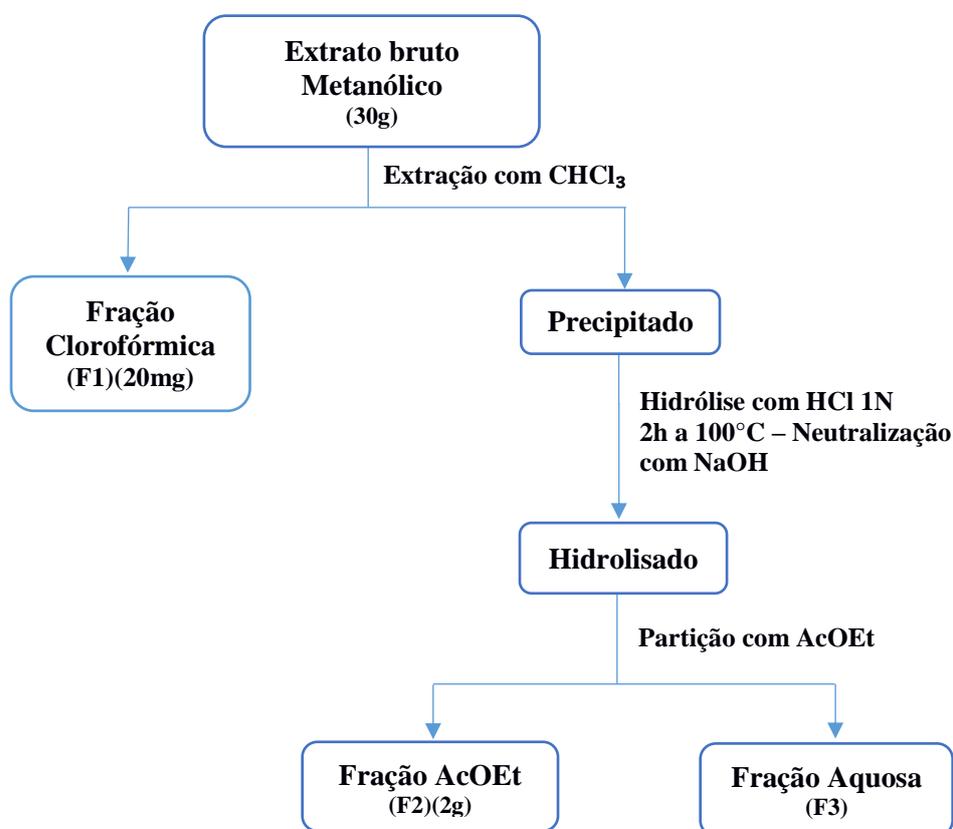
trn = tempo de retenção do hidrocarboneto que elui antes de x

trm = tempo de retenção do hidrocarboneto que elui depois de x

### 3.8.7 Fracionamento do extrato bruto metanólico das folhas de *J. thunbergioides*

Foi realizada a extração ácido-base do extrato metanólico (30 g) das folhas de *J. thunbergioides* (item 3.2.1) através da extração com clorofórmio visando a extração de alcaloides e cumarinas (**F1 – Esquema 2**). O precipitado foi submetido a hidrólise com HCl 1N afim de liberar os açúcares, durante 2h a 100°C. O hidrolisado resultante foi neutralizado com NaOH e particionado com acetato de etila, obtendo-se assim as frações (**F2**) e (**F3**) - **Esquema 2** conforme metodologia de Oliveira (2000b). As frações **F1**, **F2** e **F3** foram analisadas posteriormente por CCDA (item 3.8.2) e CG-EM (item 3.8.4).

**Esquema 2** - Procedimento para isolamento e purificação dos constituintes do extrato metanólico das folhas de *J. thunbergioides*.



Fonte: Própria autora, 2018.

### 3.8.7.1 Isolamento e purificação dos compostos da fração acetato de etila (F2) do extrato metanólico de *J. thunbergioides*

A fração **F2** (1g) foi fracionada em coluna cromatográfica (CC) (2,2 mm) de adsorção em sílica gel 60 (27 cm), utilizando como fase móvel Hex:AcOEt (10:0; 9,5:0,5; 9:1; 8,5:1,5; 8,0:2,0; 7,5:2,5; 7:3; 6,5:3,5; 6:4; 5,5:4,5; 5:5, 4,5:5,5 v/v) em sistema gradiente (**Esquema 3**).

Foram obtidas 210 frações, as quais foram analisadas quanto ao grau de pureza por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), utilizando cromatofolhas de alumínio de sílica gel 60, F<sub>254</sub>, eluídas com os mesmos solventes orgânicos da CC (Hex:AcOEt (10:0; 9,5:0,5; 9:1; 8,5:1,5; 8,0:2,0; 7,5:2,5; 7:3; 6,5:3,5; 6:4; 5,5:4,5; 5:5, 4,5:5,5 v/v) e reveladas com anisaldeído e em câmara de UV nos comprimentos de onda de 254 nm e 365 nm.

As frações **57-63** foram reunidas após análises por CCDA e analisadas por CG-EM (**Figura 42**) conforme **item 3.8.4** e por espectroscopia de RMN de <sup>1</sup>H e RMN de <sup>13</sup>C.

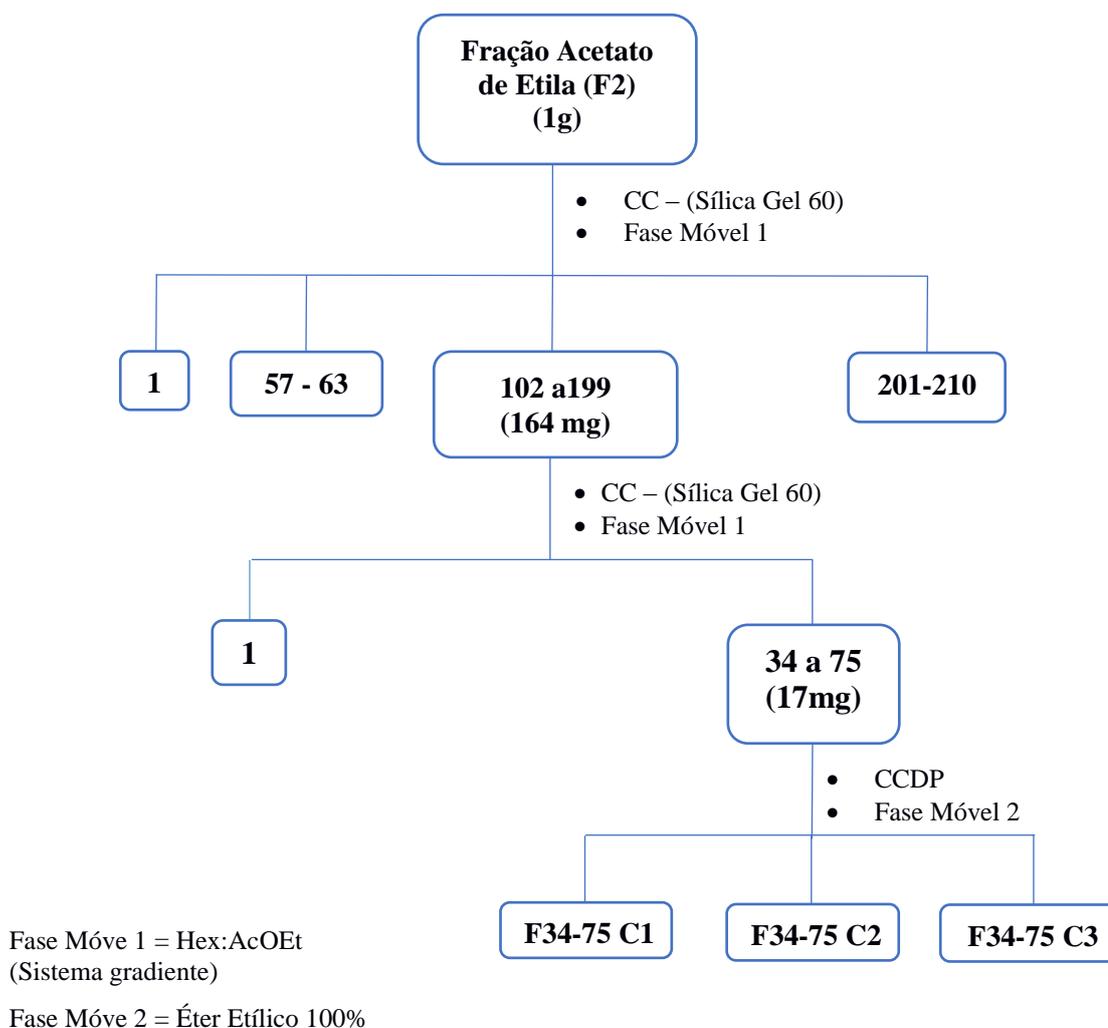
As frações **102-199** foram reunidas após análises por CCDA e analisadas por CG-EM (**Figura 44**). Observou-se um pico (t<sub>R</sub> = 15.225 min.) acompanhado de impureza. Portanto, realizou-se a purificação deste composto através do fracionamento em coluna cromatográfica (2,2 mm) de adsorção em sílica gel 60 (27 cm), utilizando-se como fase móvel Hex:AcOEt (10:0; 9,5:0,5; 9:1; 8,5:1,5; 8,0:2,0; 7,5:2,5; 7:3; 6,5:3,5; 6:4; 5,5:4,5; 5:5, 4,5:5,5 v/v) em sistema gradiente. Foram obtidas **75 frações**, as quais foram analisadas quanto ao grau de pureza por CCDA, utilizando-se cromatofolhas de alumínio de sílica gel 60, F<sub>254</sub>, eluídas com os mesmos solventes orgânicos da CC, Hex:AcOEt (100%; 9,5:0,5; 9:1; 8,5:1,5; 8,0:2,0; 7,5:2,5; 7:3; 6,5:3,5; 6:4; 5,5:4,5; 5:5, 4,5:5,5 v/v) e reveladas com anisaldeído e em câmara de UV nos comprimentos de onda de 254 nm e 365 nm. Após as análises, as frações que apresentaram semelhanças cromatograficas foram reunidas e analisadas por CG-EM.

A fração denominada **F34-75** (17 mg) foi posteriormente purificada por cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) utilizando-se como fase estacionária sílica gel 60, F<sub>254</sub>, (placas de alumínio WHATMAN UV 254; 0,250 mm) e eluídas em éter etílico 100%. As placas foram reveladas por método físico (não-destrutivo) através de câmara de radiação eletromagnética de comprimento de onda na região de ultravioleta (UV) – 254 nm e 366 nm. Nos casos em que os compostos não foram visualizados sob UV, foi utilizada revelação química com anisaldeído.

Foram obtidas assim 3 frações as quais foram reveladas por método físico (não-destrutivo) e analisadas por CG-EM. As frações **F34-75 C1** e **F34-75 C2** foram identificadas como sendo graxas por CG-EM. A terceira fração denominada **F34-75 C3** (**Figura 45**), foi analisada por espectrometria de massas (EM) (**Figura 46**), espectroscopia no infravermelho (IV) (**Figura 47**), RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$  e RMN 2D com detecções inversas tais como a espectroscopia bidimensional de coerência múltiplo quantum heteronuclear a uma ligação (HMBC) e espectroscopia bidimensional envolvendo transições quânticas heteronucleares simples a uma ligação (HSQC).

As frações **F201 – 210** também foram reunidas após análises por CCDA, e analisadas por CG-EM, RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ .

**Esquema 3** - Procedimento cromatográfico da fração Acetato de Etila e obtenção da F34-75 C3.



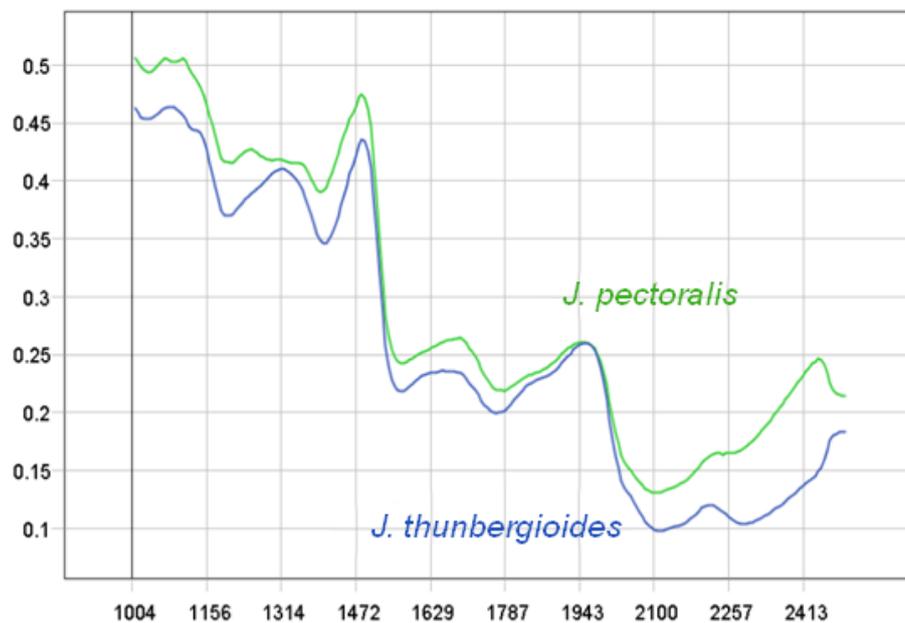
**Fonte:** Própria autora, 2018.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Resultados Infravermelho de onda curta (SWIR) imagem hiperespectral

As análises dos espectros SWIR das amostras pulverizadas das folhas de *J. pectoralis* e *J. thunbergioides* (**Figura 8**) não demonstraram características distintivas que podiam ser usadas para diferenciar ambas as espécies. Nesse caso, fez-se necessário o uso da PCA para observar as diferenças visuais entre as espécies a partir de imagens de pontos e gráficos de dispersão.

**Figura 8** - Imagens espectrais SWIR das amostras pulverizadas das folhas de *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*.



Fonte: Própria Autora, 2018.

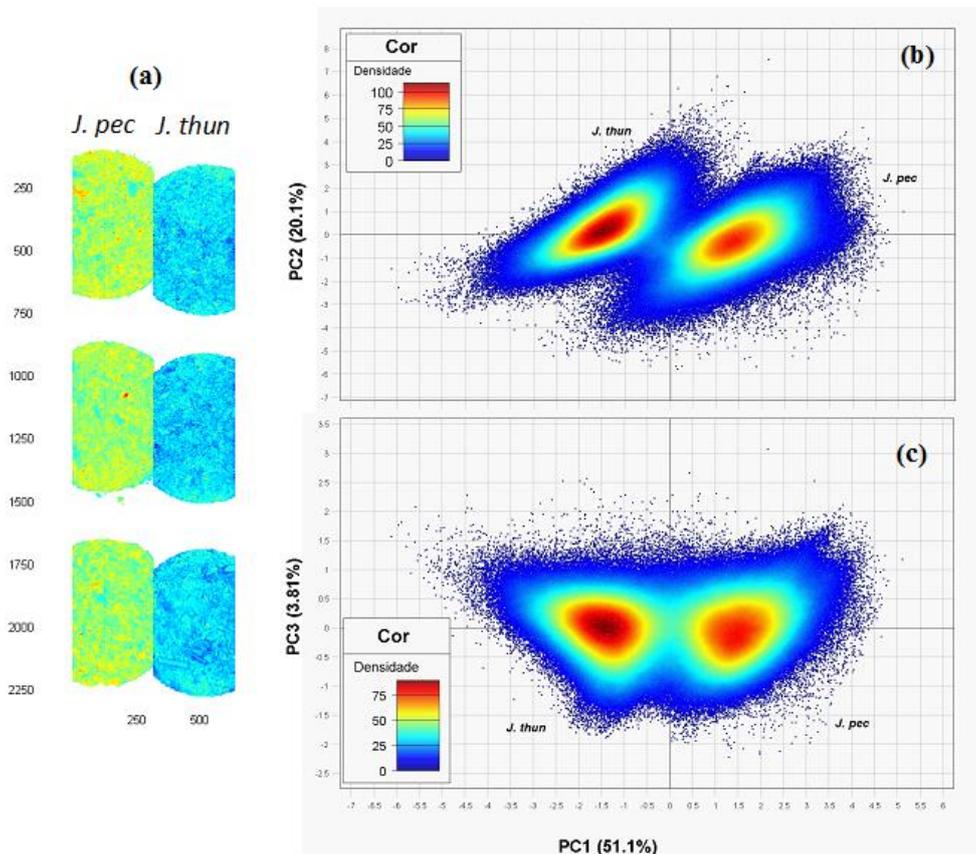
A PCA agrupa amostras a partir dos gráficos de escores (*scores*) e cargas fatoriais (*loadings*) em que os eixos são componentes principais (*Principal Component, PC*) onde os dados são projetados. Os escores são a composição dos PCs a partir das amostras e cargas fatoriais são as composições em relação às variáveis. A ortogonalidade (90°) das PCs possibilita verificar a relação entre amostras e variáveis a partir de um gráfico.

A **Figura 9(a)** mostra a HSI obtida de três amostras das amostras pulverizadas de *J. pectoralis* e três amostras de *J. thunbergioides*. As Figuras **9(b)** e **9(c)** apresentam a PCA obtida com as 6 amostras, gerando dois agrupamentos distintos: o agrupamento a direita são referentes aos pixels das amostras de *J. pectoralis* enquanto os da esquerda aos pixels de *J. thunbergioides*. Tais agrupamentos destacam justamente a variação

química entre as espécies, e esta variação pode ser associada estatisticamente com a variância explicada dos pontos no gráfico das PCs. Os escores correspondentes (PC1 vs. PC2 e PC1 vs PC3) mostram dois agrupamentos de pixels coloridos de acordo com os valores dos pontos que correspondem as imagens das espécies. Na **Figura 9(b)** observa-se que a PC1 acumulou 51,1% da variância explicada, enquanto a PC2 acumulou 20,1% e a PC3 acumulou 3,81%. Somando-se as variâncias explicadas têm-se 75,01%, o que significa uma quantidade relevante das características dos dados com apenas três PCs.

Assim, é possível concluir que as espécies são linearmente separáveis com um plano da PCA, e com isso foi possível gerar um modelo que classificou as espécies. As folhas de *J. pectoralis* apresentaram um perfil de cores semelhantes ao de *J. thunbergioides*. É possível observar uma alta densidade de cores (vermelho) no interior das imagens e densidade de cores mais baixa (azul escuro) no exterior de ambas as imagens, evidenciando que o perfil químico é semelhante nas espécies analisadas.

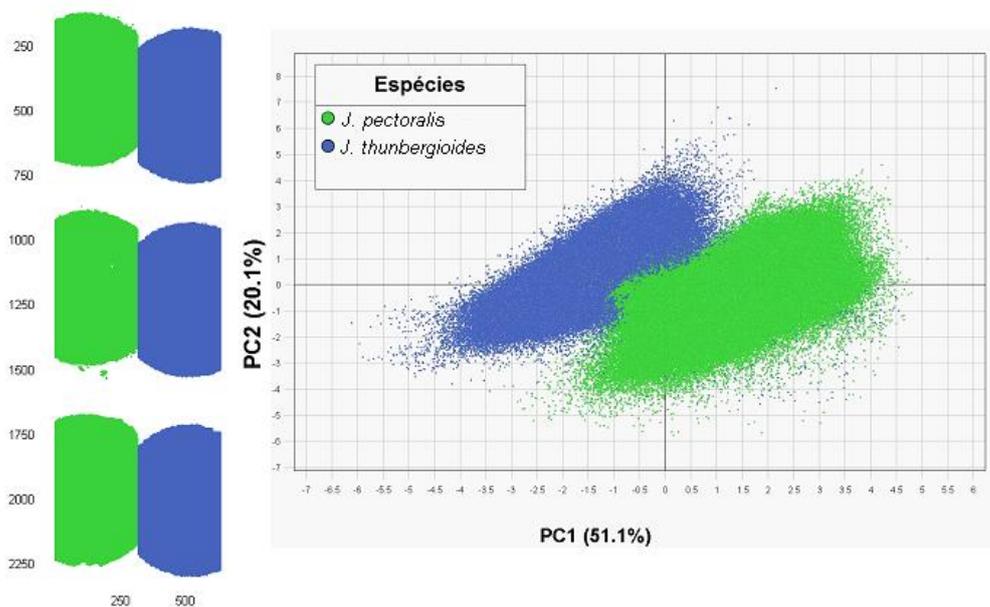
**Figura 9** - HSI de três amostras pulverizadas de *J. pectoralis* e três *J. thunbergioides* (a) juntamente com os escores da PCA destas amostras (b) e (c).



Fonte: Própria Autora, 2018.

A PCA não é capaz de classificar cada amostra em uma análise, um classificador amplamente utilizado é a análise discriminante baseada em mínimos quadrados parciais (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA). O PLS-DA é um classificador supervisionado, ou seja, deve-se primeiramente treiná-lo com amostras conhecidas para depois testar sua eficácia com novas amostras. Assim, para a construção do classificador, fez-se necessário treinar o modelo PLS-DA com pixels de amostras de ambas espécies (EYLENBOSCH et al., 2014). Essa análise permitiu o desenvolvimento de modelos que poderão ser utilizados para fins de controle de qualidade em futuros produtos a base dessas espécies. As amostras de treinamento utilizadas foram as seis amostras pulverizadas das folhas de ambas as espécies apresentadas na **Figura 9(a)**, e para melhor visualização a **Figura 10** apresenta novamente as amostras e a PCA, porém agora destacando as classes (espécies).

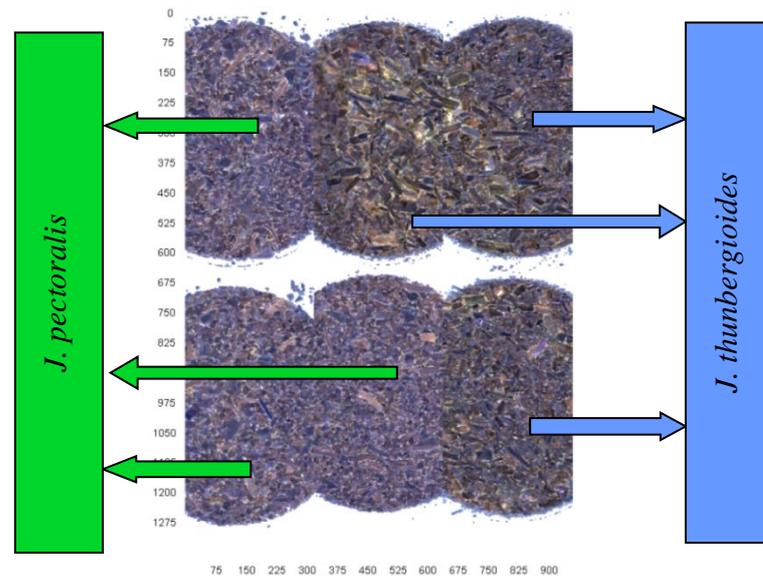
**Figura 10** - Amostras dos extratos secos para o treinamento, sendo três de *J. pectoralis* (em verde) e três de *J. thunbergioides* (em azul), juntamente com sua respectiva PCA.



Fonte: Própria Autora, 2018.

Para testar o modelo PLS-DA treinado com as amostras anteriormente citadas, foram obtidas mais seis novas amostras do material pulverizado das folhas, três de *J. pectoralis* e três de *J. thunbergioides*. A HSI foi obtida de modo idêntico as amostras de treinamento, mudando apenas a disposição como mostra a **Figura 11**.

**Figura 11** - Amostras dos extratos pulverizados - *J. pectoralis* (em verde) e *J. thunbergioides* (em azul).

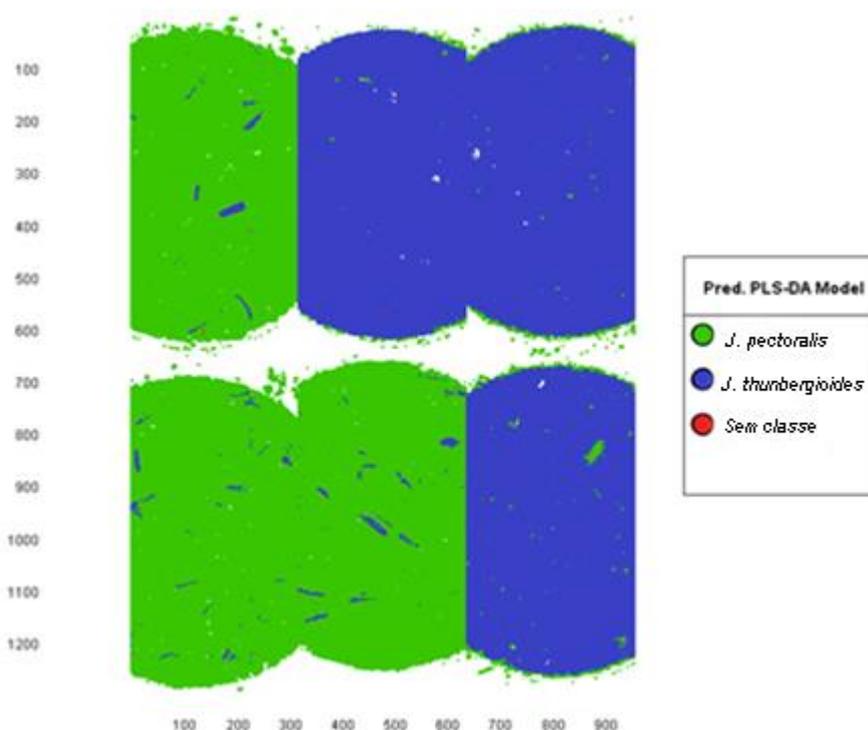


**Fonte:** Própria Autora, 2018.

Como resultado, a **Figura 12** mostra o resultado do modelo de classificação PLS-DA. É possível observar que o modelo conseguiu identificar as espécies de *J. pectoralis*, *J. thunbergioides* e uma terceira classe identificada como *No class* (não classificado). Tal classe *No class* é referente à pixels presentes na imagem que não pertence a nenhuma amostra. Estes pixels podem ser provenientes tanto dos batoques quanto da bandeja onde as amostras foram depositadas na hora da aquisição da imagem. Essas informações ruidosas permaneceram na imagem mesmo com a aplicação do pré-processamento com a PCA, mostrando que os resultados poderiam ser ainda melhores com a utilização de outros filtros. Vale ressaltar que tais ruídos são quase imperceptíveis visualmente, e não atrapalham a análise de classificação.

A partir da classificação PLS-DA, é possível afirmar a capacidade de HSI-SWIR de detectar adulteração de futuros produtos a base de *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*.

**Figura 12** - Resultado da classificação utilizando PLS-DA.



Fonte: Própria Autora, 2018.

Com base nas observações obtidas a partir da PCA e o PLS-DA verificou-se que o uso de imagens químicas HSI-SWIR para a análise qualitativa e diferenciação de espécies de *Justicia* é uma técnica visual promissora para o controle de qualidade de matérias-primas. Os materiais vegetais obtidos das folhas de *J. thunbergioides* e *J. pectoralis* foram distinguidos química e fisicamente. As principais vantagens da técnica de imagem hiperespectral quando comparada as metodologias convencionais, tais como, a cromatografia líquida, incluem a rapidez de análise, facilidade de aquisição das imagens, preparação simples, além de ser uma técnica não destrutiva. Como desvantagens é destacado a necessidade de pessoal especializado e o alto custo do equipamento.

Há trabalhos na literatura onde a imagem hiperespectral é usada como método de controle de qualidade para produtos comerciais contendo espécies vegetais, em trabalho de Sandasi et al. (2014) as análises da PCA mostraram uma clara distinção entre as amostras pulverizadas de raízes e folhas de espécies vegetais de *Echinaceae*. Em outro estudo, Tankeu et al. (2015) utilizou as imagens químicas HSI-SWIR para distinguir duas espécies de famílias diferentes *Stephania tetrandra* e *Aristolochia fangchi*.

Portanto, este é o primeiro relato da utilização desta técnica para o controle de qualidade de espécies da família Acanthacea, gênero *Justicia*.

#### 4.2 Teor de voláteis dos materiais vegetais

As matérias-primas vegetais armazenam determinada quantidade de água mesmo após o processo de secagem. Este valor está relacionado com a correta preparação e conservação destas. Dessa forma, é relevante o conhecimento da umidade em espécies vegetais após procedimento de secagem para serem evitadas contaminações com microrganismos e degradações por enzimas (COSTA, 2001). O teor de umidade é um parâmetro que pode interferir consideravelmente na estabilidade dos componentes ativos presentes na planta, uma vez que a água excessiva no material vegetal favorece a ação de enzimas cuja atividade pode levar à degradação de constituintes químicos, além de permitir o desenvolvimento de fungos e bactérias (FARIAS, 2010). Por este motivo a Farmacopeia Brasileira V (2010) estabelece limites aceitáveis de 8 a 14% de umidade para as drogas vegetais, em geral, com algumas exceções especificadas nas monografias. No presente estudo, a secagem do material pulverizado das folhas de *J. pectoralis* em estufa resultou em um teor de umidade de 12,7%, valor semelhante àqueles encontrados por Lima (2017) 8,76% e Vargem (2015) 8,04%. *J. thunbergioides* apresentou 11,3% de umidade, sendo que até o momento não há estudos comparativos para esta espécie. Ambas as espécies estão dentro dos limites recomendados pela Farmacopeia Brasileira V.

#### 4.3 Teor de cinzas totais

A determinação de cinzas totais permite a verificação de impurezas inorgânicas não voláteis, como as de origem fisiológica (carbonatos, fosfatos, cloretos e óxidos) e de origem não fisiológica (terra, areia, pedra e gesso), as quais podem estar presentes na droga vegetal (SIMÕES et al., 2017).

Fármacos vegetais, geralmente são falsificados pela adição de produtos de origem mineral em suas formulações. Quando o teor está acima do estabelecido para a maioria das espécies vegetais, indica que a droga vegetal está contaminada. (COSTA, 2001). Segundo a Farmacopéia Brasileira V (2010), o limite máximo de cinzas totais em uma matéria-prima vegetal deve ser determinado caso a caso.

O resultado de cinzas totais para a droga vegetal obtida a partir das folhas para *J. pectoralis* foi de 14,7 % e para *J. thunbergioides* de 8,5%. Estudo de Lima (2017) e

Vargem (2015) confirmam o valor encontrado para a somatória de cinzas fisiológicas e não fisiológicas da espécie *J. pectoralis* onde para Lima (2017) foi 12,26% e para Vargem (2015) 6,8%. Na literatura científica não há estudos de ensaios de teor de cinzas para a espécie *J. thunbergioides*, desta forma não há valores pré-estabelecidos ou comparativos para este parâmetro de controle de qualidade.

#### 4.4 Teor de cinzas insolúveis em ácido clorídrico

A determinação de cinzas insolúveis em ácido clorídrico visa avaliar separadamente a presença de cinzas que não são de origem fisiológica, como resíduos silicosos que em quantidade acima da estabelecida para a matéria prima vegetal indica contaminação por excesso de areia ou terra. Os insumos de origem natural normalmente apresentam teores inferiores a 1% para cinzas insolúveis em ácido clorídrico (SIMÕES et al., 2017).

O resultado de cinzas solúveis em ácido clorídrico para a droga vegetal obtida a partir das folhas de *Justicia pectoralis* foi de 0,48% e para *J. thunbergioides* de 0,92%. Em estudos de Vargem (2015) e Lima (2017) os valores encontrados foram de 0,14% e 0,79%, respectivamente, confirmando assim o valor encontrado para cinzas não fisiológicas em *J. pectoralis*.

#### 4.5 Triagem fitoquímica de *J. thunbergioides* e *J. pectoralis*.

A partir da prospecção fitoquímica realizada com as folhas de *J. thunbergioides* e *J. pectoralis* foram analisadas a presença de heterosídeos antraquinônicos, cumarinas, heterosídeos cardioativos (compostos terpênicos e esteroides), heterosídeos flavonoides (compostos fenólicos), alcalóides, taninos e saponinas.

Os resultados das reações de caracterização dos metabólitos secundários encontrados nas folhas das espécies vegetais *J. thunbergioides* Jacq e *J. pectoralis* encontram-se sumariados nos **Quadros 4**. Em *J. thunbergioides* pôde-se constatar, como principais metabólitos secundários: heterosídeos flavonoides, traços de taninos, saponinas além da presença de cumarinas.

**Quadro 4 - Reações de Caracterização dos Metabólitos Secundários das Folhas de *J. thunbergioides* e *J. pectoralis*.**

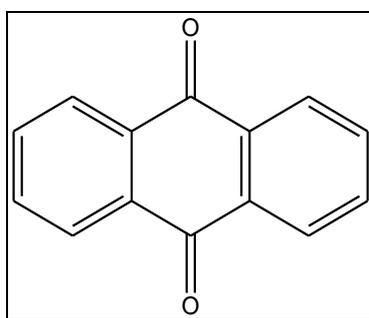
<i>Reação de caracterização</i>	<i>J. pectoralis</i>	<i>J. thunbergioides</i>
<b><i>Heterosídeos Antraquinônicos</i></b>		
1- Reação de Borntrager Indireta	+	-
<b><i>Heterosídeos Cardioativos (Compostos Terpênicos)</i></b>		
1-Reação de Liebermann-Burchard	+	+
2 - Reação de Pesez	+	+
3 - Reação de Keller-Kiliani	+	+
4 - Reação de Kedde	-	-
<b><i>Heterosídeos Flavonoides (Compostos fenólicos)</i></b>		
1 - Reação de Shinoda (cianidina)	+	+
2 - Reação Oxalo-Bórica	+	+
3- Reação com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> conc.	+	+
<b><i>(Compostos fenólicos)</i></b>		
4 - Reação com Hidróxidos Alcalinos	+	+
5 - Reação com AlCl <sub>3</sub>	+	+
6 - Reação com FeCl <sub>3</sub>	+	+
<b><i>Heterosídeos Saponínicos (saponinas)</i></b>	+	+
<b><i>Taninos</i></b>		
1 - Reação com Gelatina	-	+
2 - Reação com Sais de Alcaloides	-	-
3 - Reação com Sais Metálicos	/	+
4 - Reação com Hidróxidos Alcalinos	-	-
<b><i>Alcaloides</i></b>		
1 - Reativo de Mayer	+	+
2 - Reativo de Dragendorff	+	+
3 - Reativo de Bouchardat	+	+
4 - Reativo de Bertrand	+	+
5 - Reativo de Hager	+	+
6 - Ácido Tânico	+	+
<b><i>Cumarinas</i></b>	+	+

**Legenda:** Reação positiva (+); Reação negativa (-). **Fonte:** Própria Autora, 2018.

## PESQUISA DE HETEROSÍDEOS ANTRAQUINÔNICOS

As antraquinonas são quimicamente definidas como substâncias fenólicas derivadas da dicetona do antraceno (**Figura 13**). Segundo Simões et al. (2010), os fármacos de origem vegetal que contêm heterosídeos antraquinônicos são empregados desde a antiguidade como laxativos e purgativos. Os princípios ativos destes compostos possuem ação catártica, agem no aparelho digestório, mais precisamente na contração do músculo liso da parede do cólon e também no transporte de íons/absorção de água.

**Figura 13** - Estrutura básica de uma antraquinona (9,10-antraquinona)



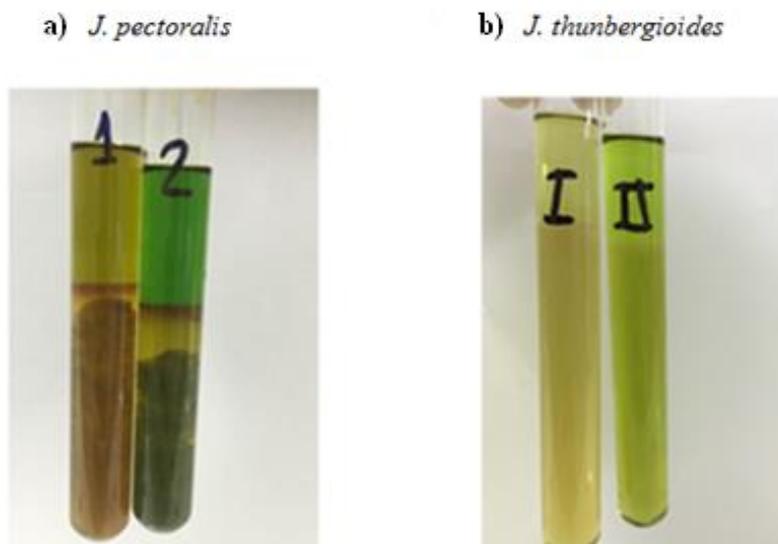
Fonte: SIMÕES et al., 2017.

Em diversos gêneros da família Acanthaceae, como em *Anisacanthus*, *Mendoncia* e *Ruelia* encontram-se quinonas, sendo essa ocorrência considerada uma característica quimiotaxonômica (SIMÕES et al., 2010; VARGEM, 2015).

Na prospecção fitoquímica da espécie *J. pectoralis* do presente estudo verificou-se a presença de heterosídeos antraquinônicos através do desenvolvimento de coloração rósea a vermelha na fase amoniacal (**Figura 14.a**). Isto ocorre porque em meio alcalino as quinonas hidroxiladas transformam-se nos ânions fenolatos correspondentes, os quais apresentam coloração rósea a vermelha (FALKENBERG, 2010). A Reação de Borntrager Indireta também foi positiva em estudos de Vargem (2015) Lima (2017) e Rodrigues (2017).

Em *J. thunbergioides* não foi observado a presença de heterosídeos antraquinônicos (**Figura 14b**), pois não houve formação de coloração rósea a vermelha na fase amoniacal. No trabalho de Peixoto (2013), esse metabólito secundário também não foi verificado.

**Figura 14** Reações de Caracterização dos Heterosídeos Antraquinônicos (Reação de Borntrager Indireta) em: (a) *J. pectoralis* e em (b) *J. thunbergioides*.

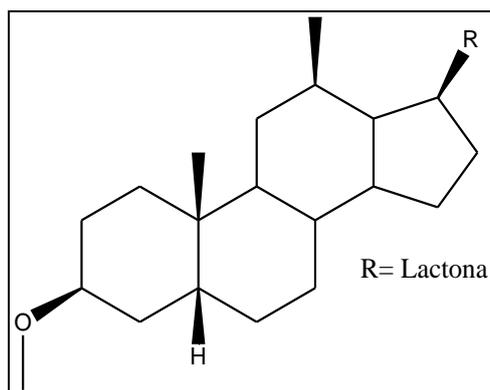


Fonte: Própria autora, 2018.

## PESQUISA DE HETEROSÍDEOS CARDIOATIVOS

Heterosídeos cardioativos são moléculas complexas formadas por um anel lactônico, um núcleo esteroidal e resíduos de açúcar (**Figura 15**). São utilizados como diurético e tônico cardíaco sendo recomendados para tratamento de insuficiência cardíaca congestiva. Segundo Simões et al. (2010) a distribuição de heterosídeos cardioativos é restrita e esporádica, isto é, ocorrem em algumas dezenas de gêneros, distribuídos desigualmente em várias famílias botânicas, mostrando ser um excelente marcador químico e taxonômico.

Neste estudo não foi verificada a presença de heterosídeos cardioativos nas folhas das espécies de *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*. As reações de Liebermann-Burchard, reação de Pesez, reação de Keller-Kiliani foram positivas porem a reação de Kedde que é específica para detecção do anel lactônico foi negativa.

**Figura 15** - Estrutura básica dos heterosídeos cardioativos

Fonte: SIMÕES et al., 2017.

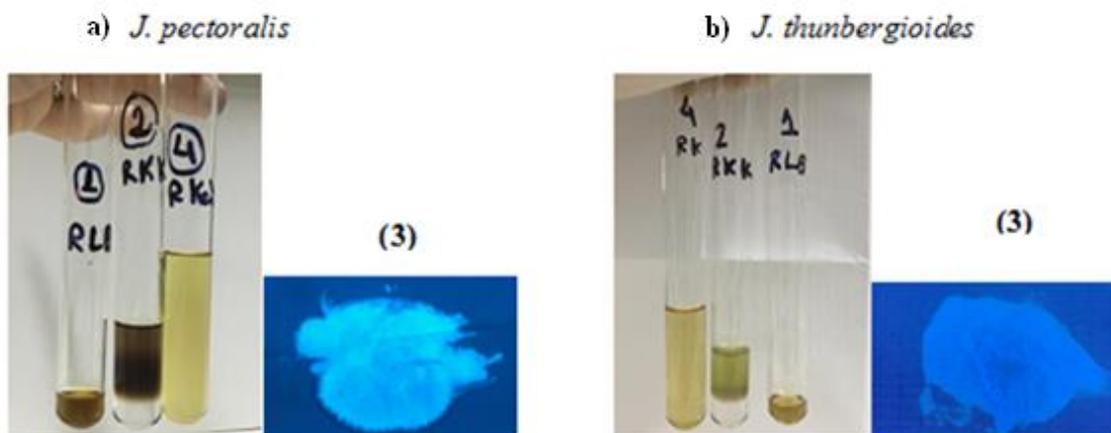
Na Reação de Liebermann-Burchard o desenvolvimento de coloração acastanhada a esverdeada indica reação positiva para esteroides/triterpenos. O reagente de Liebermann-Burchard promove desidratações e desidrogenações no núcleo fundamental esteroide resultando em derivados com ligações duplas conjugadas, portanto corados (COSTA, 2001). Esse resultado foi positivo para as espécies *J. pectoralis* e *J. thunbergioides* conforme observado nas **Figuras 16.1a e 16.1b**.

A reação de Pesez também é utilizada para caracterização do núcleo esteroide. A presença de fluorescência amarela ou verde, sob luz ultravioleta (365nm), indica reação positiva (MATOS; MATOS, 1989). Foram observadas nesta reação forte fluorescência verde em ambas as espécies (*J. pectoralis* e *J. thunbergioides*), caracterizando a presença do núcleo esteroide (**Figuras 16.3a e 16.3b**).

A reação de Keller-Kiliani detecta desoxi-açúcares através do desenvolvimento de coloração castanho-avermelhada na zona de contato (COSTA, 2001). Esta reação também foi positiva para ambas as espécies com o desenvolvimento de um anel de coloração castanha na zona de contato, indicando presença de desoxiaçúcares ligados a estrutura triterpênica (**Figuras 16.2a e 16.2b**).

A reação de Kedde é específica para detecção do anel lactônico. A coloração castanho-avermelhada a vermelho-violeta indica reação positiva para heterosídeos cardioativos (COSTA, 2001). Essa reação foi negativa para ambas as espécies (*J. pectoralis* e *J. thunbergioides*), pois a solução extrativa não apresentou as colorações específicas (**Figuras 16.4a e 16.4b**).

**Figura 16** - Reações de caracterização de heterosídeos cardioativos em *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*: Reação de Liebermann-Burchard (1), Reação de Keller-Kiliani (2), Reação de Pesez (3), Reativo de Kedde (4).



Fonte: Própria autora, 2018.

Devido as colorações observadas nas reações descritas, pôde-se concluir que não há a presença de heterosídeos cardioativos em *J. thunbergioides* e *J. pectoralis* pois a reação de Kedde é específica para detecção do anel lactônico foi negativa.

Nos estudos de Lima (2017) e Rodrigues (2017) as reações foram positivas para *J. pectoralis*, sendo que, em trabalho de Vargem (2015) foram observados apenas traços desta classe de metabólitos secundários. No estudo de Peixoto (2013) a presença de heterosídeos cardioativos em *J. thunbergioides* foi positiva.

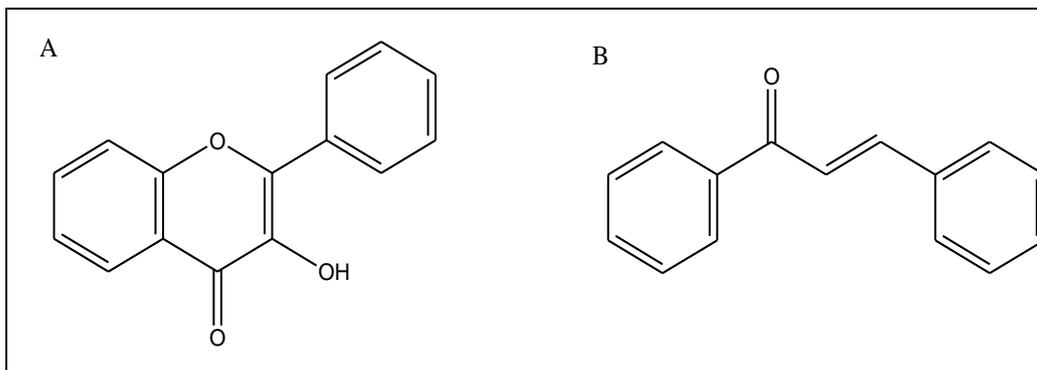
## PESQUISA DE FLAVONOIDES

Outro grupo de metabólitos secundários encontrados nas folhas de ambas as espécies (*J. thunbergioides* e *J. pectoralis*) foram os flavonoides. Estes ocorrem nas plantas em uma variedade de formas estruturais, todos contendo 15 átomos de carbono em seu núcleo básico. Os flavonoides são substâncias redutoras derivados das chalconas e de compostos químicos com esqueletos do tipo flavonas, flavonóis, antocianidinas e catequinas, entre outros (Figura 17) (GALVÃO, 2015).

Os flavonoides são uma classe muito extensa de produtos naturais distribuídos no reino vegetal e representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados. Estão presentes em todas as partes das plantas, desde raízes até as flores e frutos.

Ocorrem de forma livre (aglicona) ou ligados a açúcares (glicosídeos). Essa ampla classe de substâncias possui importantes propriedades farmacológicas que atuam sobre o sistema biológico, tais como, ação antioxidante, anti-inflamatória, antialérgica, antiviral e anticarcinogênica (GALVÃO, 2015; VILA, 2006).

**Figura 17** - Estruturas básicas de compostos flavônicos. A-flavona; B-chalcona.



Fonte: SIMÕES et al., 2017.

Para a caracterização e pesquisa de heterosídeos flavonoides em *J. pectoralis* e *J. thunbergioides* foram realizadas reações específicas para flavanoides (reações de Shinoda, reação com ácido sulfúrico concentrado e reação oxalo-bórica e reações específicas para compostos fenólicos em geral (reação com hidróxidos, reação com cloreto de alumínio e reação com cloreto férrico).

Na reação de Shinoda o aparecimento de coloração marrom escura indica reação positiva para heterosídeos flavonoides. Nessa reação, os derivados flavônicos, que têm cor amarelada, em presença de meio ácido, (tais como HCl conc.), são reduzidos apresentando coloração marrom escura. Chalconas e isoflavonas não desenvolvem cor nesse ensaio (ZUANAZZI; MONTANHA, 2010). Essa reação foi positiva para ambas as espécies (*J. thunbergioides* e *J. pectoralis*), pois as soluções extrativas apresentaram coloração marrom escura (**Figura 18.1a** e **Figura 18.1b**).

A presença de heterosídeos flavônicos na amostra, promove o desenvolvimento de coloração amarela na reação de hidróxidos alcalinos (COSTA, 2001). Essa reação foi positiva para ambas as espécies (*J. thunbergioides* e *J. pectoralis*) com o desenvolvimento de uma coloração amarelada esverdeada (**Figura 18.2a** e **18.2b**).

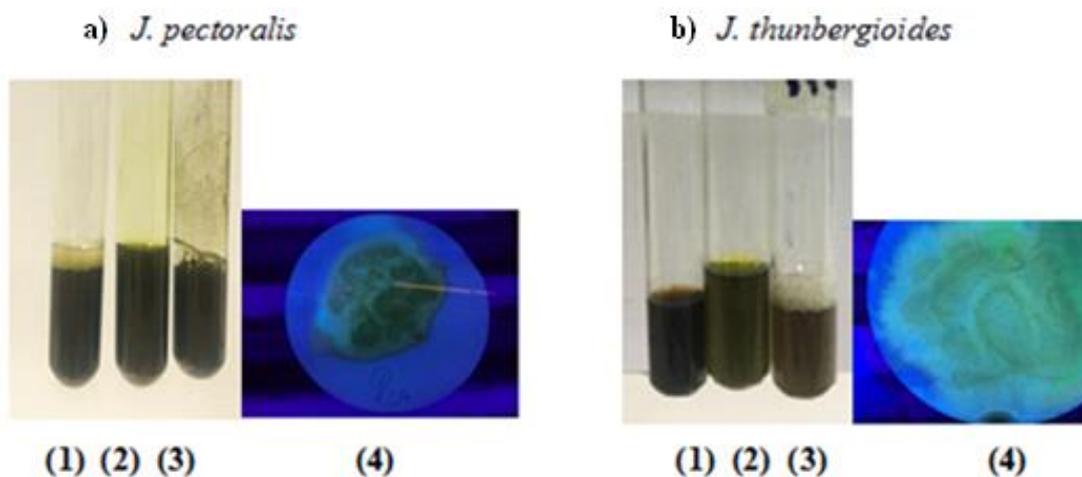
Segundo Zuanazzi e Montanha (2010), muitos compostos fenólicos na presença de cloreto férrico desenvolvem coloração azul, verde, marrom ou vermelho. Neste estudo, ambas as espécies apresentaram coloração verde enegrecida na reação com

cloreto de alumínio (**Figura 18.3a e 18.3b**).

A reação com cloreto de alumínio também é utilizada para a caracterização de hidroxilas fenólicas. Neste caso, o cloreto de alumínio forma complexos com hidroxilas vizinhas ou hidroxilas e carbonilas vizinhas nos derivados flavonoides. Tais complexos apresentam fluorescência que vai do amarelo ao azul-esverdeado quando observados sob luz ultravioleta 365 nm (COSTA, 2001). Nesta pesquisa, as reações com cloreto de alumínio foram positivas por apresentarem fluorescência amarela-esverdeadas quando observadas sob comprimento de onda de 365 nm para ambas as espécies (**Figura 18.4a e 18.4b**).

Para confirmar a presença do núcleo fundamental benzopirano, realizou-se também as reações com ácido sulfúrico concentrado e oxalo-bórica.

**Figura 18** - Reações de caracterização dos flavonoides em *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*: reação de Shinoda (1), reação com hidróxidos alcalinos (2), reação com cloreto férrico (3) e reação com cloreto de alumínio (4).

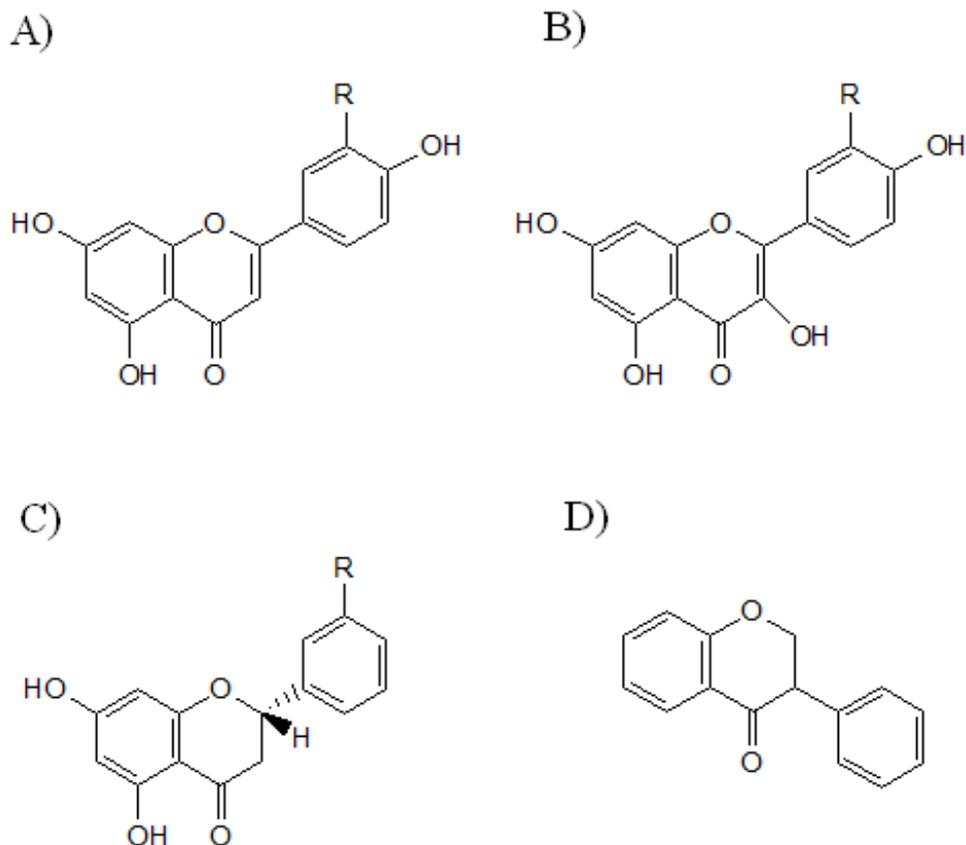


Fonte: Própria autor, 2018.

Costa (2001), afirma que os flavonoides da amostra, na presença de ácido bórico e ácido oxálico, formam complexos cromóforos que apresentam fluorescência verde ligeiramente amarelada sob luz ultravioleta. Isso ocorre porque quando se utiliza ácido oxálico, os flavonóis com hidroxila livre em C-3 originam compostos corados de amarelo-esverdeado solúveis em éter, com fluorescência perceptível. Esta reação é exclusiva de flavonóis, os outros compostos (flavonas, flavanonas e isoflavonas) podem corar-se, mas não apresentam fluorescência (**Figura 19**) (ZUANAZZI; MONTANHA, 2010). Essa reação se mostrou positiva para ambas as espécies com fluorescência verde

ligeiramente amarelada sob luz ultravioleta (**Figura 20.5a e 20.5b**).

**Figura 19** - Estrutura de Flavona (A); Flavonol (B); Flavonona (C) e Isoflavonona (D).

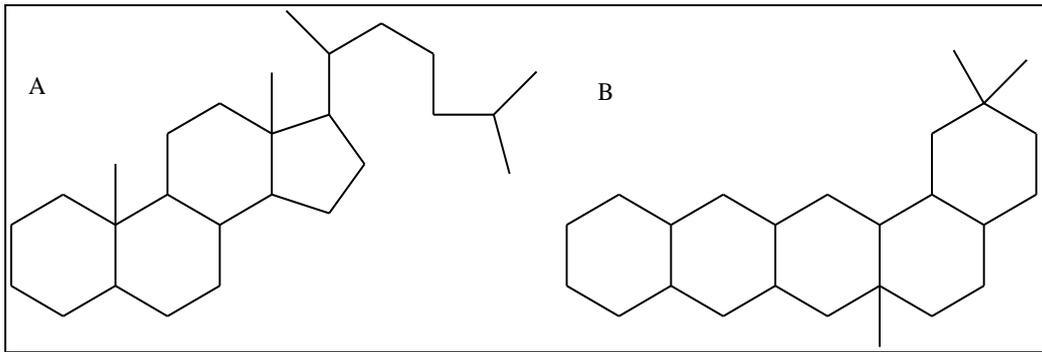


Fonte: ZUANAZZI; MONTANHA, 2010.

Na presença de ácido sulfúrico concentrado os compostos flavônicos formam sais de oxônio. Estes sais apresentam fluorescência variável (amarela ou verde), conforme a posição do íon oxônio, quando expostos à luz ultravioleta (ZUANAZZI; MONTANHA, 2010). Neste estudo, foi observada o desenvolvimento de fluorescência verde, sob luz ultravioleta e comprimento de onda 365 nm, indicando reações positivas para heterosídeos flavonoides tanto em *J. pectoralis* quanto em *J. thunbergioides* (**Figura 20.6a e Figura 20.6b**).



**Figura 21** - Estruturas básicas das saponinas. A - Saponina esteroidal; B - Saponina triterpênica



Fonte: SIMÕES et al., 2017.

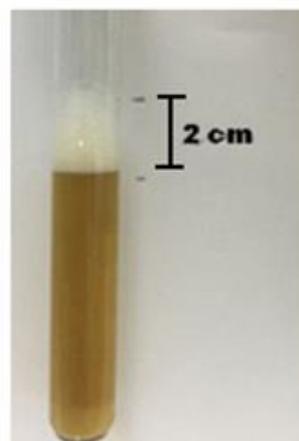
A presença de saponinas em amostras vegetais é constatada pela formação de aproximadamente 1 cm de espuma persistente durante 15 minutos, após agitação vigorosa por 20 segundos, em pelo menos um dos dez tubos contendo diferentes diluições (SIMÕES et al., 2017). Neste estudo, observou-se a formação de espuma persistente durante 15 minutos de experimento, após agitação vigorosa por 20 segundos. Portanto, sugere-se a presença de saponinas na amostra de *J. thunbergioides* e *J. pectoralis* nos testes realizados (Figuras 22.1 e 22.2).

**Figura 22** - Reações de caracterização das saponinas em *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*.

(1) *J. pectoralis*



2) *J. thunbergioides*



Fonte: Própria autora, 2018.

A presença de espuma com aproximadamente 2 cm foi observada na maioria dos tubos testes na reação de caracterização de saponinas no decocto das folhas de *J.*

*thunbergioides* (**Figura 22.2**). No trabalho de Peixoto (2013), por outro lado, não foi detectada a presença de saponinas.

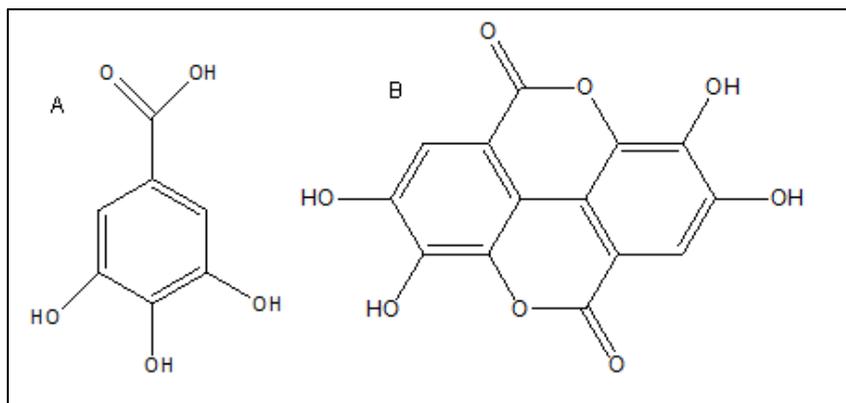
Para *J. pectoralis*, foi observada a presença de espuma com 1 cm em um dos tubos, sugerindo assim a presença de saponinas nas amostras (**Figura 22.1**). Da mesma maneira, Vargem (2015) relatou a presença destes metabólitos secundários nas folhas de *J. pectoralis* coletadas na Universidade Estadual de Goiás, município de Anápolis-Goiás. Chanfrau et. al.; (2008) também verificaram a presença de saponinas nos extratos de *J. pectoralis* Jacq., coletadas no Peru e em Cuba. Por outro lado, estas não foram observadas por Rodrigues (2017) nas folhas de *J. pectoralis* coletadas na área de cultivo do Horto Medicinal do centro universitário de Anápolis-Go, UniEvangélica e Lima (2017) coletadas na Universidade Estadual de Goiás, município de Anápolis-Goiás.

Estas variações observadas nos resultados tanto para *J. pectoralis* quanto para *J. thunbergioides* podem ser devidas as diferenças dos parâmetros climáticos e geográficos, como temperatura, altitude, pluviosidade, tipo de solo assim como o preparo e armazenamento adequado dos materiais vegetais.

## PESQUISA DE TANINOS

A maioria dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, mas sob forma de heterosídeos sendo, portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares. Por serem fenólicos, os taninos são muito reativos quimicamente, formam ligações de hidrogênio, intra e intermoleculares (**Figura 23**). Um mol de taninos pode ligar-se a doze mols de proteínas; fundamentando-se nessa propriedade pode-se identificar taninos, por exemplo, por teste de precipitação de gelatinas. Estes compostos são facilmente oxidáveis, tanto através de enzimas vegetais específicas quanto por influência de metais, como cloreto férrico, o que ocasiona o escurecimento de suas soluções, sendo esses os mais comuns (MONTEIRO, 2005).

**Figura 23** - Estruturas básicas dos taninos. A – ácido gálico; B – ácido elágico



Fonte: SIMÕES et al., 2017

Acredita-se que as atividades farmacológicas dos taninos são devidas, pelo menos em parte, a três características gerais que são comuns em maior ou menor grau aos dois grupos de taninos, condensados e hidrolisáveis: 1) complexação com íons metálicos (ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio, entre outros), 2) atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e 3) habilidade de complexar com outras moléculas incluindo macromoléculas tais como proteínas e polissacarídeos (RODRIGUES, 2017).

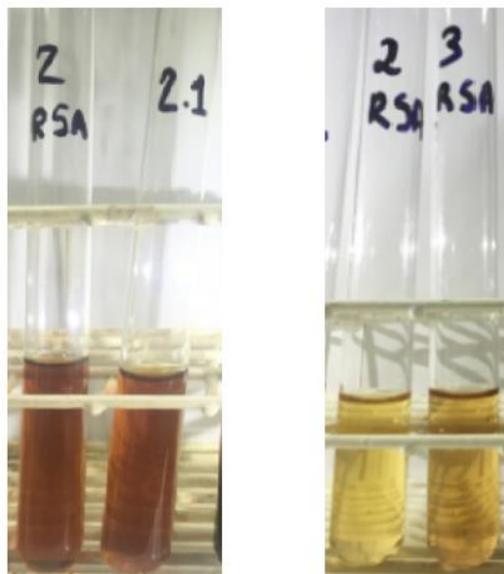
A pesquisa de taninos em *J. pectoralis* e *J. thunbergioides* foi realizada através das reações com gelatina, com sais de alcaloides, com sais metálicos e com hidróxidos alcalinos.

Nas reações com sais de alcaloides a presença de precipitado indica a existência de taninos na amostra, pois as hidroxilas fenólicas dos taninos reagem com os grupamentos amins dos alcaloides formando substâncias insolúveis (COSTA, 2001). Neste estudo, essas reações foram negativas para ambas as espécies vegetais (**Figura 24.a e 24.b**).

**Figura 24** - Reações com sais de alcaloides em *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*.

a) *J. pectoralis*

b) *J. thunbergioides*

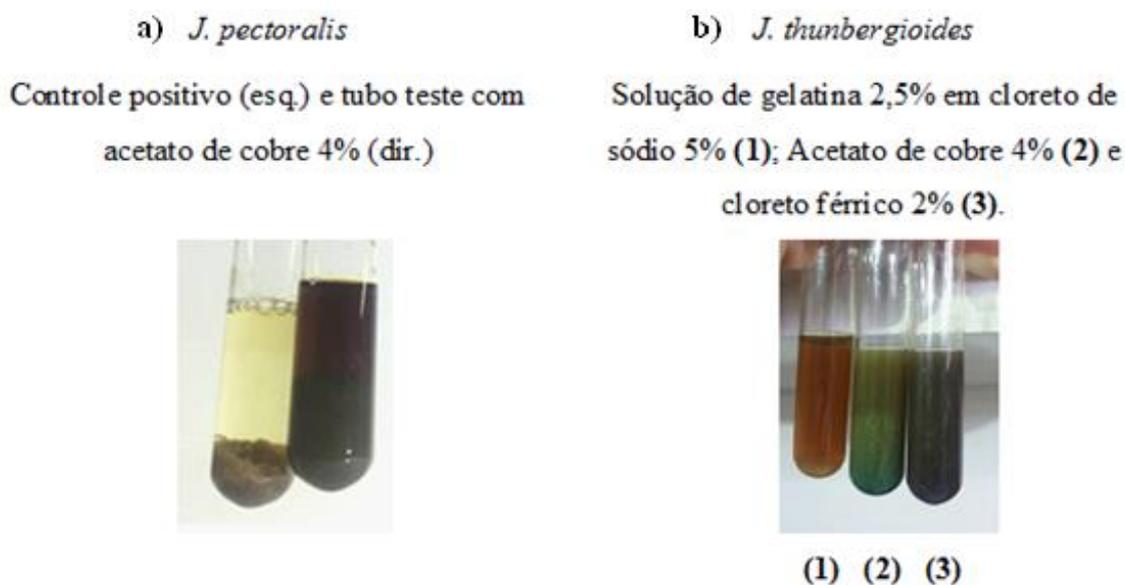


**Fonte:** Própria autora, 2018.

Quando taninos reagem com a gelatina formam-se ligações de hidrogênio entre as hidroxilas fenólicas dos taninos e os grupamentos amidas das proteínas, além de interações hidrofóbicas e algumas ligações covalentes, responsáveis pelo aparecimento de um precipitado (SANTOS e MELO, 2010). A reação com gelatina foi positiva apenas para a espécie *J. thunbergioides* onde foi possível observar um precipitado (**Figura 25.1b**).

Nas reações com sais metálicos a presença de taninos é evidenciada pela formação de precipitados nas amostras. O aparecimento de precipitado ocorre quando os taninos reagem com sais de metais pesados como cobre, ferro, zinco, dentre outros, formando fenatos insolúveis. Os fenatos férricos apresentam coloração enegrecida (COSTA, 2001). A reação com acetato de cobre a 4% e cloreto férrico a 2% foram positivas para a espécie *J. thunbergioides* (**Figura 25.2b e 25.3b**). Já para a espécie *J. pectoralis* apenas na reação com acetato de cobre a 4% houve precipitação (**Figura 25.a dir.**).

**Figura 25** - Reações de caracterização de taninos em *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*.



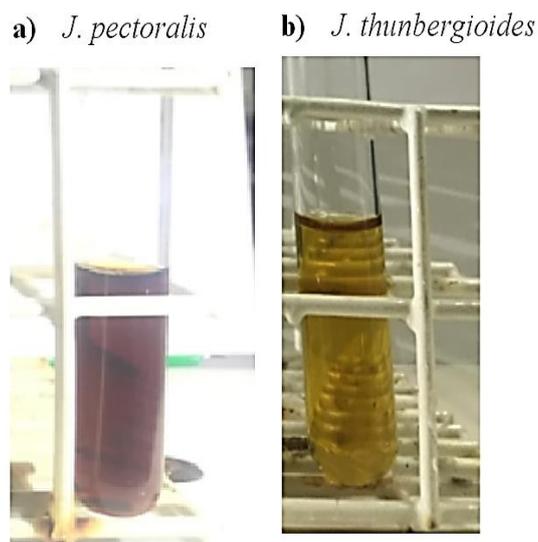
Fonte: Própria autora, 2018.

Nas reações com hidróxidos alcalinos a presença de taninos é evidenciada pela formação de precipitado e presença de fenatos solúveis na solução. Os fenatos férricos apresentam coloração enegrecida. Na reação com hidróxidos há uma mudança de coloração da solução (escurecimento) caracterizada pela presença de fenatos solúveis formados pela reação de grupos fenólicos dos taninos com os hidróxidos (COSTA, 2001). Essas reações foram negativas para ambas as espécies vegetais (**Figura 26.a e Figura 26.b**).

Desta maneira, foi possível verificar traços de taninos em *J. thunbergioides*. Em trabalho de Peixoto (2013) esse metabólito secundário foi verificado.

Em *J. pectoralis* não foi verificada a presença desse metabólito. Em trabalhos de Lima (2017); Rodrigues (2017) e Vargem (2015) esse metabólito também não foi verificado.

**Figura 26** - Reações com hidróxidos alcalinos em *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*.



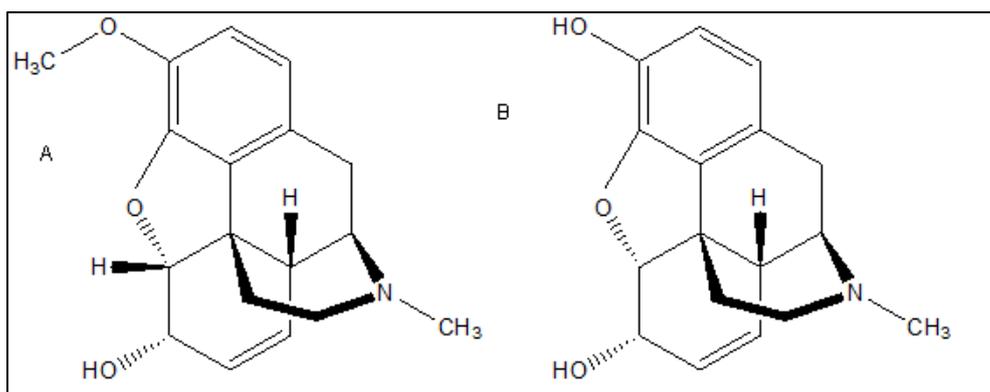
**Fonte:** Própria autora, 2018.

## PESQUISA DE ALCALOIDES

Os alcaloides *são* aminas cíclicas que possuem anéis heterocíclicos contendo nitrogênio. São produzidos a partir de aminoácidos e possuem grande importância farmacológica, uma vez que apresentam diversas atividades biológicas em seres humanos e animais, como, por exemplo, alcaloides indólicos monoterpênicos que atuam como depressores cardíaco, diuréticos, tranquilizantes ou afrodisíacos (**Figura 27**), (SIMÕES, 2007).

Acredita-se que os alcaloides atuem também como reserva da síntese de proteínas, estimulantes ou reguladores do crescimento, sendo ainda, agentes finais da desintoxicação e da transformação simples de outras substâncias, cujo acúmulo pode ser nocivo ao vegetal. Eles também correspondem às principais ações terapêuticas naturais como: anestésica, analgésica, psico-estimulantes, neuro-depressores, entre outras (CARLOS, 2007).

**Figura 27** - Estruturas básicas dos alcaloides. A – Codeína; B – Morfina.



Fonte: SIMÕES et al., 2017.

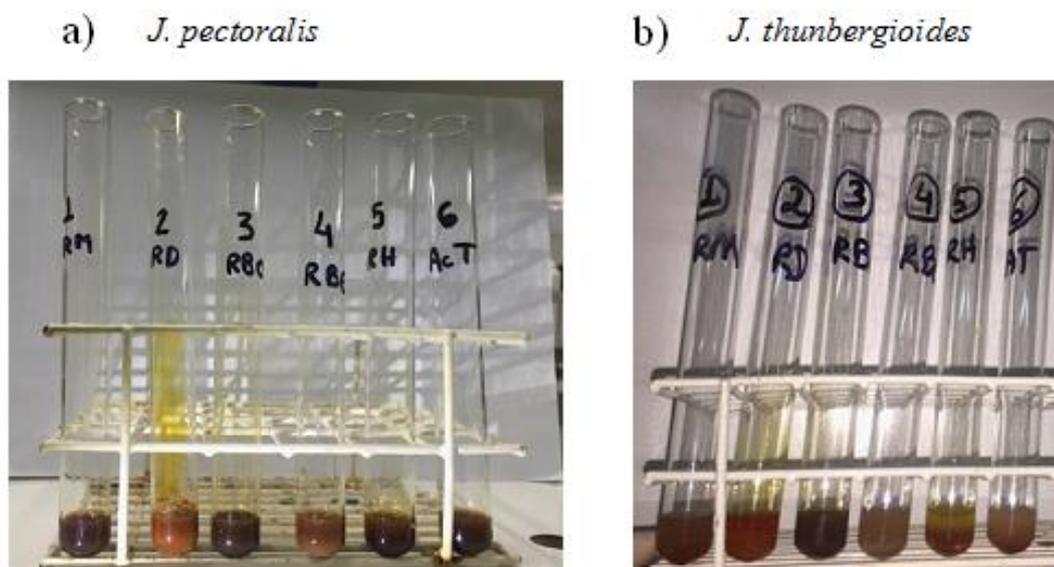
Verificou-se a presença de alcaloides nos extratos secos das folhas de *J. pectoralis* e *J. thunbergoides* utilizando os seguintes reagentes gerais: reativo de Mayer, reativo de Dragendorff, reativo de Bouchardat, reativo de Bertrand, reativo de Hager e ácido tânico.

Os reagentes iodados (Mayer, Dragendorff e Bouchardat) precipitam os alcaloides de soluções ácidas sob a forma de poliiodetos complexos. Os poli-ácidos minerais complexos (reativo de Bertrand) precipitam os alcaloides em meio ácido ou neutro na forma de substâncias amorfas ou cristalinas. Os reativos à base de ácidos orgânicos (reativo de Hager e ácido tânico a 1%) precipitam os alcaloides de soluções ácidas ou neutras formando compostos cristalinos que se dissolvem na presença de álcalis (COSTA, 2001).

A pesquisa de alcaloides nas amostras pulverizadas das folhas de *J. pectoralis* e *J. thunbergoides*, resultou em precipitação das soluções em todos os tubos (Reativo de Mayer, Reativo de Dragendorff, Reativo de Bouchardat, Reativo de Bertrand, Reativo de Hager e Ácido tânico) indicando assim reação positiva para esse metabólito secundário (**Figuras 28.a e 28.b**).

Segundo Simões (2010) o teor de alcaloides em vegetais pode variar de acordo com seu desenvolvimento vegetativo e com a época do ano. Estudos de Peixoto (2013) não foi verificada a presença deste metabólito secundário na espécie *J. thunbergoides* coletadas no Parque Estadual Serra dos Pireneus, Pirenópolis-Go, no período de agosto a setembro de 2012. Já a espécie deste estudo foi coletada em maio de 2016.

**Figura 28** - Reações de caracterização de alcalóides em *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*: Reativo de Mayer (1), Reativo de Dragendorff (2), R. de Bouchardat (3), R. de Bertrand (4), R. de Hager (5) e Acido Tânico (6).



Fonte: Própria autora, 2018.

Em estudo de Vargem (2015), Rodrigues (2017) e Lima (2017) não foi verificada a presença de alcalóides em *J. pectoralis*, no entanto Duke (1987) relata a presença de alcalóides (triptaminas) em baixas concentrações nesta espécie, o que possivelmente justificaria o potencial alucinógeno da planta, que é utilizada como “rapés” por algumas tribos indígenas na América do Sul.

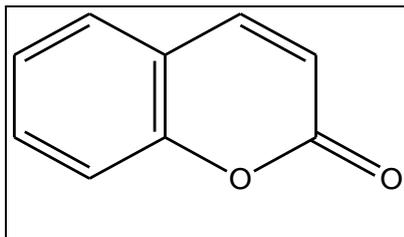
## CUMARINAS

A cumarina é um grupo heterocíclico encontrada em numerosas espécies de plantas com potencial farmacológico (**Figura 29**). As cumarinas são majoritariamente encontradas em *Justicia pectoralis*, sendo responsável pela ação terapêutica (FONSECA et al., 2010). Devido à sua capacidade para potenciar a atividade proteolítica dos macrófagos, têm sido indicadas para o tratamento de pacientes com linfedema, enquanto que seus derivados, tais como *umbeliferona* (UMB), possuem numerosas propriedades farmacológicas específicas, incluindo ação anti-inflamatória, hipoglicemiantes e hipolipemiantes (CLODIUS, PILLER, 1978; LINO et al., 1997;

RAMESH; PUGALENDI, 2005).

A presença de cumarinas é apontada como marcador químico da espécie *J. pectoralis* sendo comumente relatados em ensaios de triagem fitoquímica, cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia a líquido de alta eficiência (VARGEM, 2015; RODRIGUES, 2017; LIMA, 2017).

**Figura 29** - Estrutura básica de uma cumarina.



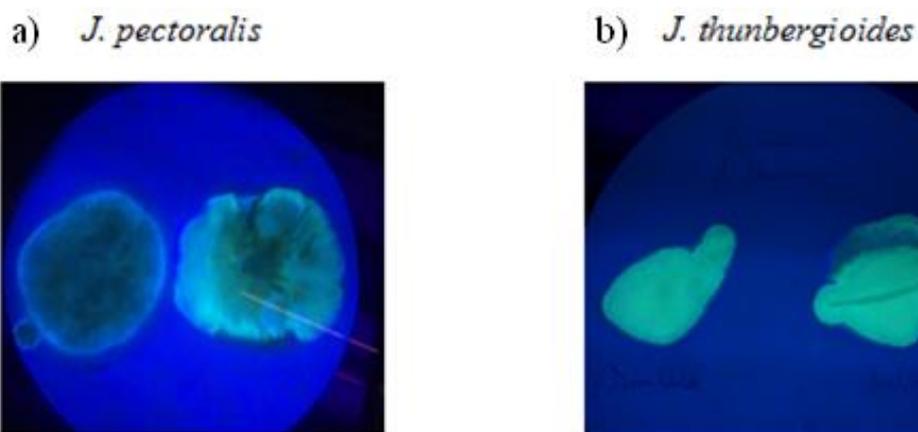
Fonte: SIMÕES et al., 2017.

Na reação de caracterização de cumarinas para as espécies vegetais *J. pectoralis* e *J. thunbergioides* foi observado que, na região do papel de filtro contendo a fase etérea e uma gota de NaOH 1N formou-se fluorescência amarelo-esverdeado sob comprimento de onda 365 nm (**Figuras 30.a e 30.b**), indicando reação positiva para cumarinas, de acordo com COSTA (2001).

Em solução alcalina, as cumarinas desenvolvem cor amarela, devido ao rompimento do anel lactônico. Peixoto (2013) confirma a presença deste metabólito através de prospecção fitoquímica das folhas de *J. thunbergioides*. Estudos de Vargem (2015), Lima (2017) e Rodrigues (2017) confirmam os resultados obtidos para a espécie *J. pectoralis*.

As cumarinas são componentes importantes na constituição das folhas de *J. pectoralis*, sendo considerado um marcador químico da mesma, tendo grande importância na sua atividade biológica. Esse metabólito também foi identificado a partir da prospecção fitoquímica nas folhas de *J. thunbergioides* podendo ser um possível marcador químico para essa espécie.

**Figura 30** - Reações de caracterização de cumarinas em *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*



**Fonte:** Própria autora, 2018.

O perfil de metabólitos secundários encontrados para a espécie *J. thunbergioides* deste estudo não apresenta semelhança ao estudo de Peixoto (2013). No **Quadro 5** é possível observar que houve similaridade para heterosídeos antraquinônicos, flavonóides e cumarinas, os resultados encontrados para os demais metabólitos secundários foram divergentes.

**Quadro 5** - Comparação com dados da literatura das principais classes de metabólitos secundários detectados nas folhas de *J. thunbergioides*.

Classe Química	<i>J. thunbergioides</i> (AUTOR, 2018)	<i>J. thunbergioides</i> (PEIXOTO, 2013)
Antraquinonas	-	-
Cardioativos	-	+
Flavonoides	+	+
Saponinas	+	-
Taninos	/	+
Alcaloides	+	-
Cumarinas	+	+

**Legenda:** Reação positiva (+) ; Reação negativa (-); Não realizado (/). **Fonte:** Própria autora, 2018.

Através da prospecção fitoquímica realizada com as folhas de *J. pectoralis* Jacq. pôde-se constatar, como principais metabólitos secundários, a presença de heterosídeos antraquinônicos, flavonoides, compostos fenólicos, saponinas e cumarinas. O perfil de

metabólitos secundários encontrados para a espécie *J. pectoralis* deste estudo não apresenta semelhança aos estudos de Vargem (2015), Rodrigues (2017) e Lima (2017). No **Quadro 6** é possível observar que todos os autores verificaram a presença de heterosídeos antraquinônicos e cumarinas, os resultados encontrados para os demais metabólitos secundários foram divergentes.

**Quadro 6** - Comparação com dados da literatura das principais classes de metabólitos secundários detectados nas folhas de *J. pectoralis* Jacq.

CLASSE QUÍMICA	<i>J. pectoralis</i> (AUTOR)	<i>J. pectoralis</i> (LIMA, 2017)	<i>J. pectoralis</i> (RODRIGUES, 2017)	<i>J. pectoralis</i> (VARGEM, 2015)
Antraquinonas	+	+	+	+
Cardioativos	-	+	+	Traços
Flavonoides	+	+	+	Traços
Saponinas	+	-	-	+
Taninos	-	-	-	-
Alcaloides	+	-	-	-
Cumarinas	+	+	+	+

**Legenda:** Reação positiva (+); Reação negativa (-). **Fonte:** Própria Autora.

A produção de metabólitos secundários pela planta ocorre em função da interação planta *versus* ambiente em resposta a fatores químicos (pH, temperatura, pH e umidade) e biológicos (água, solo e fotossíntese), nutrientes do solo, poluição atmosférica, altitude, indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos, assim como horário de coleta e modo de preparo do material vegetal para análise (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; SIMÕES, 2017). Este fato pode explicar a diferença no perfil químico, de uma mesma espécie, encontrado através de estudo fitoquímico de um autor para outro.

#### 4.6 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre (DPPH) para *J. thunbergioides*.

Sabe-se que a atividade antioxidante está relacionada à presença de grupos hidroxila em metabólitos secundários, tais como, taninos, flavonoides e alguns compostos voláteis (KUNZ, 2007). Neste estudo e também confirmado por Peixoto (2013) foi verificada a presença de flavonoides em *J. thunbergioides* através de prospecção fitoquímica e, portanto, a atividade antioxidante foi investigada através da

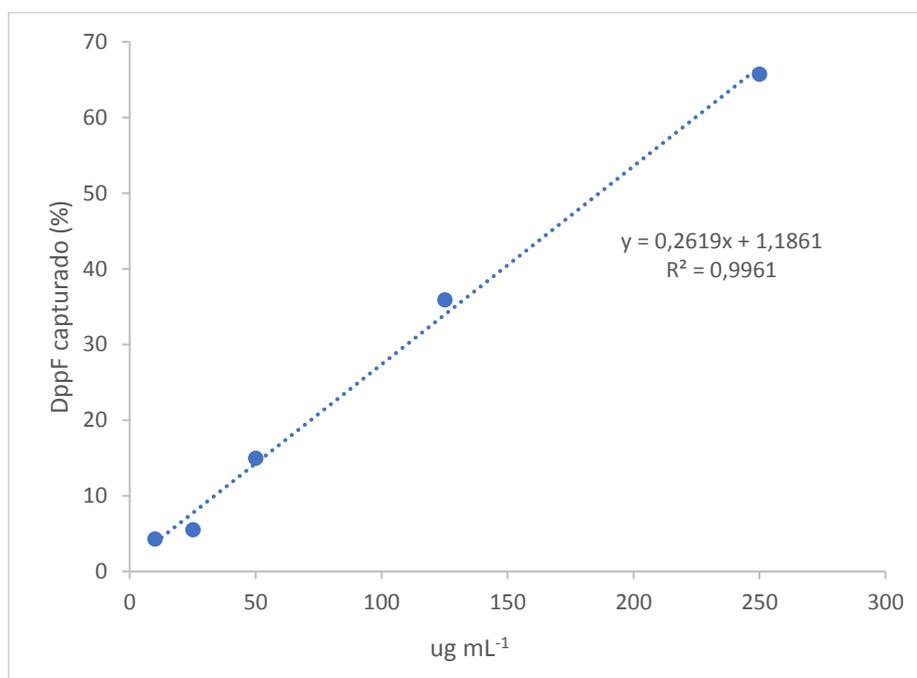
utilização da metodologia que utiliza a captura do radical livre 2,2-difenil-picril-hidrazila - DPPH (item 3.7).

Determinou-se a porcentagem de atividade antioxidante (%AA) correspondente à quantidade de DDPH consumida pelo antioxidante. Sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, denominada concentração inibitória (IC<sub>50</sub>).

A correlação linear  $R^2 = 0,9961$  representa a linearidade da reta, o qual deve-se apresentar um valor de pelo menos 0,99. O  $R^2$ , mostra que a reta teve uma linearidade de aproximadamente 99% para o extrato hexânico de *J. thunbergioides*, assim como para os outros dois extratos (diclorometânico e metanólico) (Figura 31, Figura 32 e Figura 33).

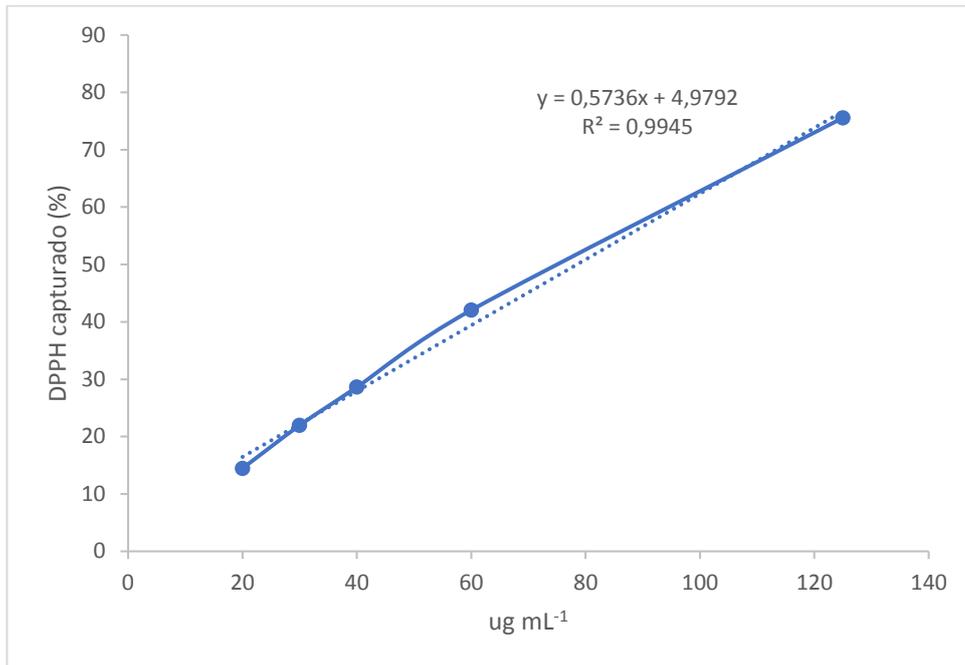
O extrato hexânico apresentou IC<sub>50</sub>= 186,38 µg/mL calculado através da equação de reta:  $y = 0,2619x + 1,1861$  (Figura 31). Para o extrato diclorometânico foi obtido IC<sub>50</sub>= 78,5 µg/mL (Figura 32) e para o extrato metanólico apresentou IC<sub>50</sub> de 3,2 µg/mL (Figura 33).

**Figura 31** - Concentração inibitória (IC<sub>50</sub>) do extrato hexânico frente ao radical DPPH.



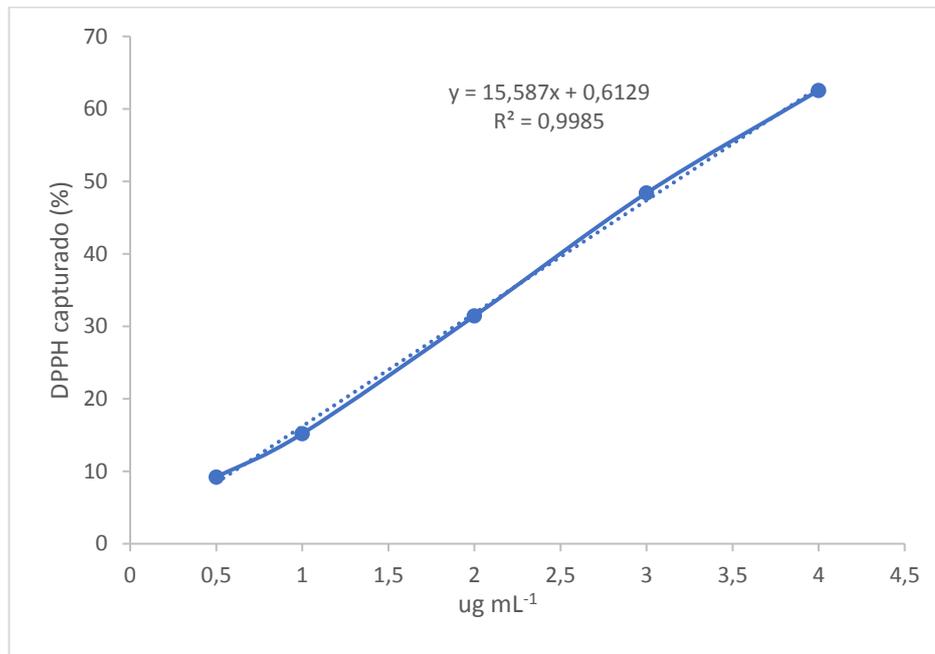
Fonte: Própria Autora, 2018.

**Figura 32** - Concentração inibitória (IC<sub>50</sub>) do extrato diclorometânico frente ao teste antioxidante com radical DPPH.



Fonte: Própria Autora, 2018.

**Figura 33** - Concentração inibitória (IC<sub>50</sub>) do extrato metanólico frente ao radical DPPH.



Fonte: Própria Autora, 2018.

Baseado da concentração inibitória ( $IC_{50}$ ), assim como no index de atividade antioxidante (AAI), os três extratos (hexânico, diclorometânico e metanólico) de *J. thunbergioides* apresentaram atividade antioxidante (**Tabela 2**), sendo que o extrato metanólico mostrou uma maior atividade antioxidante em comparação com os extratos hexânico e diclorometânico.

Scherer et al. (2009), considera que os extratos vegetais apresentam baixa atividade antioxidante quando  $AAI < 0,5$ , moderada atividade antioxidante quando AAI é entre 0,5 e 1,0, forte atividade antioxidante quando AAI é entre 1,0 e 2,0, e muito forte quando  $AAI > 2,0$ .

O index de atividade antioxidante (AAI) ( $AAI = \text{concentração final de DPPH (19,71 } \mu\text{g/mL)} / IC_{50} (\mu\text{g/mL})$ ) para o extrato hexânico foi de 0,10, considerado baixa atividade antioxidante ( $AAI < 0,5$ ). O index de atividade antioxidante (AAI) para o extrato diclorometânico foi de 0,25, também sendo considerado como baixa atividade antioxidante ( $AAI < 0,5$ ). O extrato metanólico apresentou potente atividade antioxidante com  $AAI = 6,1$  ( $AAI > 2$ ).

A **Tabela 2** apresenta os Valores de  $IC_{50}$  e AAI para os extratos de *J. thunbergioides*.

**Tabela 2** - Valores de  $IC_{50}$  e AAI para os extratos de *J. thunbergioides*.

Extrato	$IC_{50}$ $\mu\text{g/mL}$	AAI
Hexânico	186,38	0,10
Diclorometânico	78,5	0,25
Metanólico	3,2	6,1

**Legenda:**  $IC_{50}$  = Concentração inibitória; AAI = index de atividade antioxidante. Ácido gálico foi usado como controle positivo, inibindo 90,8% do radical DPPH quanto aplicado na concentração de 10  $\mu\text{mol}$ . **Fonte:** Própria Autora, 2018.

As tabelas (3, 4 e 5) mostram o resultado do teste antioxidante em diferentes concentrações para os extratos (hexânico, diclorometano e metanólico). O extrato hexânico foi necessária uma concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$  para inibir 76% do radical (**Tabela 3**). O extrato diclorometânico foi capaz de inibir o radical DPPH (0,5

mmol/mL) em cerca de 76% na presença da concentração a 125 µg/mL (**Tabela 4**). O extrato metanólico foi capaz de inibir o radical DPPH (0,5 mmol/mL) em cerca de 75% na presença da concentração a 12 µg/mL conforme mostra **Tabela 5**.

**Tabela 3** - Resultado do teste antioxidante para o extrato hexânico de *J. thunbergioides* realizado com o uso do radical DPPH

µg/mL	Inibição (%) R1	Inibição (%) R2	Inibição (%) Média
500	76	76	76
400	78	73	76
250	65	66	66
125	36	36	36
50	13	17	15
25	8	3	6
10	4	4	4

**Legenda:** R1= Reação em duplicata 1; R2 = Reação em duplicata 2; DPPH na concentração final de 0,05 mmol, 30 min de reação no escuro. Ácido gálico foi usado como controle positivo, inibindo 90,8% do radical DPPH quanto aplicado na concentração de 10 µmol. **Fonte:** Própria Autora, 2018.

**Tabela 4** - Resultado do teste antioxidante para o extrato diclorometânico de *J. thunbergioides* realizado com o uso do radical DPPH

µg/mL	Inibição (%) R1	Inibição (%) R2	Inibição (%) Média
250	84	84	84
190	80	79	80
125	76	75	76
60	42	42	42
40	29	28	29
30	23	21	22
20	14	15	14
10	7	5	6

**Legenda:** R1= Reação em duplicata 1; R2 = Reação em duplicata 2; DPPH na concentração final de 0,05 mmol, 30 min de reação no escuro. Ácido gálico foi usado como controle positivo, inibindo 90,8% do radical DPPH quanto aplicado na concentração de 10 µmol. **Fonte:** Própria Autora, 2018.

**Tabela 5** - Resultado do teste antioxidante para o extrato metanólico de *J. thunbergioides* realizado com o uso do radical DPPH

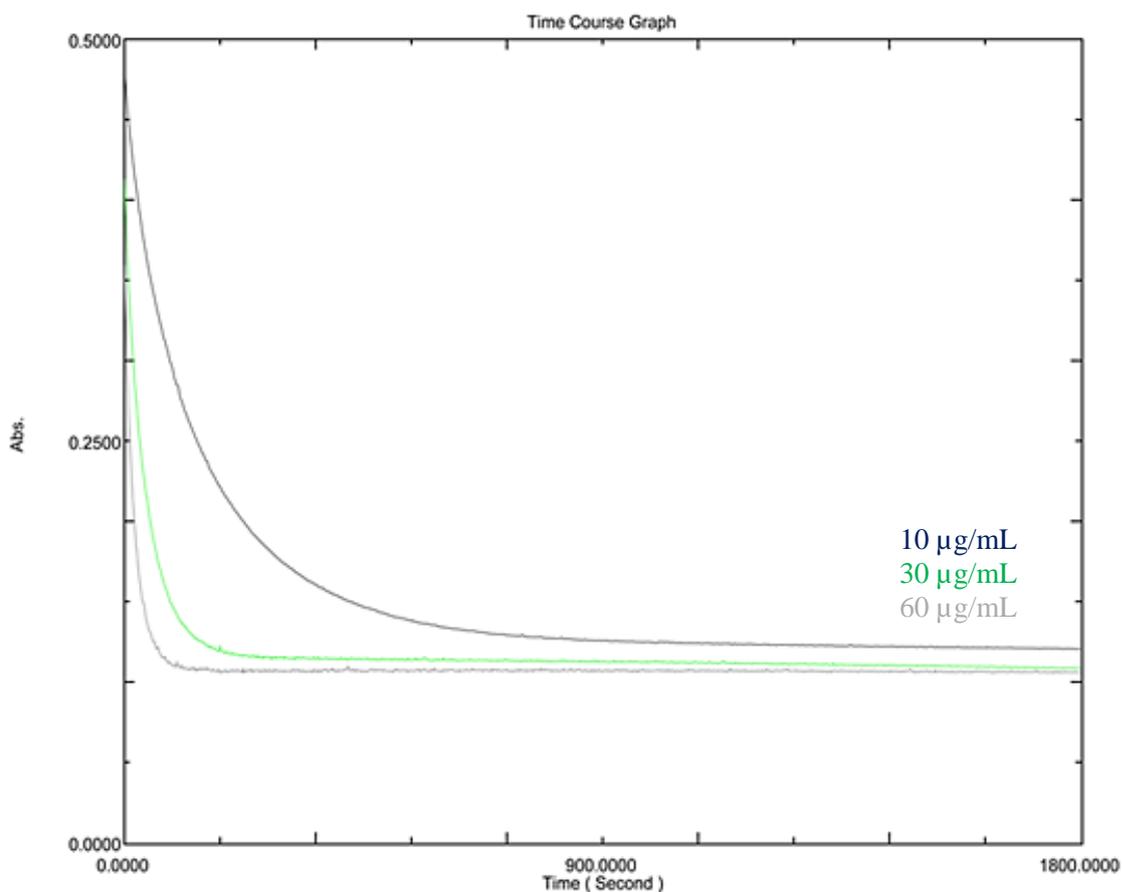
µg/ML	Inibição (%)		Inibição (%) Média
	R1	R2	
16	77	77	77
12	75	75	75
8	74	72	73
5	69	70	70
4	63	62	63
3	48	49	48
2	31	32	31
1	15	15	15
0,5	8	10	9

**Legenda:** R1= Reação em duplicata 1; R2 = Reação em duplicata 2; DPPH na concentração final de 0,05 mmol, 30 min de reação no escuro. Ácido gálico foi usado como controle positivo, inibindo 90,8% do radical DPPH quanto aplicado na concentração de 10 µmol. **Fonte:** Própria Autora, 2018.

A avaliação da cinética da reação entre os extratos (metanólico e diclorometânico) e o radical DPPH foram realizadas para determinar o tempo de estabilização da captura do radical DPPH e atividade antioxidante máxima. Por meio dessas curvas, pôde-se determinar a influência das diferentes concentrações na velocidade de atividade antioxidante.

Existem três tipos de cinética de reação: a rápida, a intermediária e a lenta, sendo que a primeira ocorre quando o composto antioxidante reage em segundos com o radical DPPH, a segunda quando o composto antioxidante reage com o radical DPPH dentro de 30 minutos e terceira quando o composto antioxidante reage com o radical DPPH e atinge o término da reação em mais de uma hora (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995).

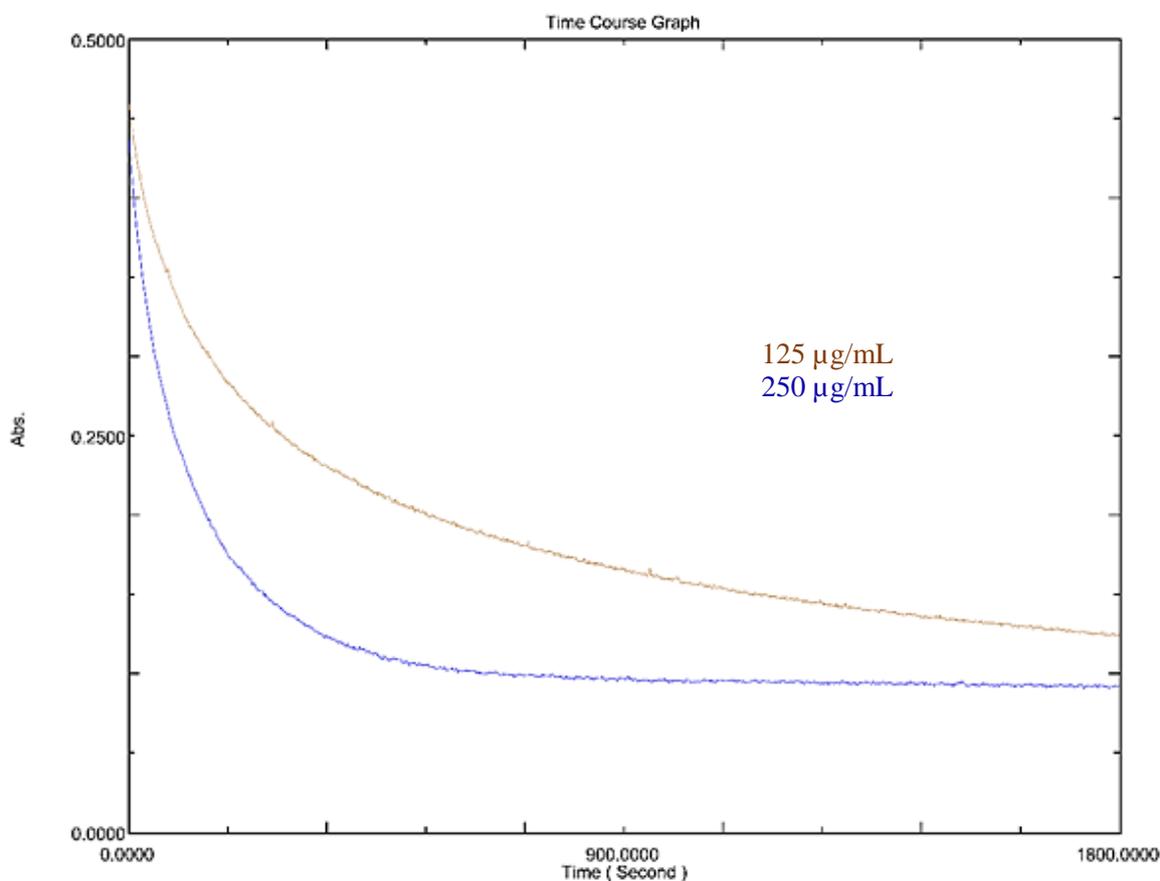
Na **Figura 34**, pode ser visualizada a curva cinética de captura do radical DPPH pelas diferentes concentrações do extrato metanólico (60, 30 e 10 µg/mL). Cada extrato apresentou um comportamento distinto de acordo com a concentração testada, por exemplo, o extrato metanólico a 60 µg/mL apresentou uma forte capacidade antioxidante reagindo com rapidez com o radical livre DPPH e atingindo a estabilização em cerca de 2 minutos, sendo considerada uma cinética de reação rápida. O extrato a 30 µg/mL também apresentou rápida captura do radical DPPH sendo a curva bem similar à obtida com 60 µg/mL. Já o extrato metanólico a 10 µg/mL essa estabilização só foi alcançada em aproximadamente 30 min.

**Figura 34** - Curva cinética do extrato metanólico frente ao radical DPPH.

**Legenda:** 60 µg/mL em cinza, 30 µg/mL em verde e 10 µg/mL em azul. **Fonte:** Própria Autora, 2018.

Para o extrato diclorometânico (**Figura 35**), uma maior concentração (250 µg/mL) foi necessária para capturar os radicais DPPH sendo necessário cerca de 23 min para reagir com o radical livre DPPH e atingir a estabilização da reação, sendo considerado assim considera uma cinética intermediária. Com 125 µg/mL o extrato diclorometano atingiu a estabilização em aproximadamente 60 min.

**Figura 35** - Curva cinética do extrato diclorometânico frente ao radical DPPH.



**Legenda:** 250 µg/mL em azul e 125 µg/mL em marrom. **Própria** Autora, 2018.

A atividade antioxidante das partições acetato de etila e *n*-butanol do extrato metanólico de *Ruellia tuberosa* (Acanthaceae) foi testada pela redução do método do radical DPPH onde o extrato *n*-butanol possuiu melhor atividade antioxidante com redução do radical DPPH com IC<sub>50</sub> de 7,42 µg/mL inibindo o radical em 11,31% na presença de 50 µg/mL de extrato (AHMAD et al., 2012)

Fernandes et al. (2012) relata em seu trabalho a atividade antioxidante das folhas e caule de *Justicia wassheniana* (Acanthaceae) através do método do radical DPPH. O extrato metanólico das folhas demonstrou menor atividade mesmo quando testado em maior concentração (50g e extrato/g de DPPH), inibindo apenas 43,03% dos radicais. O resultado do extrato do caule revelou inibição de 95,2% (13,5g de extrato/g de DPPH) dos radicais, sendo assim, mais eficiente.

Mohan et al. (2014) testaram a atividade antioxidante frente ao radical DPPH dos extratos éter de petróleo, benzênico, metanólico e etanólico dos tubérculos de *Ruellia tuberosa* L. (Acanthaceae). Entre o solvente testado o extrato de éter de petróleo exibiu

maior atividade de eliminação de radicais DPPH onde, na concentração de 800 µg/mL, inibiu 99,33% do radical hidroxila e apresentou IC<sub>50</sub> de 18 µg.mL<sup>-1</sup>.

O extrato de petróleo de folhas de *Justicia gendarussa* (Acanthaceae) mostrou máxima propriedade antioxidante inibindo o radical em 87,3% em uma concentração de 62,5 µg/mL de extrato (REDDY et al., 2015). O extrato aquoso de folhas de *Justicia hypocrateriformis* (Acanthaceae) apresentou atividade antioxidante com valor de IC<sub>50</sub> de 9,93 g/mL comparado com o valor IC<sub>50</sub> de 4,03 mg/mL de referência do antioxidante catequina (AGBOR et al., 2014).

Em estudo de Mesquita et al. (2017) foi relatado o potencial antioxidante do extrato metanólico e suas respectivas frações de partição das folhas *J. thunbergioides* através do método espectrofotométrico utilizando-se o radical livre DPPH onde o extrato bruto metanólico apresentou moderada atividade antioxidante com IC<sub>50</sub> de 110,94 ± 0,43 µg.mL<sup>-1</sup>. Das frações provenientes do extrato bruto, a fração acetato de etila mostrou-se a mais promissora como antioxidante com IC<sub>50</sub> < 17 µg.mL<sup>-1</sup>. Enquanto, a fração clorofórmica mostrou-se inativa com IC<sub>50</sub> > 200 µg.mL<sup>-1</sup>.

Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua IC<sub>50</sub> e maior a sua atividade antioxidante (PAULO, 2016). Verificou-se neste trabalho que o extrato metanólico de *J. thunbergioides* apresentou melhor atividade antioxidante (IC<sub>50</sub> de 3,2) comparado com os autores que realizaram a atividade antioxidante de espécies da família Acanthaceae (AHMAD et al., 2012; FERNANDES et al., 2012; MOHAN et al., 2014; REDDY et al., 2015; AGBOR et al., 2014; MESQUITA et al., 2017; PAULO, 2016).

#### **4.7 Isolamento, purificação e identificação dos metabólitos secundários do extrato bruto diclorometânico de *J. thunbergioides*.**

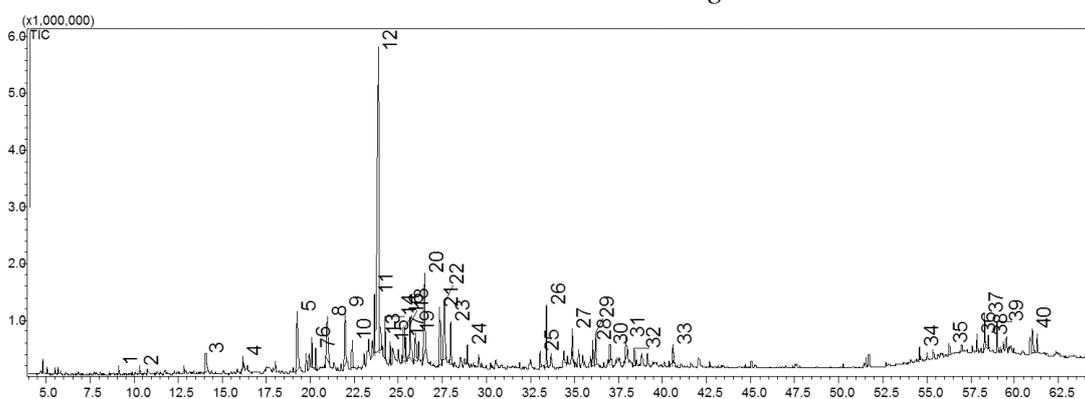
Para a identificação dos metabólitos secundários presentes no extrato bruto diclorometânico da espécie *J. thunbergioides* foi realizado um processo de filtração seletiva com os solventes (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol) conforme metodologia descrita no **item 3.8.6**. Após análise cromatográfica (CCDA), as frações JTFDH, JTFDD, JTFDA e JTFDM foram analisadas por CG-EM (**item 3.8.4**).

Devido aos resultados positivos frente aos reveladores testados (lâmpada ultravioleta 254 nm/ 366 nm e solução de anisaldeído) e por apresentarem maior massa (**Esquema 1, pag. 62**) obteve-se pelo estudo das frações acetato de etila (JTFDA – 2g) e diclorometano (JTFDD – 34 mg).

#### 4.7.1 Identificação dos compostos presentes no extrato diclorometânico da espécie *J. thunbergioides*.

Estudos referentes à composição química de extratos brutos da espécie *J. thunbergioides* não são relatados na literatura. As análises por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) permitiu detectar 40 compostos químicos (**Figura 36**) na partição com acetato de etila (JTFDA) do extrato diclorometânico (**Esquema 1, pag. 62**) da espécie *J. thunbergioides*.

**Figura 36** - Cromatograma da partição com acetato de etila do extrato diclorometânico de *J. thunbergioides*.



**Condições:** Coluna de cromatografia tipo DB-5MS. Condições: 60 °C a 250 °C, 5 °C.min<sup>-1</sup>, T<sub>inj</sub> = 200 °C, fluxo = 1 mL.min<sup>-1</sup>, split 20. 60 minutos de análise. **Fonte:** Própria Autora, 2017.

Entre os 40 picos detectados foi possível identificar 16 metabólitos secundários (**Figura 37**). Os tempos de retenção (T<sub>R</sub>) e comparação dos índices de Kovats (KI), calculados para cada composto (**item 3.8.5.1**), encontram-se compilados na **Tabela 6** e os espectros de massas encontram-se em **Anexo** (ADAMS, 2007; JARDIN et al., 2008; ANDRIAMAHARAVO et al., 2014; KURASHOV et al., 2014; BOULANGER et al., 2000; SEO et al., 2005; PETRAKIS et al., 2001; ANDRIAMAHARAVO et al., 2014; VEDERNIKOV et al., 2010; ISIDOROV et al., 2008).

**Tabela 6** - Tempos de retenção (TR) e comparação dos índices de Kovats (KI) calculados para os compostos presentes na partição com acetato de etila do extrato diclorometânico de *J. thunbergioides*.

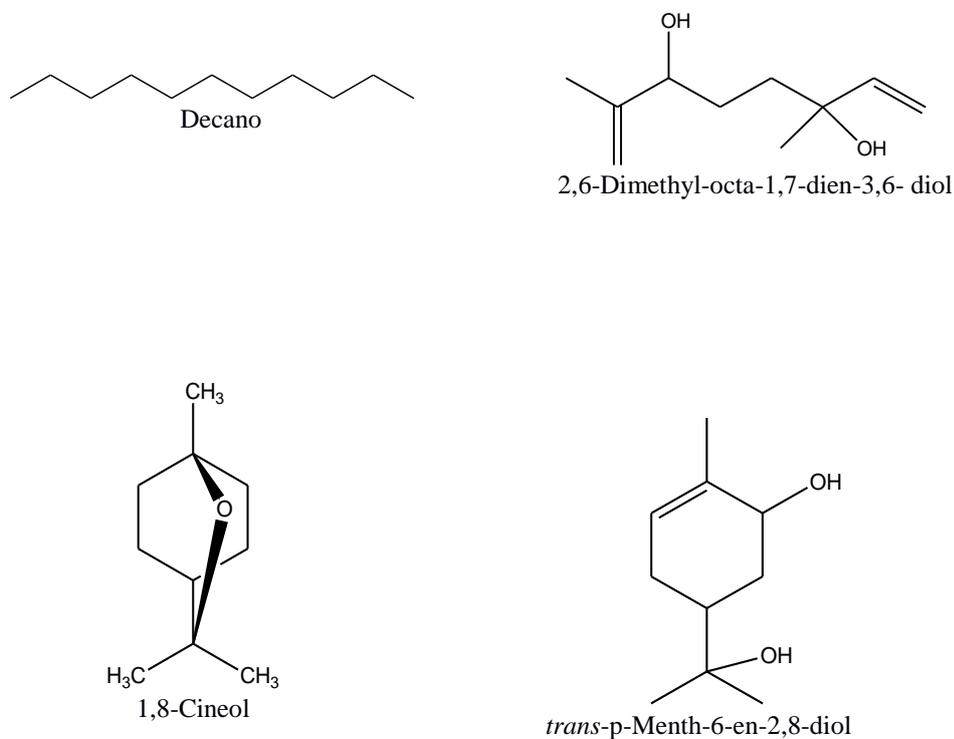
Pico	TR (min)	Composto	(%) GC-MS	IR exp.	IR lit.
1	9.120	Decano	0.31	1000	1000
2	10.325	1,8-Cineol	0.30	1032	1031
3	14.060	Ciclooctanona	1.27	1133	1125
4	16.155	p-Cimen-8-ol	0.57	1189	1182
5	19.255	2,6-Dimetil- octa-1,7-dien- 3,6-diol	4.42	1276	1277 <sup>a</sup>
6	20.075	NI	1.08	1300	-
7	20.295	NI	1.05	1306	-
8	20.950	NI	2.94	1326	-
9	21.980	<i>trans</i> -p-Menth- 6-en-2,8-diol	4.41	1356	1374
10	22.355	NI	1.41	1367	-
11	23.645	NI	3.01	1407	-
12	23.855	NI	33.80	1413	-
13	24.020	NI	1.42	1418	-
14	24.235	NI	1.79	1425	-
15	24.545	Hidrato de Carvona	0.69	1435	1423
16	25.305	NI	1.90	1459	-
17	25.415	NI	1.38	1463	-
18	25.655	NI	2.75	1470	-
19	25.970	NI	1.98	1477	-
20	26.465	NI	4.69	1496	-
21	27.350	NI	3.15	1525	-
22	27.630	NI	4.23	1535	-
23	27.975	NI	2.17	1546	-
24	28.940	Espatulenol	0.77	1578	1578
25	33.045	NI	0.71	1723	-
26	33.390	Oplopanona	2.87	1736	1739
27	34.875	NI	1.18	1791	-
28	36.035	Neofitadieno	1.14	1836	1836 <sup>b</sup>
29	36.180	NI	1.95	1842	-
30	36.995	NI	0.67	1874	-
31	37.925	NI	0.96	1910	-
32	38.400	NI	0.81	1930	-
33	40.580	(11E,13Z)- Labdadien-8-ol	0.90	2020	2095 <sup>c</sup>
34	54.580	NI	0.39	2743	-
35	56.270	1-Hexacosanol	0.58	2905	2906 <sup>d</sup>
36	57.845	NI	0.53	3068	-
37	58.270	1-Octacosanol	2.01	3108	3110 <sup>e</sup>

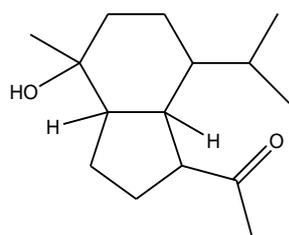
38	58.505	Vitamina E	0.45	3129	3130 <sup>f</sup>
39	59.000	Sesamin	1.27	3171	3151 <sup>d</sup>
40	60.995	$\beta$ -Sitosterol	2.09	3320	-

**Legenda:** TR (min): Tempo de retenção por minuto; IR exp: Índice de retenção obtido no experimento; IR lit: Índice de retenção obtido na literatura: Adams (2007). **Fonte:** Própria autora, 2018.

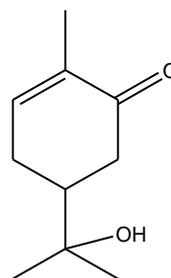
Os compostos e suas porcentagens presentes nos extratos variam de acordo com a espécie considerada, as condições de coleta e extração, e as partes da planta utilizadas. O componente em maior quantidade (33.80%, **pico 12**) não foi identificado pois não foi encontrado em nenhuma biblioteca. Os compostos identificados pertencem às seguintes classes: Terpenos (1,8-Cineol, p-Cimen-8-ol, 2,6-Dimetil-octa-1,7-dien-3,6-diol, *trans*-p-Menth-6-en-2,8-diol, Hidrato de carvona, Espatulenol, Oplopanona, Neofitadieno e (11E,13Z)-Labdadien-8-ol), Hidrocarboneto (Decano); Cetonas (Ciclooctanona); Álcool Graxo (1-Hexacosanol e 1-Octacosanol); Tocoferóis (Vitamina E); Lignanas (Sesamina) e Esteróide ( $\beta$ -Sitosterol).

**Figura 37** - Constituintes químicos identificados na partição acetato de etila do extrato diclorometânico de *J. thunbergioides*

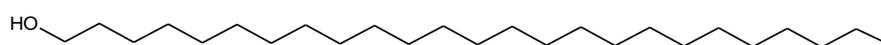




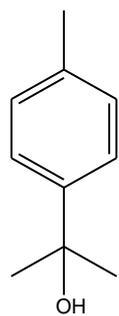
Oplopanona



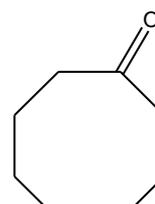
Hidrato de Carvona



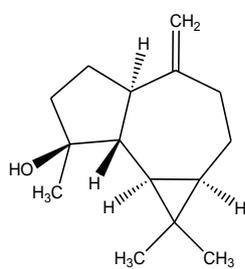
1-Hexacosano



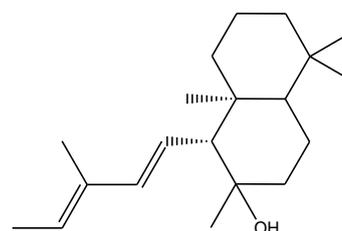
p-Cymen-8-ol



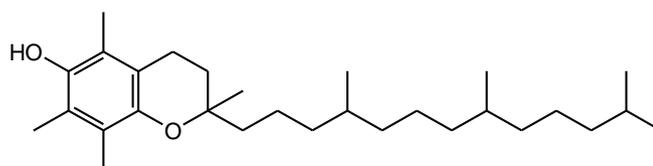
Cicleoctanona



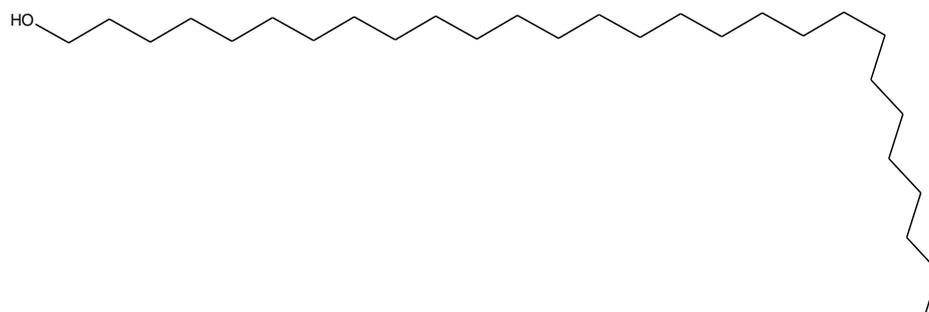
Espatulenol



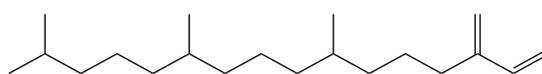
(11E,13Z)-Labdadien-8-ol



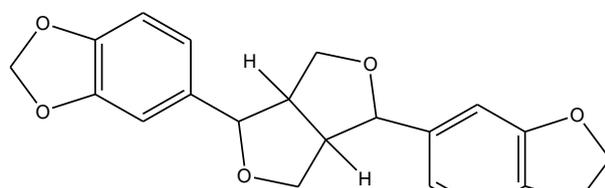
Vitamin E



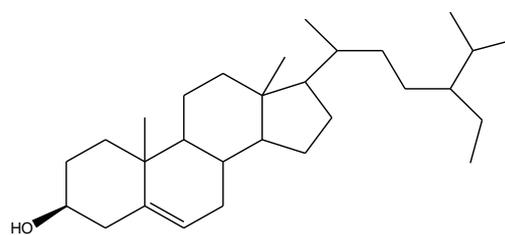
Octacosanol



Neofitadieno



Sesamin

 $\beta$ -Sitosterol

Fonte: Própria autora, 2018.

A substância decano (**Pico 1**) é um hidrocarboneto, componente importante do diesel e também é usado na fabricação de tintas como solvente de hidrocarboneto, foi identificado na espécie *Acacia praecox* (Fabaceae) (ZYGADLO et al., 1996). Até o momento não foi identificado nas espécies da família Acanthaceae.

O 1,8-cineol ou eucaliptol (**Pico 2**), é um monoterpeno que possui atividade inibitória dos nociceptores e uma redução da atividade gastrointestinal sugerindo ação depressora do sistema nervoso central, atividade anti-hipertensiva, pela vasodilatação na aorta de ratos e hipotensão em ratos normotensos, possui também atividade antiasmática assim como atividade anti-inflamatória (SOUTO et al., 2016). A presença de 1,8-cineol na espécie *Ruellia menthoides* (Acanthaceae) foi relatada por Facundo et al. (2003) na espécie *Sfrobilanthes callosus* (Acanthaceae) por Weyerstahl et al. (1992) e no óleo essencial das folhas de *Justicia schimperiana* por Abebe et al. (2018).

A ciclooctanona (**Pico 3**) é uma cetona cíclica, usada como químico para síntese, provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. É identificada em algumas espécies como no óleo essencial de *Cymbopogon citratus* Stapf (Poaceae) conhecido popularmente como capim santo (SILVA et al., 2013). Não foi identificado até o momento em espécies da família Acanthaceae.

O composto p-Cymen-8-ol (**Pico 4**) é um álcool, identificado em óleos essenciais de várias espécies e considerado um aromatizante. Foi identificada na espécie *Kaempferia galanga* (Zingiberaceae) (TUNSARINGKARN et al., 2018). A espécie *Curcuma xanthorrhiza* (Zingiberaceae), também conhecida como açafrão javanês é encontrada em todo o sudeste da Ásia. É eficaz no tratamento de erupções cutâneas, febre, diarreia, doenças estomacais e constipação. A análise do óleo volátil do rizoma da planta mostrou p-Cymen-8-ol como um dos principais constituintes (WIDYOWATI; AGIL, 2017). Foi identificado no óleo essencial de folhas e frutos de *Neomitranthes obscura* (Myrtaceae) (AMARAL et al., 2013). Foi identificado na espécie *Sfrobilanthes callosus* (Acanthaceae) por Weyerstahl et al. (1992).

2,6-Dimethyl-octa-1,7-dien-3,6-diol (**Pico 5**) é um álcool alifático, foi identificado na espécie *Carapa guianensis* (BOULANGER; CROUZET, 2000). Está presente também em uma das frutas mais populares da região norte do Brasil, o bacuri (*Scheelea phalerata*, *Arecaceae*) e pétalas de rosa, atuando como precursor de aromas nestes (KNAPP et al., 1998). Não foi relatado até o momento a presença deste em espécies de Acanthaceae.

O composto *trans-p-Menth-6-en-2,8-diol* (**Pico 9**) é um monoterpene. Foi identificado no óleo essencial da espécie *Abies spectabilis* subsp. *Langtangensis*, coletadas no Nepal (SATYAL; SETZER, 2017). Foi identificado como um dos principais constituintes do óleo essencial de folhas e frutos de *Neomitranthes obscura* (Myrtaceae) (AMARAL et al., 2013). Não foi identificado até o momento em espécies da família Acanthaceae.

Hidrato de Carvona (**Pico 15**) é um monoterpene. Foi encontrado em óleos essenciais de três Espécies de sálvia (*Salvia discolor*, *Salvia officinalis*, e *Salvia sclarea*) cultivadas na Alemanha (SHAROPOV et al., 2015). Não foi identificado até o momento em espécies da família Acanthaceae.

O espatulenol (**pico 24**) é um sesquiterpenos, encontrado na maioria das espécies aromáticas, entre elas, algumas famílias como Lamiaceae pertencente à mesma ordem das Acanthaceae, onde apresenta ampla atividade biológica como antioxidante, inseticida, antimicrobiana, anticancerígena, antifertilidade, micotóxica, fitotóxica e inseticida (KAURINOVIC et al., 2010; RAHMAN et al., 2011; PINTO, 2012; URITU et al., 2018; NIKSIC et al., 2018). Em estudo publicado por Nascimento et al. (2018) demonstrou que a propriedade antioxidante do óleo essencial de *Psidium guineense* pode ser atribuída ao seu principal composto, o espatulenol. Foi identificado na espécie *Sfrobilanthes callosus* (Acanthaceae) por Weyerstahl et al. (1992) e no óleo essencial das folhas de *Justicia schimperiana* (Acanthaceae) (ABEBE et al., 2018).

Oplopanona (**Pico 26**) é um sesquiterpeno com propriedades tem atividade antipirética e antitussígena (BLOXTON et al., 2002), foi isolado pela primeira vez no extrato etanólico da espécie *Oplopanax japonicus* (Nakai) por Takeda et al. (1965). Não foi relatado até o momento a presença deste em espécies de Acanthaceae.

O neofitadieno (**Pico 28**) tem sido associado a propriedades anti-inflamatórias e antivirais. Santoyo et al. (2011) isolaram neofitadieno do extrato etanólico da microalga *Dunaliella salina*, sendo que o mesmo extrato mostrou atividade inibitória contra o vírus herpes simplex tipo I. Este composto também foi encontrado como componente do óleo essencial de *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist da família Asteraceae, sendo que o extrato alcoólico dessa planta se mostrou eficiente em conter acessos inflamatórios (VITORINO, 2011). Esse composto não foi identificado até o momento em espécies do gênero *Justicia*.

O composto (11E,13Z) -Labdadien-8-ol (**Pico 33**) é um terpeno, comumente encontrado na espécie *Pinus pinea* (Pinaceae) (ARRABAL et al., 2005; SIMÓN et al.,

2001). Não há relatos desse composto em espécies da família Acanthaceae até o momento.

1-Hexacosanol (**Pico 35**) é um álcool graxo de cadeia longa. Em trabalho de Borg et al. (1987) demonstrou possuir propriedades neurotróficas *in vitro* em culturas de SNC de ratos. Foi identificado no extrato etanólico das partes aéreas de *Dyschoriste littoralis* (Acanthaceae) (SASIREKHA et al., 2018).

Octacosanol (**Pico 37**) é um álcool graxo, usado para melhorar o desempenho de exercícios, incluindo força e resistência. Também é usado para infecções por herpes, doenças de pele, doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica (ALS, doença de Lou Gehrig), colesterol alto aterosclerose. É o principal constituinte da cera de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) (TAYLOR et al., 2003). Até o presente momento esse composto não foi identificado em espécies da família Acanthaceae.

A Vitamina E (**Pico 38**) pertence a classes dos tocoferóis que são compostos lipossolúveis com importante atividade antioxidante, sintetizados apenas por plantas e outros microrganismos fotossintéticos (HOFIUS; SONNEWALD, 2003). Alguns estudos relataram como sendo um dos antioxidantes mais importantes e que pode atuar sobre os lipídios das membranas celulares (SILVA, 2013). Foi identificado na espécie *Barleria courtallica* (Acanthaceae) (SUJATHA et al., 2017) e apontada como antitumoral, antiespasmódico, antioxidante, vasodilatador, analgésico, antidiabético, hepatoprotetor, entre outros (BRAMLEY, 2000; SUJATHA et al., 2017).

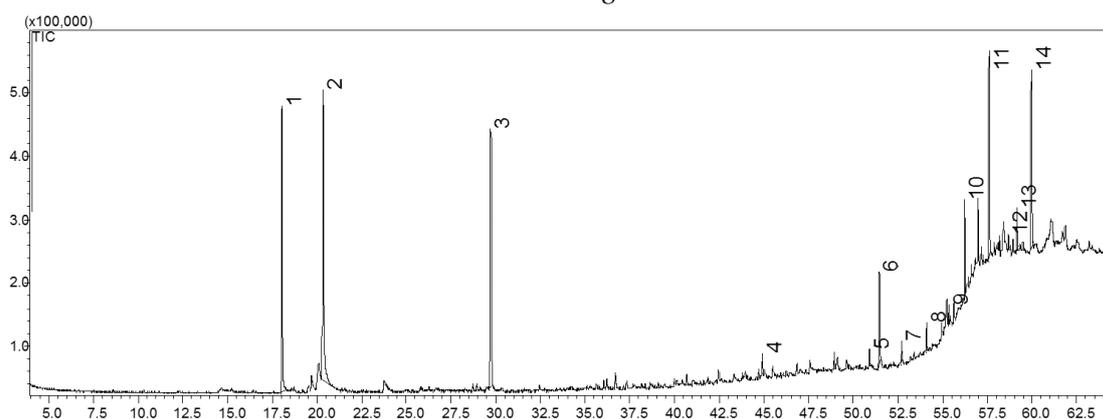
Sesamina (**Pico 39**) é uma lignana da classe dos furofuranos. É comumente isolada do óleo de semente de *Sesamum indicum* L. (óleo de gergelim) (KATEKHAYE et al., 2011). Essa substância protege o fígado dos danos oxidativos, sendo uma das substâncias antioxidantes mais importantes do gergelim. Dados recentes indicam que a sesamina aumenta os níveis de vitaminas C e E em vários tecidos, reiterando sua atividade antioxidante (DAR et al., 2013). Ajuda a reduzir a pressão alta e melhora a ação das enzimas no fígado, que são relativas com a capacidade de decompor as substâncias tóxicas no sangue. Resultados de várias pesquisas descobriram que o sesamina ajuda como fator natural de redução do colesterol (BHATNAGAR, 2009). Foi isolada de algumas espécies de *Justicia* como é o caso da *Justicia hyssopifolia* (TRUJILLO et al.; 1990), assim como de *Justicia simplex* em trabalho de Ghosal et al. (1979).

A substância  $\beta$ -Sitosterol (**Pico 40**) é um esteroide. Os fitoesteróis são difundidos em plantas e animais, bem como fungos, e possuem semelhança com o

colesterol (SAEIDNIA et al., 2014). A sua presença foi apontada por autores na espécie *J. pectoralis* (GOVINDACHARI et al., 1969; WAHI et al., 1974; CHAKRAVARTY et al., 1982; OLIVEIRA et al., 2000b). Foi identificado no extrato metanólico das partes aéreas de *Ruellia brittoniana* (Acanthaceae) (ELGINDI et al., 2015) assim como na espécie *Barleria courtallica* também pertencente à família Acanthaceae (SUJATHA et al., 2017). Foi relatado ser útil no tratamento da hipercolesterolemia, câncer de próstata, câncer de mama e doença arterial coronariana, além de propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobiana (GUPTA et al., 2011; SAEIDNIA et al., 2014; SUJATHA et al., 2017).

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) permitiu detectar 14 compostos químicos na partição com diclorometano (JTFDD) (**Figura 38**) do extrato diclorometânico (**Esquema 1, pag. 62**) da espécie *J. thunbergioides*.

**Figura 38** - Cromatograma da partição com diclorometano do extrato diclorometânico de *J. thunbergioides*.



Coluna de cromatografia tipo DB-5MS. Condições: 60 °C a 250 °C, 5 °C.min<sup>-1</sup>, T<sub>inj</sub> = 200 °C, fluxo = 1 mL.min<sup>-1</sup>, split 20. 60 minutos de análise. **Fonte:** Própria Autora, 2018.

Foram identificados 13 metabólitos secundários entre os 14 picos detectados no cromatograma (**Figura 40, Figura 39**). Os tempos de retenção (T<sub>R</sub>) e comparação dos índices de Kovats (KI), calculados para cada composto (**item 3.8.5.1**), encontram-se compilados na **Tabela 7** e os espectros de massas dos compostos identificados se encontram em **Anexos**.

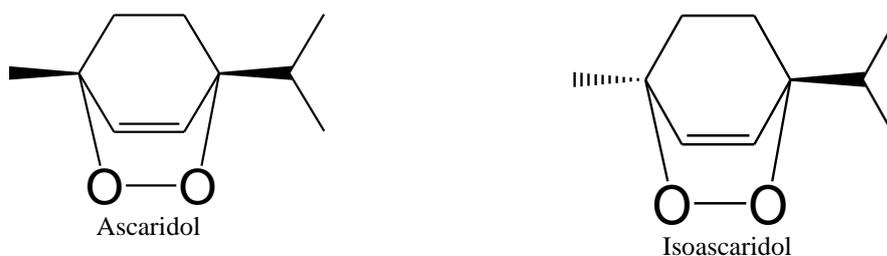
**Tabela 7** - Tempos de retenção (TR) e comparação dos índices de Kovats (KI) calculados para os compostos presentes na partição com diclorometano do extrato diclorometânico de *J. thunbergioides*.

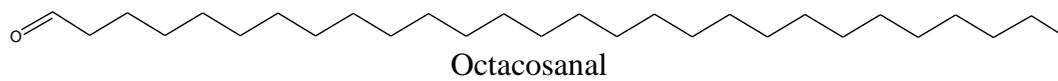
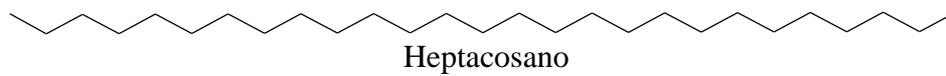
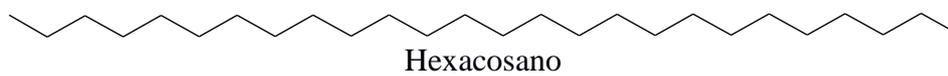
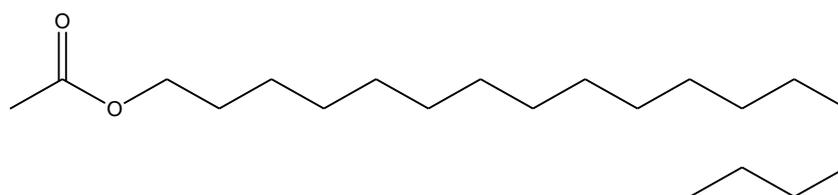
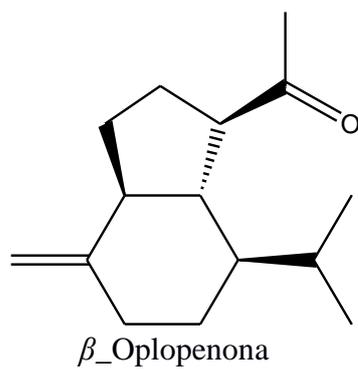
Pico	TR (min)	Composto	(%) GC-MS	IR exp.	IR lit.
1	18.040	Ascaridol	19.81	1242	1237
2	20.335	Isoascaridol	26.38	1307	1307 <sup>a</sup>
3	29.730	$\beta$ _Oplopenona	17.26	1605	1607
4	44.915	Octadecanol acetate	1.02	2210	2209
5	50.920	Pentacosano	0.63	2501	2500
6	51.455	Bis(2-ethylhexyl) fitalato	5.49	2531	2539 <sup>b</sup>
7	52.690	Hexacosano	1.11	2600	2600
8	54.085	Heptacosano	1.24	2700	2700
9	55.345	Esqualeno	0.75	2811	2814 <sup>b</sup>
10	56.225	Nonacosano	3.53	2900	2900
11	57.595	Octacosanal	9.04	3043	3039 <sup>c</sup>
12	58.685	Nonacosanal	0.67	3144	-
13	59.160	NI	2.47	3185	-
14	59.955	Triacontanal	10.60	3246	3251

**Legenda:** TR (min): Tempo de retenção por minuto; IR exp: Índice de retenção obtido no experimento; IR lit: Índice de retenção obtido na literatura: Adams (2007). **Fonte:** Própria autora, 2018.

O percentual por área obtido através da técnica de integração dos picos utilizada mostra que os terpenos ascaridol (19.81%), isoascaridol (26.38%) e  $\beta$ -oplopenona (17.26%), picos 1, 2 e 3 respectivamente são as substâncias que se apresentam com um maior teor. Outras substâncias das classes: terpenos (esqualeno); hidrocarbonetos (pentacosano, hexacosano, heptacosano e nonacosano) e aldeídos (octacosanal, nonacosanal e triacontanal) também foram identificadas.

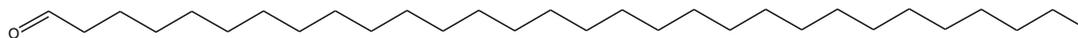
**Figura 39** - Constituintes químicos identificados na partição com diclorometano do extrato diclorometânico de *J. thunbergioides*.



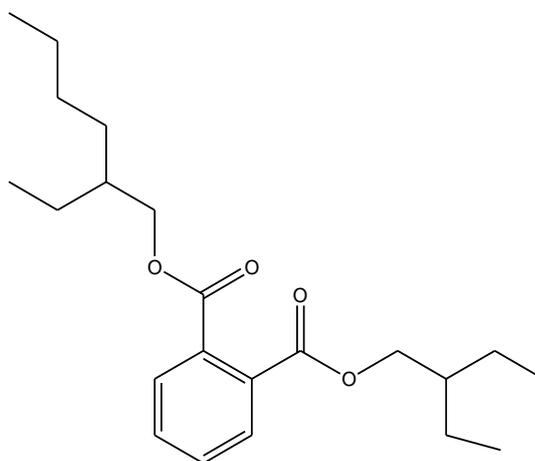




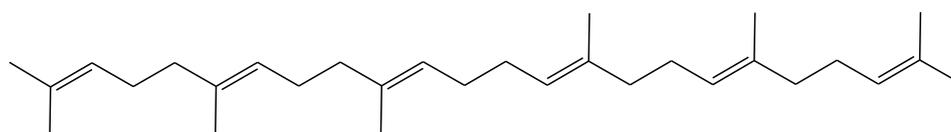
Nonacosanal



Triacontanal



Bis(2-ethylhexyl) ftalato



Esqualeno

**Fonte:** Própria autora, 2018.

O ascaridol (**Pico 1**) e o isoascaridol (**Pico 2**) pertencem à classe dos monoterpenos bicíclicos e possui uma ponte formada pelo grupo funcional peróxido. Este possui propriedade antiparasitária, antimalárica, antifúngica, hipotensora, relaxante muscular, estimulante respiratório, depressora cardíaca, antibacteriana, anti-tumoral e analgésica (FERREIRA, 2013). O ascaridol tem sido usado há muitas décadas como anti-helmíntico

no controle de nematoides (ZHU et al., 2012). Pare et al. (1993) documentou suas propriedades sedativas e analgésicas, bem como efeitos antifúngicos. A toxicidade do ascaridol é relatada em vários trabalhos. O ascaridol é o principal constituinte do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L. (Amaranthaceae), a propriedade anti-helmíntica da planta tem sido atribuída à presença desse monoterpene (SÁ, 2013). Este terpenoide também é encontrado no óleo essencial de *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) (VILA; VALENZUELA; BELLO, 1999; DEL VALLE et al., 2004) e *Croton regelianus* Muell. Arg. (Euphorbiaceae) (TORRES et al., 2008; BEZERRA et al., 2009). A sua toxicidade foi confirmada por MacDonald et al. (2004) ao observarem os efeitos deste constituinte e da infusão das folhas da planta isenta de ascaridol sobre a musculatura lisa gastrintestinal de ratos, constataram que a redução da contração muscular foi observada apenas na presença do ascaridol. O principal constituinte químico presente no *C. ambrosioides* L. responsável pela toxicidade, o ascaridol, quando administrado em camundongos na dose de 100 mg/kg de peso corporal ocasionou sintomas de hipotermia e atividade locomotora diminuída. Triplicando essa dosagem foi observada 25 mortalidades dos animais (OKUYAMA et al., 1993). Não foi relatado na literatura até o momento a presença desses compostos em outras espécies da família Acanthaceae.

$\beta$ -oplopenona (**Pico 3**) é um sesquiterpeno oxigenado. Está presente em várias espécies vegetais, Santos et al. (2012) identificou esse composto no óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), e em trabalho de Pontes et al. (2007) foi identificado no óleo essencial das folhas e frutos de *Xylopiya sericea* (Annonaceae). Não foi relatado na literatura até o momento a presença desses compostos em espécies da família Acanthaceae.

*n*-Pentacosano é um hidrocarboneto (**Pico 5**). Foi identificado no óleo essencial das partes aéreas de *Turnera subulata* (Turneraceae) (FERNANDES et al., 2014) e nos extratos apolares dos talos de cereja (*Prunus avium* L) (SARASOLA, 2016). Não foi relatado na literatura até o momento a presença desses compostos em espécies da família Acanthaceae.

Bis-(2-ethylhexyl) ftalato (**Pico 6**) são ésteres de ácido ftálico obtidos sinteticamente por reações químicas com diferentes álcoois, é amplamente utilizado como plastificante na fabricação de artigos feitos de PVC. Esses são oriundos nesse estudo de contaminação provenientes de trabalhos de rotina do laboratório (CANSIAN, 2010).

Hexacosano (**Pico 7**) é um hidrocarboneto. Foi identificado no óleo essencial das frutas de *Ruellia tuberosa* L. (Acanthaceae) na Nigéria (MORONKOLA et al., 2015), no extrato metanólico das partes aéreas de *Ruellia brittoniana* (Acanthaceae) (ELGINDI et al., 2015). As raízes de *Strobilanthus callosus* Nees (Acanthaceae) são usadas no tratamento de inflamações e artrite, sendo o hexacosano como um dos compostos majoritários (YLIAS et al., 1979). Resultados de teste antimicrobiano mostraram atividade moderadamente alta de hexacosano isolado de *Sanseveria liberica* (Asparagaceae) (RUKAIYAT et al., 2015).

Heptacosano (**Pico 8**) é um hidrocarboneto. Foi identificado no óleo essencial de *Salvia procurrens*, *Salvia uliginosa*, *Salvia cordata*, *Salvia ovalifolia* e *Salvia borjensis* (Lamiaceae) (PINTO, 2012). Foi identificado nas folhas do óleo essencial de *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm (Acanthaceae) (MACHADO et al., 2017), no extrato metanólico das partes aéreas de *Ruellia brittoniana* (Acanthaceae) (ELGINDI et al., 2015) e no óleo essencial das folhas de *Justicia schimperiana* (Acanthaceae) (ABEBE et al., 2018).

O esqualeno (**Pico 9**) consiste em um triterpeno intermediário na biossíntese de esteróides em plantas e animais. Recentes estudos têm demonstrado a atividade anti-neoplásica do esqualeno, mostrando que esse reduz significativamente o desenvolvimento e crescimento de neoplasias em roedores. Estudos *in vitro* demonstraram que o esqualeno é um potente inibidor da hiperproliferação aberrante de células mamárias de origem epitelial, prevenindo assim a sua transformação neoplásica (SCOLASTICI, 2003). A ação antioxidante do esqualeno foi investigada empregando-se modelos de reações de seqüestro de oxigênio singleto e de radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (KOHNO et al., 1995; KO et al., 2002). Kohno et al. (1995) investigaram as reações do esqualeno como seqüestrante de oxigênio singleto e com modelos de radicais peroxil em *n*-butanol, para elucidar o papel do mesmo na pele humana. Foram usados os radicais 2,6-di-*t*-butil-4-(4-metoxifenil) fenoxil e 5,7-diisopropil tocoferil como modelos de radicais peroxil. Observou-se que a taxa de seqüestro de oxigênio singleto do esqualeno foi menor do que a do  $\alpha$ -tocoferol, maior do que a do hidroxitolueno butilado (BHT) e bem superior a dos demais lipídios encontrados na pele humana. Estes resultados sugerem que o esqualeno funciona como um eficiente seqüestrante de oxigênio singleto e, portanto, previne a peroxidação de lipídios na pele humana. KO et al. (2002) observaram que os extratos de folhas de *Terminalia catappa* L, obtidos por

extração com CO<sub>2</sub>-SC, com mais alta concentração de esqualeno, exibiram maior potencial antioxidante e atividade seqüestrante de DPPH (1, 1- difenil - 2- picril - hidrazil) mais efetiva. Este composto já foi identificado na *Barleria courtallica* (Acanthaceae) (SUJATHA et al., 2017), na espécie *Avicenia schaueriana* (Acanthaceae) em trabalhos de Santana et. al (2013) e Fardin (2014).

Nonacosano (**Pico 10**) é um hidrocarboneto de cadeia linear, foi identificado tanto no óleo essencial das cascas como das folhas de *Inga laurina* (Sw.) Willd (Fabaceae) (FURTADO et al., 2014). Não foi relatado na literatura até o momento a presença desses compostos em espécies da família Acanthaceae.

Octacosanal (**Pico 11**) é um aldeído de cadeia longa. Foi identificado como um dos principais compostos da cera epicuticular de *Cleistes aphylla* (Orchidaceae) e o maior constituinte da cera epicular de *Cleistes bella e Cleistes exilis* (Orchidaceae). Também está presente em consideráveis proporções na cera de *Cleistes castanoides* (Orchidaceae) (PANSARIN, 2005). Esse composto não foi identificado em espécies da família Acanthaceae até o momento.

O nonacosanal (**Pico 12**) é um aldeído de cadeia longa, foi isolado das folhas de *Psychotria viridis* (Rubiaceae) (SOARES, 2015). Esse composto não foi identificado em espécies da família Acanthaceae até o momento.

O composto triacontanal (**Pico 14**) é um aldeído de cadeia longa, é um regulador natural do crescimento de plantas, usado para melhorar a produção de culturas em milhões de hectares, particularmente na Ásia. Pesquisas relatam a melhoria mediada por esse composto no crescimento, fotossíntese, síntese proteica, absorção de água e nutrientes, fixação de nitrogênio, entre outros (NAEEM et al., 2011). Em trabalho de Sharma et al. (2014) esse composto foi isolado da espécie *Leucosidea sericea* (Rosaceae) e apresentou atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Bacillus cereus* e *Lactobacillus acidophilus*. Silva et al. (2015) identificaram a substância triacontanal nas folhas de *Annona nutans* (Annonaceae) sendo que essa apresentou atividade hepatoprotetora em ratos. Esse composto não havia sido identificado em espécies da família Acanthaceae até o momento.

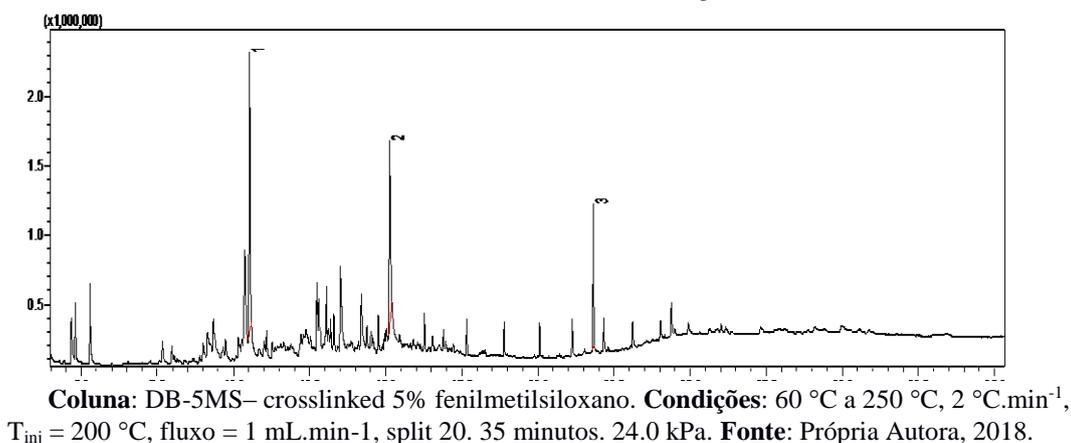
A identificação do esqualeno (**Pico 9**), espatulenol (**Pico 24**), vitamina E (**Pico 38**), sesamina (**Pico 39**), os quais possuem atividade antioxidante comprovada por diferentes autores, respectivamente (KO et al., 2002, NASCIMENTO et al, 2018, SILVA, 2013, DAR et al., 2013) justificaria a atividade antioxidante (IC<sub>50</sub>= 78,5 e AAI de 0,25) do extrato diclorometânico de *J. thunbergioides*.

#### 4.7.2 Isolamento dos metabólitos secundários do extrato metanólico de *J. thunbergioides*

Para o isolamento dos metabólitos secundários do extrato metanólico de *J. thunbergioides* foi realizada a partição ácido-base visando a extração de alcaloides e Cumarinas (**item 3.8.7**). As frações clorofórmicas (**F1**), acetato de etila (**F2**) e fração aquosa (**F3**) (**Esquema 2, pag. 64**) foram analisadas por CCDA e CG-EM. Devido aos resultados positivos frente aos reveladores testados (lâmpada ultravioleta 254 nm/ 366 nm e solução de anisaldeído) e por apresentar maior massa (2g) que a fração clorofórmica (**F1**) a fração acetato de etila (**F2**) foi estudada (**Esquema 2, pag. 64**).

O cromatograma de íons totais (CG-EM) da partição com acetato de etila (**F2**), do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides* é apresentado na **Figura 40**. Na análise por CG-EM foram observados 3 picos majoritários de interesse ( $t_{R1} = 10,560$ ,  $t_{R1} = 15,180$  minutos e  $t_{R1} = 21,805$ ). O pico em  $T_{R1} = 21,805$  foi desconsiderado por ter sido identificado pela biblioteca (CG-EM) como sendo ftalato, proveniente provavelmente do solvente utilizado.

**Figura 40** - Cromatograma de íons totais da fração acetato de etila (**F2**) do extrato metanólico de *J. thunbergioides*.

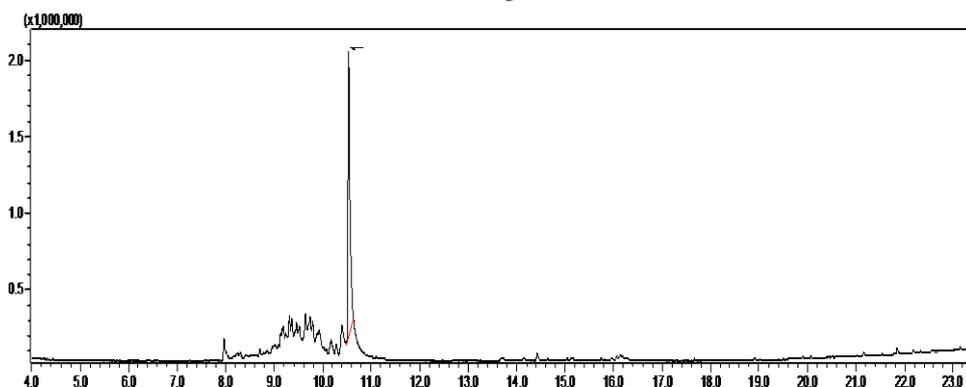


A Fração **F2** (2,0 g) foi purificada por cromatografia em coluna de sílica gel, sendo que foram obtidas 210 frações (**Esquema 3, pag. 66**). As frações 57 a 63 foram analisadas por CCDA e então reunidas para serem analisadas por CG-EM.

Através da análise do cromatograma de íons totais (**Figura 42**) obtido das frações **F57-63**, provenientes da partição acetato de etila (**F2**) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides* verificou-se que uma substância foi parcialmente isolada, contendo uma pequena contaminação (**Figura 41**). Foi identificada através de comparação do seu

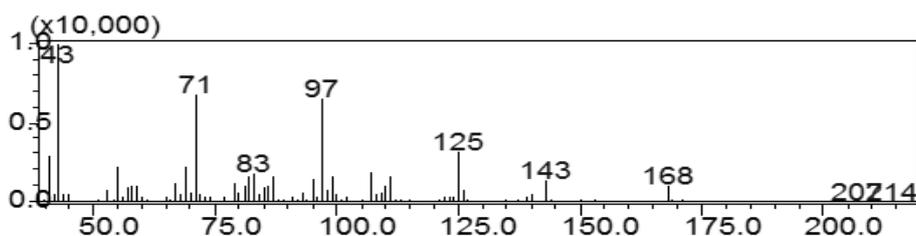
espectro de massas (**Figura 42**) com aqueles encontrado na literatura (ADAMS, 1995; JARDIN et al., 2008) e identificada como isoascaridol (**Figura 43**). Esta substância foi analisada por RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ , no entanto, por apresentar pequena quantidade de massa ( $< 1,0$  mg) não foi possível obter os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . A substancia isoascaridol também foi identificada pelo índice de Kovats no extrato diclorometânico, sendo o constituinte majoritário (26,38 %).

**Figura 41** - Cromatograma de íons totais (CG-EM) das frações F57-63, provenientes da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico de *J. thunbergioides*.



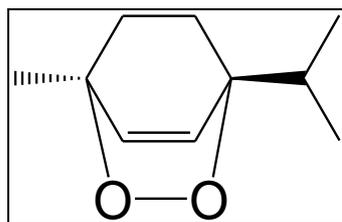
**Coluna:** DB-5MS– crosslinked 5% fenilmetilsiloxano. **Condições:** 60°C a 270 °C, 2°C.min<sup>-1</sup>, T<sub>inj</sub> = 200 °C, fluxo = 1 mL.min<sup>-1</sup>, split 20. 35 minutos. 24.0 kPa. **Fonte:** Própria Autora, 2018.

**Figura 42** - Espectro de massas obtido por ionização de elétrons (70 eV) das frações 57-63 provenientes da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*.



**Coluna:** DB-5MS– crosslinked 5% fenilmetilsiloxano. **Condições:** 60°C a 270 °C, 2°C.min<sup>-1</sup>, T<sub>inj</sub> = 200 °C, fluxo = 1 mL.min<sup>-1</sup>, split 20. 35 minutos. 24.0 kPa. **Fonte:** Própria Autora, 2018.

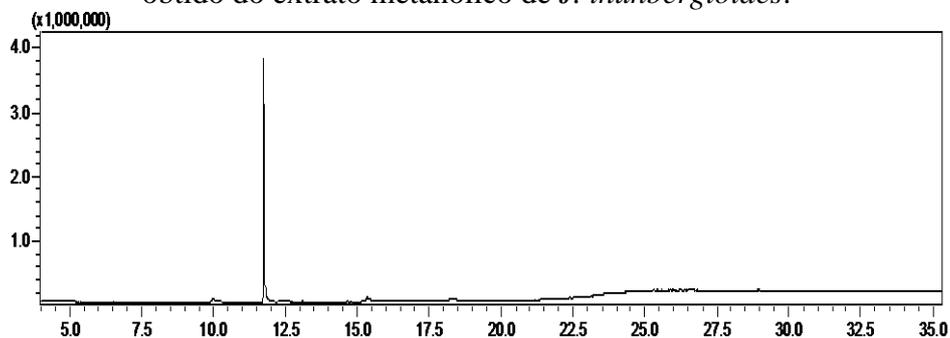
O isoascaridol (**Figura 43**) pertence à classe dos monoterpenos bicíclicos e possui uma ponte formada pelo grupo funcional peróxido. Este possui propriedade antiparasitária, antimalárica, antifúngica, hipotensora, relaxante muscular, estimulante respiratório, depressora cardíaca, antibacteriana, antitumoral e analgésica (MACDONALD et al., 2004; FERREIRA, 2013).

**Figura 43** - Estrutura do Isoascaridol

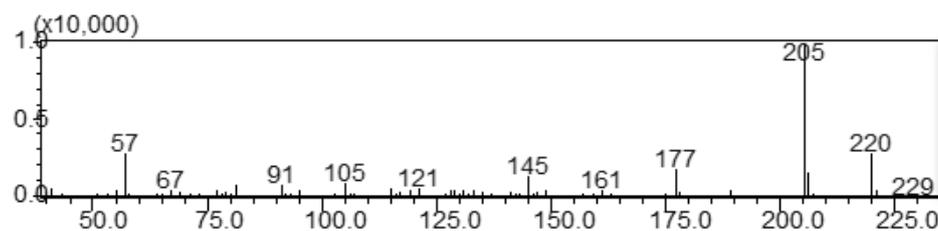
Fonte: MACDONALD et al., 2004.

As frações **F201-210** (**Esquema 3, pag. 66**) da partição acetato de etila (**F2**) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides* (**Esquema 2, pag. 64**) foram reunidas após análises por CCDA e posteriormente analisadas por CG-EM.

O cromatograma de íons totais (CG-EM) das frações F201-210 (**Figura 44**), mostrou uma substância isolada em  $T_{R1} = 11,740$  min e identificada através de comparação do seu espectro de massas (**Figura 45**) com a literatura (BOYD et al., 2008) apresentando 96% de semelhança com hidroxitolueno butilado – BHT (**Figura 46 - Anexo 3**).

**Figura 44** - Cromatograma de íons totais (CG-EM) do dibutilhidroxitolueno obtido do extrato metanólico de *J. thunbergioides*.

Coluna: DB-5MS. Condições: 60°C a 270 °C, 2 °C.min<sup>-1</sup>,  $T_{inj} = 200$  °C, fluxo = 1 mL.min<sup>-1</sup>, split 20. 35 minutos. 24.0 kPa. Fonte: Própria Autora, 2018.

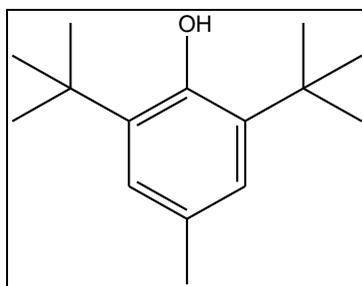
**Figura 45** - Espectro de massas obtido por ionização de elétrons (70 eV) das frações **F201-210**, provenientes da partição acetato de etila (**F2**) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*.

Coluna: DB-5MS. Condições: 60°C a 270 °C, 2 °C.min<sup>-1</sup>,  $T_{inj} = 200$  °C, fluxo = 1 mL.min<sup>-1</sup>, split 20. 35 minutos. 24.0 kPa. Fonte: Própria Autora, 2018.

O hidroxitolueno butilado – BHT (**Figura 46**) é um composto orgânico lipofílico e antioxidante, quimicamente um derivado do fenol e análogo da vitamina E. O BHT é principalmente usado como um aditivo em alimentos que explora as suas propriedades antioxidantes (BABU et al., 2008).

Este composto foi analisado por espectroscopia por ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e espectroscopia por ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  e RMN 2D. Porém, por apresentar pequena quantidade de massa (< 1,0 mg) não foi possível a obtenção desses espectros para confirmação da estrutura.

**Figura 46** - Estrutura do hidroxitolueno butilado – BHT.



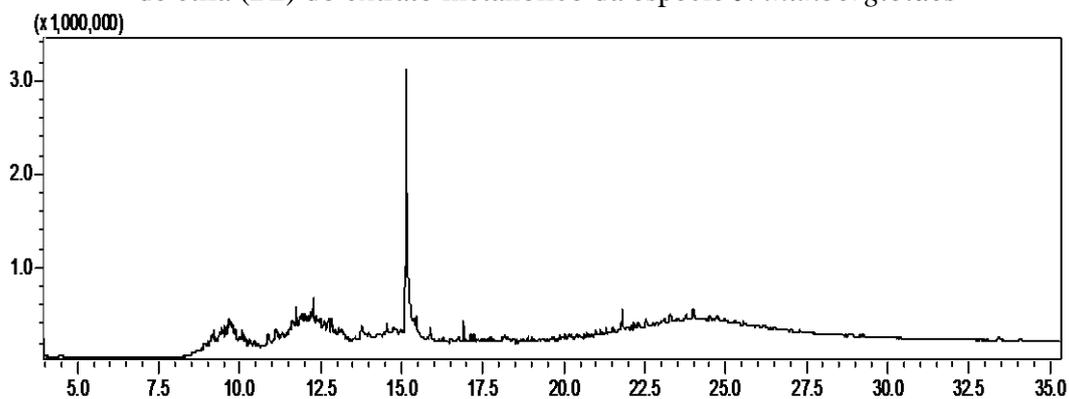
**Fonte:** BABU et al., 2008.

O extrato metanólico apresentou potente atividade antioxidante com  $\text{IC}_{50}$  de 3,2  $\mu\text{g/mL}$  (**item 4.6**), o composto hidroxitolueno butilado também foi isolado e identificado no extrato metanólico, sendo assim, este composto pode estar diretamente relacionado ao potencial antioxidante deste extrato.

## 5 PERSPECTIVAS FUTURAS

As frações **102-109** (164 mg), provenientes da partição acetato de etila (**F2**) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides* foram reunidas e analisadas por CG-EM. O cromatograma de íons totais, **Figura 47**, mostra um pico majoritário em  $t_{R2} = 15.180$  min. Esta substância não foi encontrada na literatura através do Índice de Kovats, portanto, foi purificada conforme descrito no **item 3.8.7.1**.

**Figura 47** - Cromatograma das frações **F102-199**, provenientes da partição acetato de etila (**F2**) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*

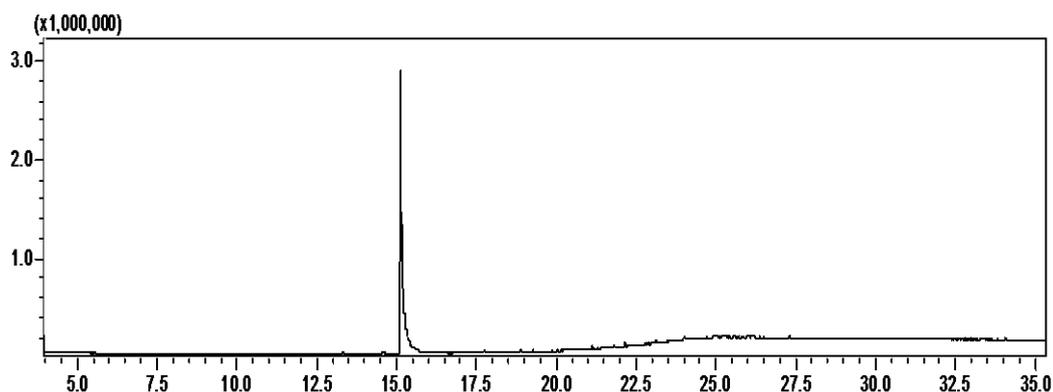


Coluna: DB-5MS. Condições: 60°C a 270 °C, 2 °C.min<sup>-1</sup>, T<sub>inj</sub> = 200 °C, fluxo = 1 mL.min<sup>-1</sup>, split 20. 35 minutos. 24.0 kPa. Fonte: Própria Autora, 2018.

A purificação das frações **F102-199** por cromatografia em coluna resultou na obtenção de 75 frações as quais foram analisadas por CCDA (Hex:AcOEt 10:0; 9,5:0,5; 9:1; 8,5:1,5; 8,0:2,0; 7,5:2,5; 7:3; 6,5:3,5; 6:4; 5,5:4,5; 5:5, 4,5:5,5 v/v). A fração denominada **F34-75** (17 mg) foi posteriormente purificada por cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) utilizando-se como fase estacionária sílica gel 60, F<sub>254</sub>, (placas de alumínio WHATMAN UV 254; 0,250 mm) e eluídas em éter etílico 100%. As placas foram reveladas por método físico (não-destrutivo) através de câmera de radiação eletromagnética de comprimento de onda na região de ultravioleta (UV) – 254 nm e 366 nm. Nos casos em que os compostos não foram visualizados sob UV, foi utilizada revelação química com anisaldeído.

Foram obtidas 3 frações as quais foram analisados por CG-EM. O cromatograma de íons totais da fração denominada **F34-75 C1** e **F34-75 C2** foram identificadas como graxas. O cromatograma de íons totais da fração denominada **F34-75 C3**, (**Figura 48**) mostrou um pico em  $t_{R2} = 15.180$  min (17 mg).

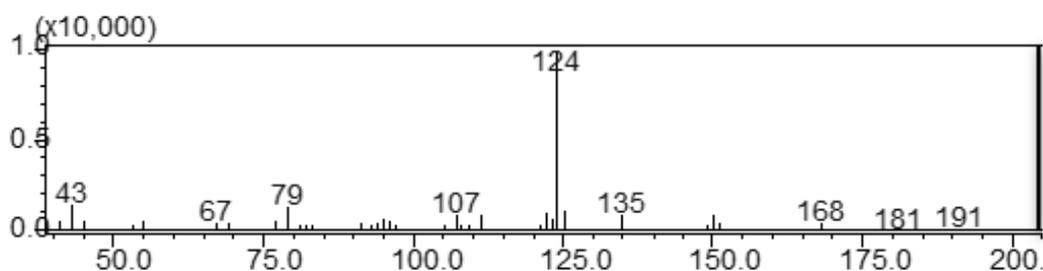
**Figura 48** - Cromatograma de íons totais da fração **F34-75 C3**, provenientes da partição acetato de etila (**F2**) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*.



**Coluna:** DB-5MS. **Condições:** 60°C a 270 °C, 2 °C.min<sup>-1</sup>, T<sub>inj</sub> = 200 °C, fluxo = 1 mL.min<sup>-1</sup>, split 20. 35 minutos. 24.0 kPa. **Fonte:** Própria Autora, 2018.

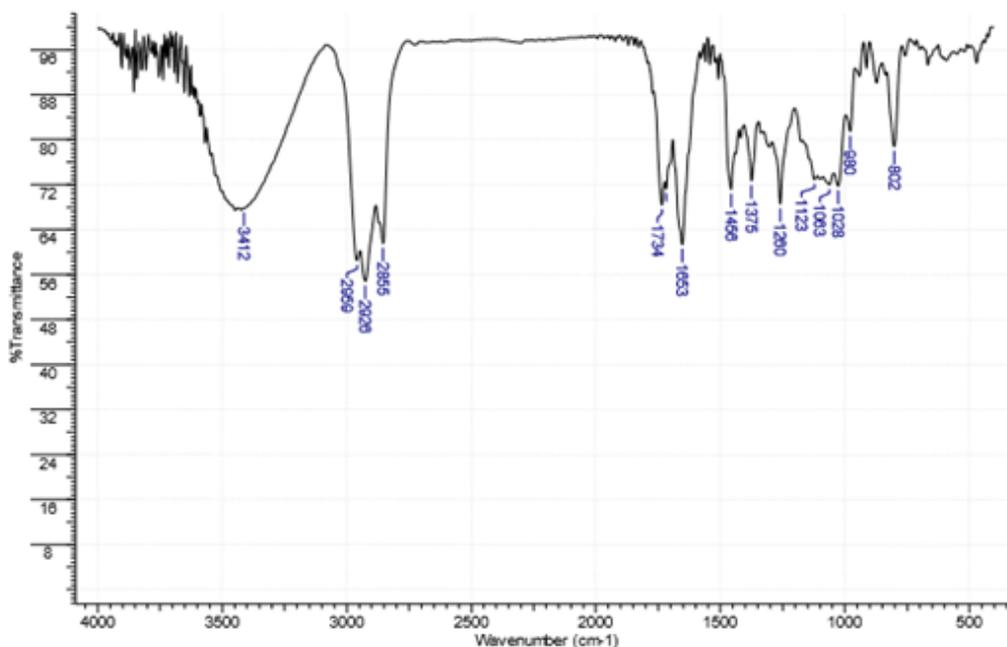
A substância isolada **F34-75 C3** não foi identificada através de comparação do seu espectro de massas (**Figura 49**) com aqueles encontrados na literatura (ADAMS, 2007). Portanto, esta substância foi analisada por espectroscopia no infravermelho (IV - **Figura 50**) espectroscopia de massas de alta resolução (**Figura 51**), espectroscopia por RMN de <sup>1</sup>H (**Figura 52**), RMN de <sup>13</sup>C (**Figura 53**) e RMN 2D com detecções inversas tais como a espectroscopia de correlação bidimensional de acoplamento 1H-1H (COSY – **Figura 54**) espectroscopia bidimensional de coerência múltiplo quantum heteronuclear a uma ligação (HMBC – **Figura 55**) e espectroscopia bidimensional envolvendo transições quânticas heteronucleares simples a uma ligação (HSQC – **Figura 56**) afim de realizar sua elucidação estrutural e trabalhos encontram-se em andamento quanto a elucidação estrutural destes compostos.

**Figura 49** - Espectro de massas obtido por ionização de elétrons (70 eV) da fração **F34-75 C3**, provenientes da partição acetato de etila (**F2**) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*.



**Coluna:** DB-5MS. **Condições:** 60°C a 270 °C, 2°C.min<sup>-1</sup>, T<sub>inj</sub> = 200 °C, fluxo = 1 mL.min<sup>-1</sup>, split 20. 35 minutos. 24.0 kPa. **Fonte:** Própria Autora, 2018.

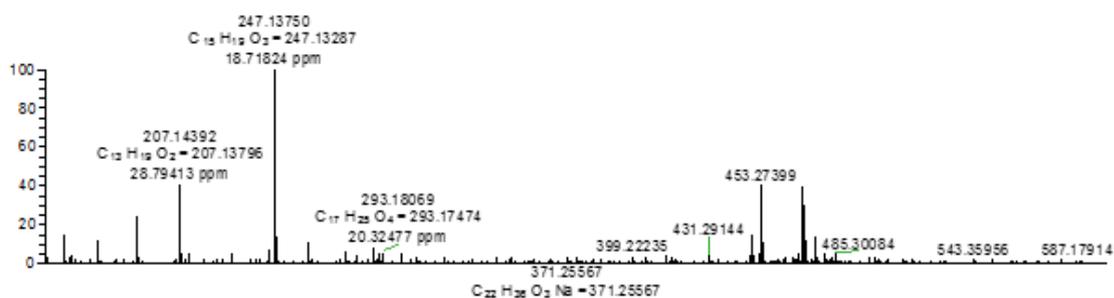
**Figura 50** - Espectro infravermelho da fração **F34-75 C3** da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*.



Fonte: Própria Autora, 2018

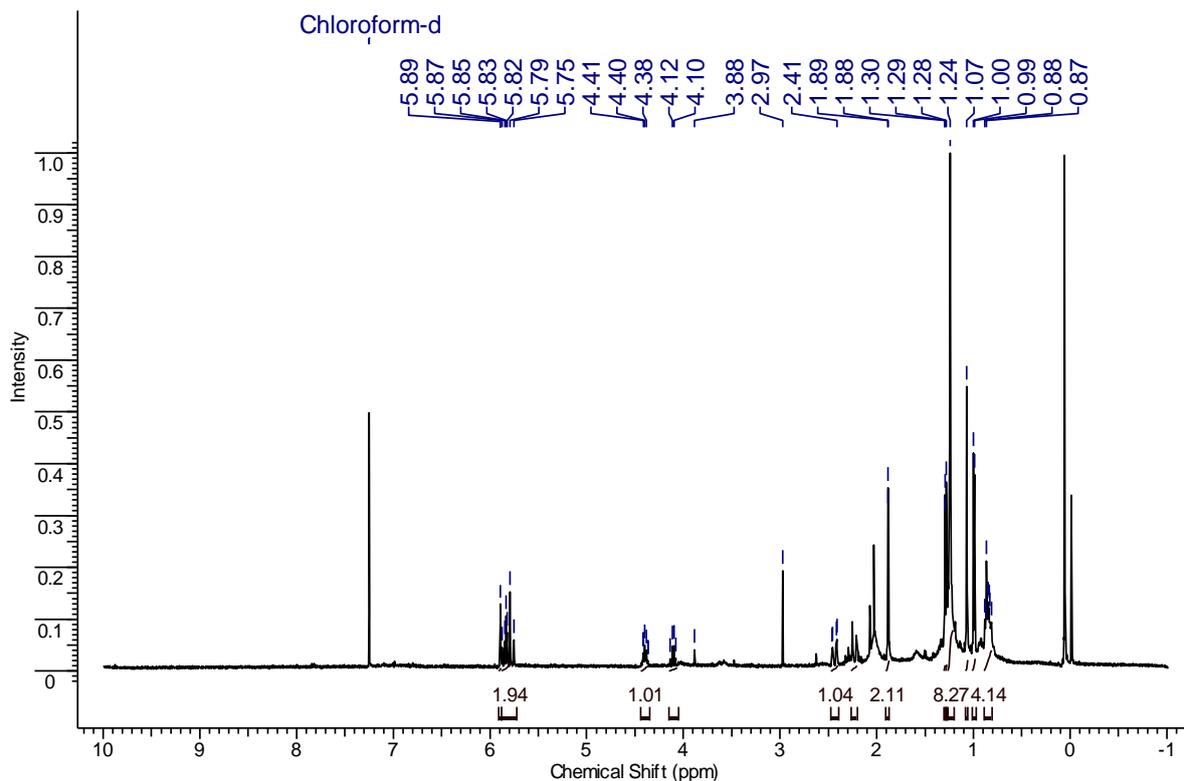
A análise das principais bandas do espectro infravermelho da fração **F34-75 C3** é apresentada na **Tabela 8**. A análise das bandas de IV permite concluir que a substância **F34-75 C3** contém grupos hidroxila ( $3.412\text{ cm}^{-1}$ ), grupos alifáticos, carbonilas ( $1734\text{ cm}^{-1}$ ) e grupos C=C ( $1653\text{ cm}^{-1}$ ), assim como, a ausência de compostos aromáticos.

**Figura 51** - Espectro de massa de alta resolução da fração **F34-75 C3** da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*.



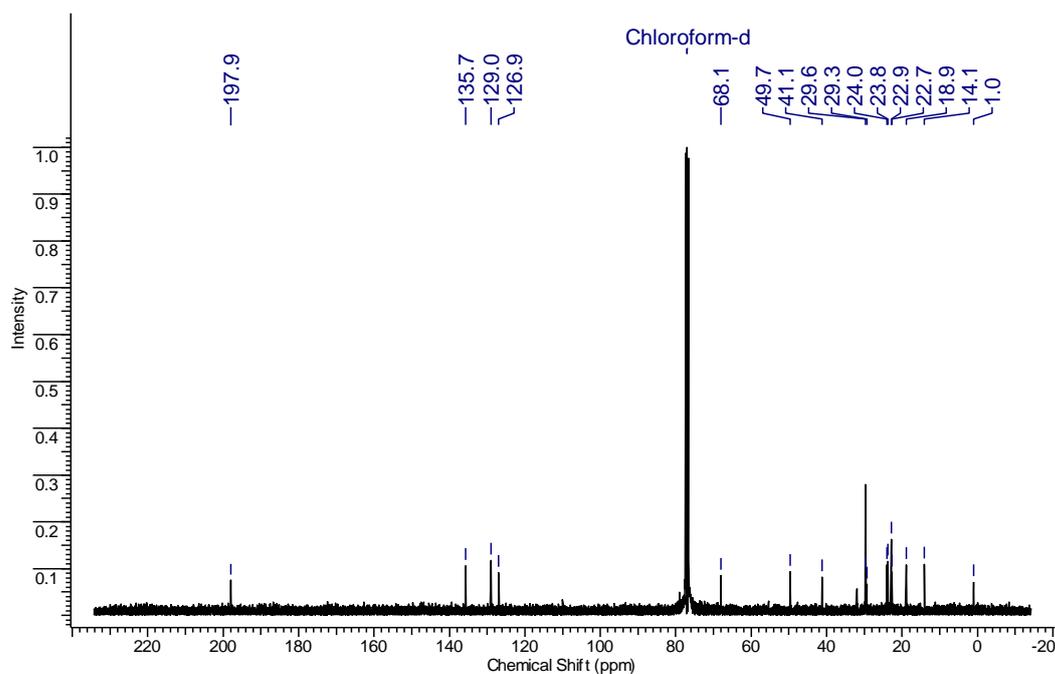
Fonte: Própria Autora, 2018

**Figura 52** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da fração **F34-75 C3** da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*.



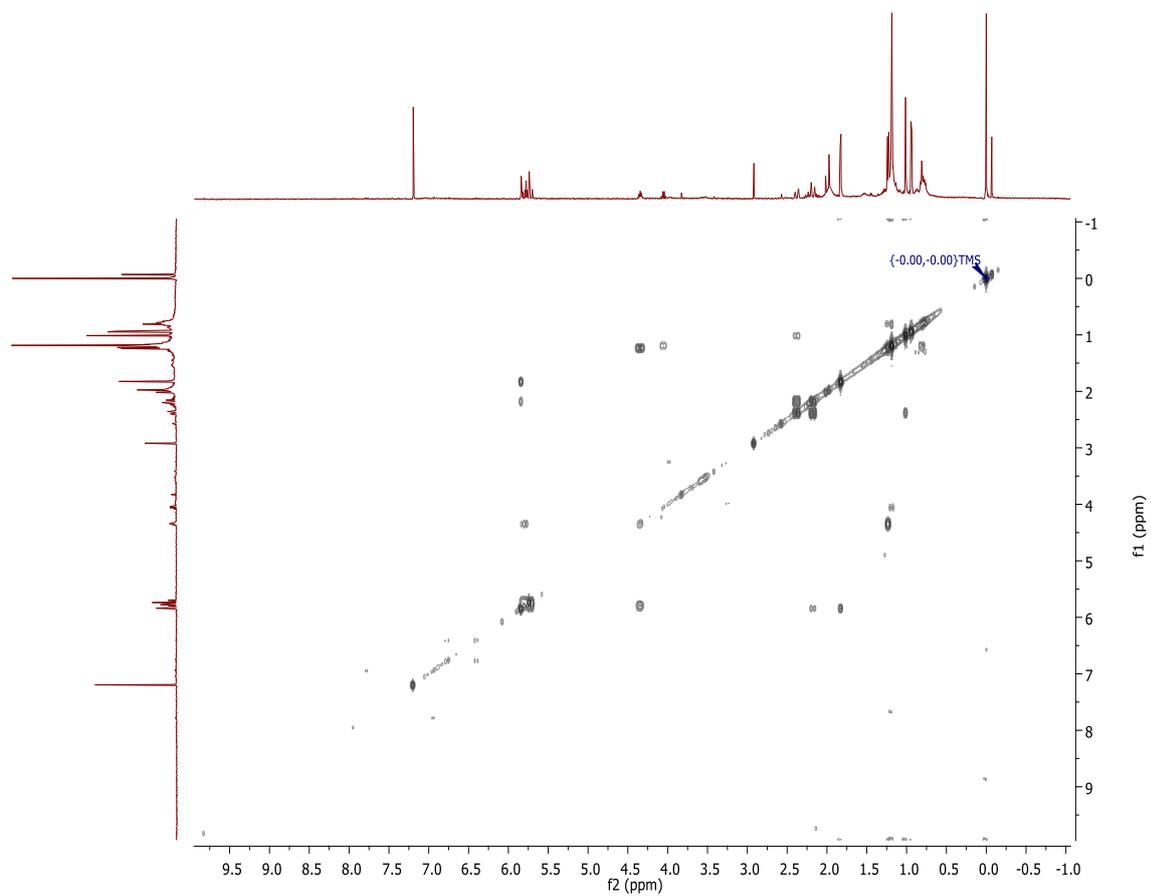
Fonte: Própria Autora, 2018

**Figura 53** - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da fração **F34-75 C3** da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*.



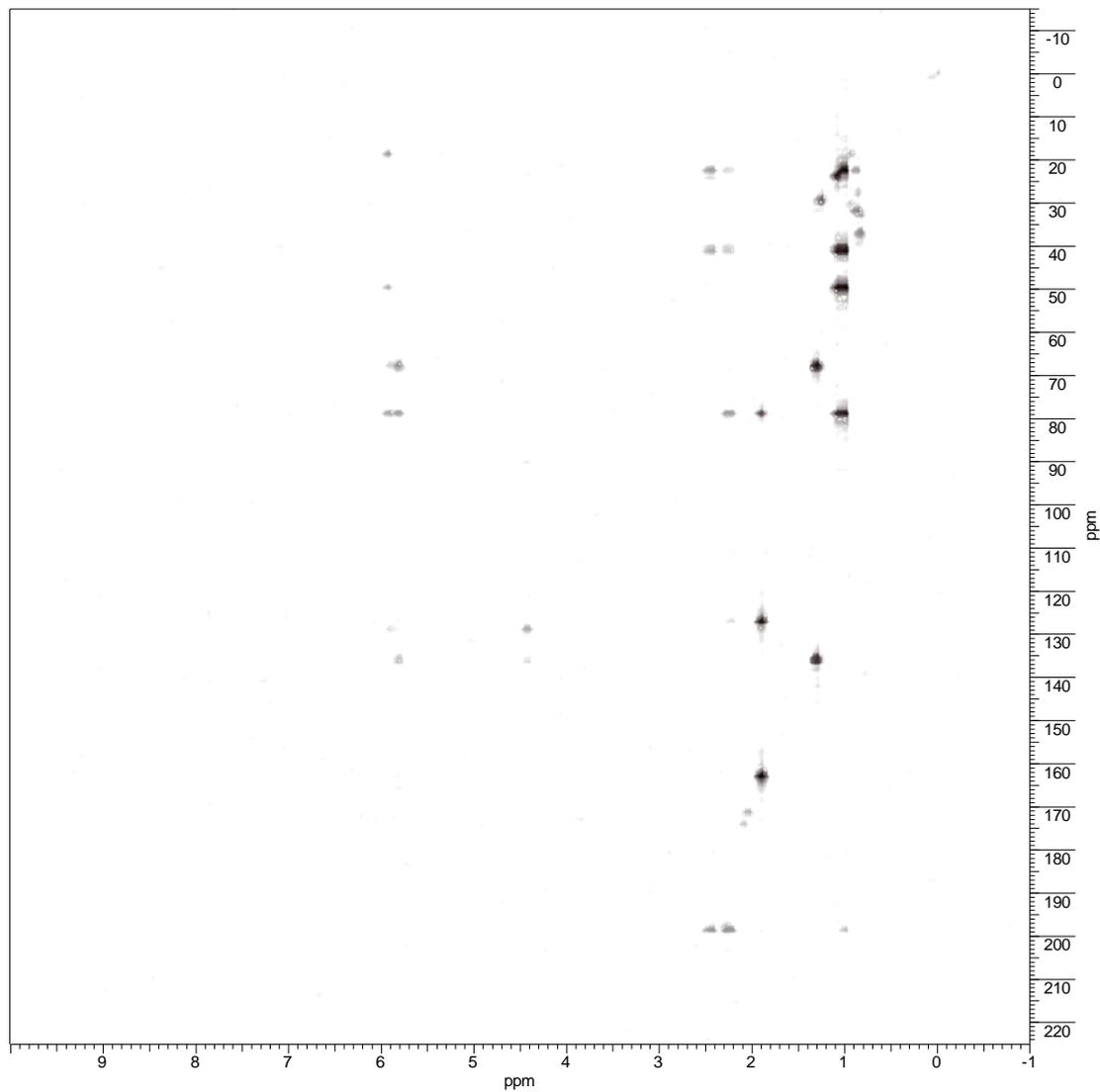
Fonte: Própria Autora, 2018

**Figura 54** - Espectro de RMN 2D ( $^1\text{H}$  e  $^1\text{H}$  gCOSY, 500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da fração **F34-75 C3** da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*.



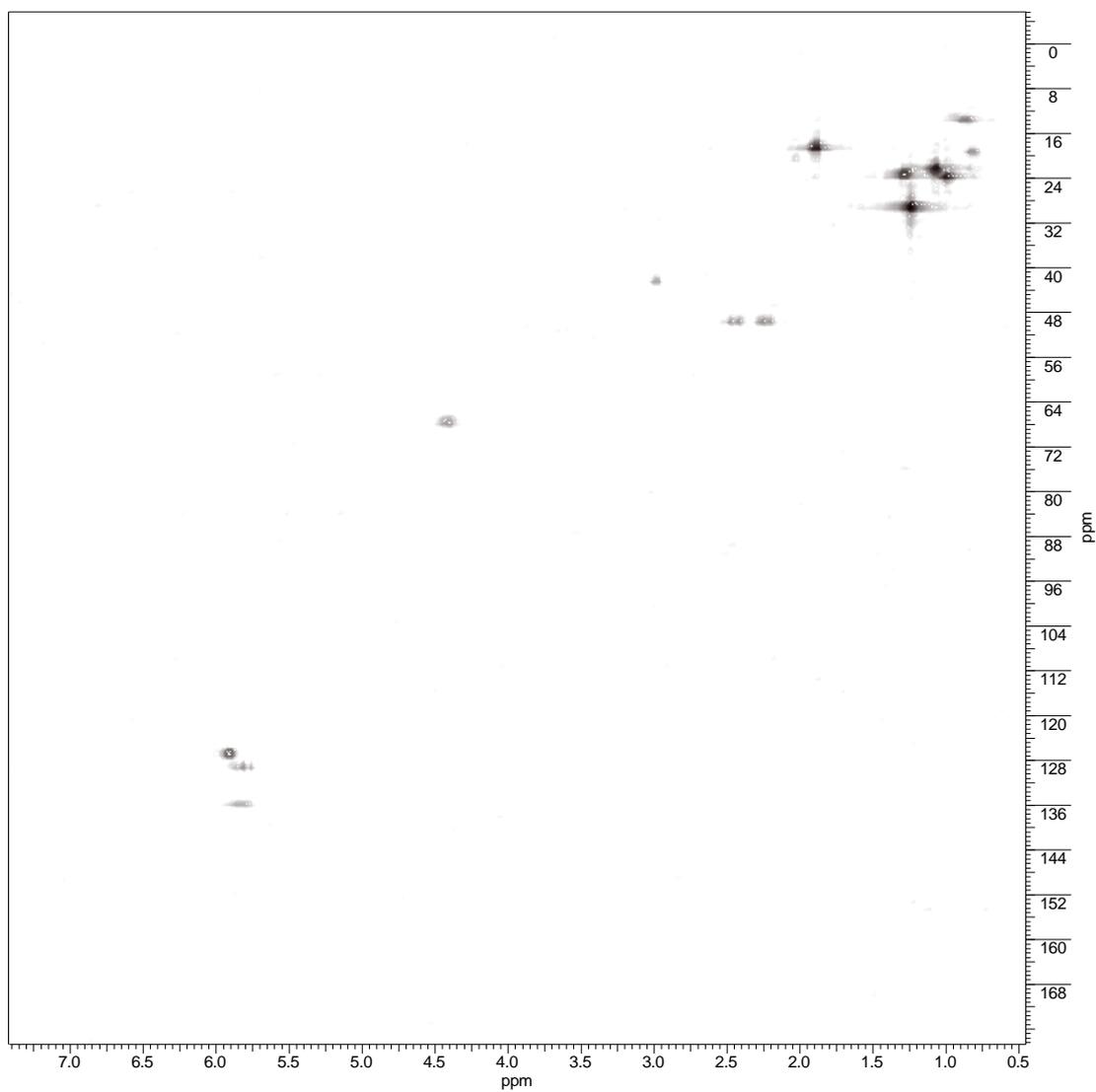
Fonte: Própria Autora, 2018

**Figura 55** - Espectro de RMN 2D acoplamentos de longa distância 3-4J ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  HMBC, 500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da fração **F34-75 C3** da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*.



Fonte: Própria Autora, 2018

**Figura 56** - Espectro de RMN 2D ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  HSQC, 500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da fração **F34-75 C3** da partição acetato de etila (F2) do extrato metanólico da espécie *J. thunbergioides*.



Fonte: Própria Autora, 2018.

## 6 CONCLUSÃO

A HSI-SWIR permitiu visualizar a distribuição espacial dos vários componentes químicos nas espécies vegetais. Neste sentido, através da análise de PLS-DA foi possível gerar um modelo que classificou as espécies evidenciando que o perfil químico dessas são semelhantes, sendo considerado uma ferramenta promissora, para a distinção das espécies *J. pectoralis* e *J. thunbergioides*, que poderá ser usada no controle de qualidade dos materiais vegetais de ambas, justificando assim o uso dessa tecnologia na comparação da autenticidade de matérias-primas vegetais.

Baseando-se nos constituintes químicos encontrados na amostra das folhas de *J. pectoralis*, constatou-se que a mesma segue o padrão da família Acanthaceae, uma vez que, para as seguintes classes de metabólitos secundários: Heterosídeos antraquinônicos, heterosídeos cardioativos, heterosídeos flavonoides, e principalmente cumarinas, a presente pesquisa segue perfil semelhante aos estudos já realizados para a espécie, indicando-os como potenciais marcadores químicos. Por outro lado, os resultados desta pesquisa para saponinas e taninos, apresentaram divergência com a análise fitoquímica realizada por outros autores, evidenciando a necessidade na continuidade de estudos que investiguem a presença destes metabólitos na espécie.

Na avaliação da atividade antioxidante frente ao DPPH o extrato metanólico de *J. thunbergioides* apresentou forte ação antioxidante, inibindo o radical DPPH (0,5 mmol/mL) em cerca de 75% na concentração de 12 µg/mL e IC<sub>50</sub> de 3,2 µg/mL, apresentando potente atividade antioxidante (AAI > 2), sendo assim, mais eficiente que o extrato diclorometânico de *J. thunbergioides* o qual apresentou IC<sub>50</sub> = 78,5 e AAI de 0,25 considerado baixa atividade antioxidante (AAI < 0,5), assim como o extrato hexânico que apresentou uma atividade menor ainda, com AAI = 0,11 (baixo potencial antioxidante) e o IC<sub>50</sub> de 186,38. A ação antioxidante verificada neste trabalho pode ser justificada pela presença de substâncias antioxidantes identificadas no extrato diclorometânico como o esqualeno, sesamina, vitamine E e espatulenol.

Através da identificação dos compostos das frações do extrato diclorometânico das folhas de *J. thunbergioides* através do índice de retenção de Kováts (KI), foram identificados 29 constituintes. A maioria dos constituintes foram terpenos e hidrocarbonetos, destacando-se como constituintes majoritários o isoascaridol (26,38 %), ascaridol (19,81 %), β-oplopenona (17,26 %), triacontanal (10,60 %), octacosanal (9,04 %), 2,6-dimetil-octa-1,7-dien-3,6-diol (4,42 %) e *trans*-p-menth-6-

en-2,8-diol (4.41 %).

O fracionamento cromatográfico do extrato metanólico das folhas de *J. thunbergioides* resultou no isolamento de 3 substâncias, sendo que trabalhos encontram-se em andamento quanto a elucidação estrutural destes compostos. Este estudo relata pela primeira vez a identificação de metabólitos secundários nas folhas de *J. thunbergioides* (Lindau) Leonard com potente atividade antioxidante (AAI > 2) do extrato metanólico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEBE, W.; ZHANG, W.; ZHANG, S.; XIE, G. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil from *Justicia schimperiana*. **Journal of Pharmacognosy & Natural Products**, v. 4, n. 2, 2018.

ABDEL-GHANI, N. T.; SHOUKRY, A. L.; NASHAR, R. M.; Flow injection potentiometric determination of pipazethate hydrochloride. **Analyst**, v. 126, p. 79-85, 2001.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Allured Publishing Corporation, Carol Stream. 1995.

ADAMS, R. P. **Identification of essencial oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4<sup>th</sup> Edition Allured Publishing Corporation, Carol Stream. 2007.

AGBOR, G. A.; LONGO, F.; MAKONG, E. A. AND TARKANG, P. A. Evaluation of the antidiarrheal and antioxidant properties of *Justicia hypocrateriformis*. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 9, p. 1128-1133, 2014.

AHANCHEDÉ, A.; GBEHOUNOU, G.; KOSSOU, KD.; YAYI, E.; AKPO, E. Contribution à l'étude de la caractérisation du pouvoir allélopathique de *Justicia anselliana* (Nees) T. Anders: approche de bioessais utilisant des extraits obtenus à partir du matériel végétal sèche. **Ann Sci Agron Bénin**, v. 6, p. 1-2, 2004.

AHMAD, K. J. Cuticular studies with special reference to abnormal stomatalceils in *Cestrum*. **Journal of the Indian Botanical Society**, v. 43, p. 165-177, 1964.

AHMAD, K. J. Cuticular studies with special reference to abnormal stomatalceils in *Cestrum*. **Journal of the Indian Botanical Society**, v. 43, p. 165-177, 1976.

AHMAD, R. A.; MUN'IM A.; ELYA, B. Study of antioxidant activity with reduction of Dpph radical and xanthine oxidase inhibitor of the extract of *Ruellia tuberosa* Linn leaf. **International Research Journal of Pharmacy**. v. 3, p. 66-70, 2012.

ALONSO, S. J.; NAVARRO, E.; TRUJILLO, J.; JORGE, E.; PÉREZ, C. Profile of activity and cytotoxic screening of elenoside. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, v. 19, p. 186-187, 1997.

ALVES, C. Q.; BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. M.; DAVID, J.P.; LIMA, L. S.; Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. **Diálogos e ciência – Revista da rede ensino FTC**, v. 5, n. 12, p. 7-8, 2007.

ALVES, C. Q. DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. MÉTODOS para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

AMARAL, R. R.; FERNANDES, C. P.; CAMEL, O. P.; TIETBOHL, L. A. C.;

SANTOS, M. G.; CARVALHO, J. C. T.; ROCHA, L. Essential oils from fruits with different colors and leaves of *Neomitranthes obscura* (DC.) N. Silveira: an endemic species from Brazilian Atlantic Forest. **Biomed Research Internationa**, v. 2013, p. 7, 2013.

ANDRIAMAHARAVO, N.R. Retention Data. NIST Mass Spectrometry Data Center., *NIST Mass Spectrometry Data Center*, 2014.

ARAÚJO, L. L. N.; FARIA, M. J. M.; SAFADI, G. M. V. V. S. Prospecção fitoquímica da espécie *Justicia pectoralis* Jacq. var. *stenophylla* Leonard pertencente à família Acanthaceae. **Revista Eletrônica de Ciências Humanas, Saúde e Tecnologia**, v. 3, n. 2, 2014.

AROKIYARAJ, S.; PERINBAM, K.; AGASTIAN, P.; BALARAJU, K. Immunosuppressive effect of medicinal plants of Kolli hills on mitogen-stimulated proliferation of the human peripheral blood mononuclear cells *in vitro*. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 39, p. 180-183, 2007.

ARRABAL, C.; CORTIJO M.; SIMON, B. F.; MARÍA VALLEJO, C. G.; ESTRELLA, C. Differentiation among five Spanish Pinus pinaster provenances based on its oleoresin terpenic composition. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 22, n. 1007–1016, 2005.

ARTEAGA, J. J. M; PEREA, E. M.; VARÓN, E. Y.; OSPINA, W. F. S.; OSORIO, J. N.; MARTÍNEZ, O. M. M. Climate influence on chemical composition and antioxidant activity of *Justicia pectoralis* Jacq. **Revista Cubana de Farmácia**, v. 45, n. 1, p. 88-100, 2010.

ASANO, J.; CHIBA, K.; TADA, M.; YOSHII, T. Antiviral activity of lignans and their glycosides from *Justicia procumbens*. **Phytochemistry**, v. 42, p. 713-717, 1996.

AWAD, R.; AHMED, F.; BOURBONNAIS-SPEAR, N.; MULLALLY, M.; TA CA TANG, A.; MERALI, Z.; MAQUIN, P.; CAAL, F.; CAL, V.; POVEDA, L.; VINDAS, P.S.; TRUDEAU, V. L.; ARNASON, J. T. Ethnopharmacology of Q'eqchi' Maya antiepileptic and anxiolytic plants: effects on the GABAergic system. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 125, p. 257-264, 2009.

BABU, B.; WU, J. T. Production of Natural Butylated Hydroxytoluene as an Antioxidant by Freshwater Phytoplankton. **Journal of Phycology**, v. 44, n. 6, p. 1447-1454, 2008.

BADAMI, S.; ANEESH, R.; SANKAR, S.; SATHISHKUMAR, M. N.; SURESH, B.; RAJAN, S. Antifertility activity of *Derris brevipes* variety coriacea. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 84, p. 99-104, 2003.

BARRACA, S. A. Manejo e Produção de Plantas Medicinais e Aromática. **ESALQ/USP**, 1999.

BARROSO, G. M., PEIXOTO, A. L., COSTA, C. G., ICHASO, C. L. F., GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. **Sistemática das Angiospermas do Brasil**, Editora

Universitária, Universidade Federal de Viçosa, v. 3, p. 142-153, 1986.

BEZERRA, D. P. MARINHO FILHO, J. D, ALVES, A. P, PESSOA, C, MORAES M. O.; PESSOA O. D.; TORRES, M. C.; SILVEIRA, E. R.; VIANA, F. A.; COSTA-LOTUFO, L. V. Antitumor activity of the essential oil from the leaves of *Croton regelianus* and its component ascaridole. **Chemistry & Biodiversity**, v. 6, n. 8, p. 1224-1231, 2009.

BHATNAGAR, A. Nutraceuticals in Sesame Seeds and Oil - A Review. **Beverage and Food World**. 2009.

BEDOYA, L. M.; ALVAREZ, A.; BERMEJO, M.; GONZALEZ, N.; BELTRAN, M.; SANCHEZ-PALOMINO, S.; CRUZ, S. M.; GAITÁN, I.; DEL OLMO, E.; ESCARCENA, R.; GARCIA, P. A.; CÁCERES, A.; FELICIANO, A. S.; ALCAMÍ, J. Guatemalan plants extracts as virucides against HIV-1 infection. **Phytomedicine**, v. 15, p. 520-524, 2008.

BHATTACHARYYA, D.; PANDIT, S.; JANA, U.; SEN, S.; SUR, T. K. Hepatoprotective activity of *Adhatoda vasica* aqueous leaf extract on  $\delta$ -galactosamine-induced liver damage in rats. **Fitoterapia**, v. 76, p. 223-225, 2005.

BLOXTON, J.; DERMARDEROSIAN, A.; GIBBS, R. Bioactive constituents of Alaskan devil's root (*Oplopanax horridus*, Araliaceae). **Economic Botany**, v. 56, p. 285-287, 2002.

BORG, J.; TOAZARA, J.; HIETTER, H.; HENRY, M.; SCHMITT, G.; LUU, B. Neurotrophic effect of naturally occurring long-chain fatty alcohols on cultured CNS neurons. **FEBS Letters**, v. 213, p. 406-410, 1987.

BORGES, R. S.; CASTLE, S. L. **Bioorganic Med. Chem. Lett.** 25, 4808–4811. 2015.

BOULANGER, R.; CROUZET, J., Free and bound flavour components of Amazonian fruits: 3-glycosidically bound components of cupuacu, **Food Chemistry**, v. 70, n. 4, p. 463-470, 2000.

BOYD, R. K.; BASIC, C.; BETHAM, R. A. **Rrace quantitative analysis by mass spectrometry**. West Sussex, England: john wiley & sons Ltd. p. 748. 2008.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRANDÃO, M. G. L.; PAULA-SOUZA, J.; GRAEL, C. F.; SCALON V.; SANTOS, A. C. P.; SALIMENHA, M. F. Biodiversidade, uso tradicional de plantas medicinais e produção de fitoterápicos em Minas Gerais. **Anais do XIV Seminário sobre Economia Mineira**; Belo Horizonte, 2010.

BRAMLEY, P. Review vitamin E. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 913-938, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. **A fitoterapia no SUS e o programa de pesquisas de plantas medicinais da Central de Medicamentos**. Série B: textos básicos de saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente (MMA). Instrução Normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. **Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, v. 145, n. 185, Seção 1, p. 75-83. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução RDC nº 4, de 10 de fevereiro de 2009. **Dispõe sobre as normas de farmacovigilância para os 44 detentores de registro de medicamentos de uso humano**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 11 de fevereiro de 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução RDC nº 13, de 14 de março de 2013. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Produtos Tradicionais Fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 de março de 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília - DF. 2016.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente (MMA). **Plantas para o Futuro**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/conservacao-e-promocao-do-uso-da-diversidade-genetica/plantas-para-o-futuro>. Acesso em 28 julho 2018.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente (MMA). **Biodiversidade**. 2018. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biodiversidade.html>.

BRAZ, D. M.; VIEIRA, M. F.; CARVALHO-OKANO, R. M. Aspectos reprodutivos de espécies de Acanthaceae Juss. de um fragmento florestal do Município de Viçosa, Minas Gerais. **Revista Ceres**, v. 47, p. 229-239, 2000

BRAZ, D. M. **Revisão taxonômica de *Staurogyne wall.* (Acanthaceae) nos neotrópicos**. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. 2005.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

BUZATO, S.; SAZIMA, M; SAZIMA, I. Hummingbird-pollinated floras at three Atlantic Forest sites. **Biotropica**, v. 32, p. 824-841, 2000.

CAI, J.; ZHAO, X. L.; LIU, A. W.; NIAN, H.; ZHANG, S. H. Apigenin inhibits hepatoma cell growth through alteration of gene expression patterns. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 366-373, 2011.

CANEL, C.; MORAES, R. M.; DAYAN, F. E.; FERREIRA, D. Podophyllotoxin. **Phytochemistry**, v. 54, p. 115-120, 2000.

CAPRIO, V.; GUYEN, B.; OPOKU-BOAHEN, Y.; MANN, J.; GOWAN, A. M.; KELLAND, L. M.; READD, M. A.; NEIDLED, S. A Novel Inhibitor of Human Telomerase Derived from 10 H-Indolo [3,2-b] quinoline. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, p. 2063-2066, 2000.

CARLOS, L. A.; **Alcalóides de *Rauvolfia grandiflora* e de *Rauvolfia matfeldiana* (APOCYNACEAE)**. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Aracy Ribeiro – UENF. 2007.

CANSIAN, F. C. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas da espécie *Tynanthus micranthus* corr. mélo (BIGNONIACEAE)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Univerdade Federal do Paraná. 2010.

CAZAROLLI, L. H.; ZANATTA, L.; JORGE, A. P.; DE SOUSA, E.; HORST, H.; WOEHL, V. M.; PIZZOLATTI, M. G.; SZPOGANICZ, B.; SILVA, F. R. Follow-up studies on glycosylated flavonoids and their complexes with vanadium: their anti-hyperglycemic potential role in diabetes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 163, p. 177-191, 2006.

CHEN, C. C.; HSIN, W. W.; KO, F. N.; HUANG, Y. L.; OU, J.C.; TENG, C. M. Antiplatelet aryl-naphthalide lignans from *Justicia procumbens*. **Journal of Natural Products**, v. 59, p. 1149-1150, 1996.

CHANFRAU, J. E. R., LÓPEZ, O. D.; NUNEZ, Y., RODRÍGUEZ, C., Obtención de una Materia Prima de Calidad Farmacéutica a partir de extractos de *Justicia pectoralis* Jacq., mediante Secado por Aspersión. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 3, p. 333-338, 2008.

CHANG, S. T.; WANG, D. S. Y.; WU, C. L.; SHIAH, S. G.; KUO, Y. H.; CHANG, C. J. Cytotoxicity of extractives from *Taiwania cryptomerioides* heartwood. **Phytochemistry**, v. 55, p. 227-232m, 2000.

CHARIANDY, C. M.; SEAFORTH, C. E.; PHELPS, R. H.; POLLARD, G. V.; KHAMBAY, B. P. S. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, p. 265-270, 1999.

CHAKRAVARTY, A. K.; DASTIDAR, P. P. G.; PAKRASHI, S. C. Simple aromatic amines from *Justicia gendarussa*. NMR spectra of the bases and their analogues. **Tetrahedron**, v.38, p. 1797-802, 1982.

CHUNG, B. H.; LEE, J. J.; KIM, J. D.; JEOUNG, D.; LEE, H.; CHOE, J.; HA, K. S.; KWON, Y. G.; KIM, Y. M. Angiogenic activity of sesamin through the activation of multiple signal pathways. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 391, p. 254-260, 2010.

CLODIUS, L.; PILLER, N. B. Conservative therapy for postmastectomy lymphedema. **Cirurgia Plástica**, v. 4. p. 193-202, 1978.

CORTÊS, A. L. A.; RAPINI, A. *Justicieae* (Acanthaceae) do Semiárido do Estado da Bahia, Brasil. **Hoehnea**, v. 40, n. 2, p. 253-292, 2013.

CORRÊA, G. M. **Estudo fitoquímico de *Justicia acuminatissima* (Acanthaceae): caracterização química, avaliação biológica, contaminação fúngica e detecção de produtos radiolíticos.** (Tese de Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

CORRÊA, G. M.; ALCÂNTARA, A. F. C. Chemical constituents and biological activities of species of *Justicia*: a review. **Revista Brasileira de farmacognosia**, v. 22, n. 1, p. 220-238, 2012.

COSTA, A. C. **Farmacognosia**. 2 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v.3, 2001.

COUTINHO, L. M. **Aspectos do cerrado**. 2008. Disponível em <[http://eco.ib.usp.br/cerrado/aspectos\\_bioma.htm](http://eco.ib.usp.br/cerrado/aspectos_bioma.htm)>.

CRONQUIST, A. **Integrated System of classification of flowering plants**. 2. ed. The New York Botanical Garden. 555p., 1988.

DALE, L. M.; THEWIS, A.; BOUDRY, C.; ROTAR, I.; - DARDENNE, P. BAETEN, V. PIERNA, J. A. F. Hyperspectral Imaging Applications in Agriculture and Agro-Food Product Quality and Safety Control: A Review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 48, n. 2, 142-159, 2013.

DANIEL, T. F.; CHUANG, T. I. Chromosome numbers of cultivated Acanthaceae and systematic implications. In: MATHEW, P.; SIVADASAN, M. Diversity and Taxonomy of Tropical Flowering Plants. **Mentor Books**, Calicut, 1998.

DANIEL, T. F.; LOTT, E. J. *Justicia cuixmalensis*, a new species of Acanthaceae from West-Central Mexico. **Proceedings of the California Academy of Science**, v. 60, p. 19-22, 2009.

HOFIUS, D; SONNEWALD, U. Vitamin E biosynthesis: biochemistry meets cell biology. **Trends in Plant Science**, v. 8, n. 1, p. 6-8, 2003.

DAR, A. A.; ARUMUGAM, N. Lignans of sesame: Purification methods, biological activities and biosynthesis - A review. **Bioorganic Chemistry**, v. 50, p. 1-10, 2013.

DAS, N, ISLAM, M. E.; JAHAN, N.; ISLAM, M. S.; KHAN, A.; ISLAM, M. R.; PARVIN, M. S. Antioxidant activities of ethanol extracts and fractions of *Crescentia cujete* leaves and stem bark and the involvement of phenolic compounds. **BMC Complementary Alternative Medicine**, v. 14, n. 45, 2014.

DAY, S.; CHIU, N.; WON, S.; LIN, C. Cytotoxic Lignans of *Justicia ciliate*. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 1056-1058, 1999.

DAY, S. H.; CHIU, N. Y.; TSAO, L. T.; WANG, J. P.; LIN, C. N. New lignan

glycosides with potent antiinflammatory effect, isolated from *Justicia ciliata*. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1560-1562. 2000.

DELMONDES, P. H. Substâncias antioxidantes presentes nos vegetais. **Revista Eletrônica Científica Ensino Interdisciplinar**, v. 1, n. 9, 2013.

DEL VALLE, J. M.; GODOY, C.; ASECIO, M.; AGUILERA, J. M. Recovery of natural antioxidants from boldo (*Peumus boldus* Molina) using conventional solvents and supercritical CO<sub>2</sub> extraction. **Food Research International**, v. 37, p. 695-702, 2004.

DENG, J.; YANG, Y. Chemical fingerprint analysis for quality assessment and control of Bانشa herbal tea using paper spray mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 785, p. 82-90, 2013.

DE VRIES, J. X.; TAUSCHER, B.; WURZEL, G. Constituents of *Justicia pectoralis* Jacq. 2. Gas chromatography/mass spectrometry of simple coumarins, 3-phenylpropionic acids and their hydroxy and methoxy derivatives. **Biomedical & Environmental Mass Spectrometry**, v. 15, n. 8, p. 413-7, 1988.

DJOKAM, M.; SANDASI, M.; CHEN, W. Hyperspectral imaging as a rapid quality control method for herbal tea blends. **Applied Sciences**, v. 7, p. 15-16, 2017.

DURIGAN, G; MELO, A. C. G.; MAX, J. C. M.; BOAS, O. V.; CONTIERI, W. A.; RAMOS, V. S. **Manual para Recuperação da Vegetação de Cerrado**. São Paulo: Páginas & Letras. 2011.

DUKE, J. A. Handbook of medicinal herbs. Florida: **CRC Press**, 1987.

ELGINDI, M. R.; HAGAG, E. G.; MOHAMED, S. E. Phytochemical and Biological Studies of *Ruellia brittoniana*. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 6, n. 4, 2015.

EYLENBOSCH, D; FERNANDEZ PIERNA, J.A; BAETEN, V., BODSON, B. **Detection of wheat root and straw in soil by use of NIR hyperspectral imaging spectroscopy and partial least square discriminant analysis**. In: 13th ESA Congress, Debrecen, Hungary. 2014.

FACUNDO, V. A.; PINTO, A. C.; REZENDE, C. M. Aroma compounds and volatile chemical composition of *Ruellia menthoides* (Nees) Hiern. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, p. 93-95, 2005

FANG, S.H.; RAO, Y.K.; TZENG, Y.M. Inhibitory effects of flavonol glycosides from *Cinnamomum osmophloeum* on inflammatory mediators in LPS/IFN- $\gamma$ -activated murine macrophages. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 2381-2388. 2005.

FARDIN, K. M. **Avaliação do potencial antifúngico e antioxidante em *Avicennia schaueriana* Stapf & Leech. e comparação do perfil químico em diferentes locais de ocorrência**. Dissertação (Mestrato em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo. 2014.

FARIA, J. T.; **Propriedades emulsificantes de saponina de quillaja e  $\beta$ -lactoglobulina: efeitos do pH, da força iônica e das condições de homogeneização.** Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – MS. 2015.

FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS/Florianópolis: Editora da UFSC, 2010.

FERNANDES, R. D.; NEVES, I. A.; SANCHES, M. N. G.; CARVALHO, M. G.; FILHO, R. B. Atividade antioxidante das folhas e caule de *Justicia wassheniana*. **XXII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**. 2012.

FERNANDES, M. G.; GOMES, R. A.; BRITO-FILHO, S. G.; SILVA-FILHO, R. N.; AGRA, M. F.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J. P.; VIEIRA, M. A. R.; MARQUES, M. O. M.; Souza, M. F. V. Characterization and anti-staphylococcal activity of the essential oil from *Turnera subulata* Sm. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 16, n. 3, p. 534-538, 2014.

FERNANDES, R. D. **Estudo fitoquímico de *Justicia wasshauseniana* (Acanthaceae), *Tetrapteryx acutifolia* e *Lophanthera lactescens* (Malpighiaceae) e atividades biológicas.** Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica – RJ. 2016.

FERREIRA, P. S. **Utilização de *Chenopodium ambrosioides* Lineu em animais de produção.** Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás. 2013.

FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. M. O.; RODRIGUES, R. A. F. **Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar. Construindo a História dos Produtos Naturais.** 2006.

FONSECA, F. N.; SILVA, A. H.; LEAL, L. A. M. *Justicia pectoralis* Jacq., Acanthaceae: preparation and characterisation of the plant drug including chromatographic analysis by HPLC-PDA. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 6, p. 871-877, 2010.

FONSECA, F. N. **Desenvolvimento tecnológico de fitoproduto a partir de *Justicia pectoralis* - Chambá: obtenção do extrato seco padronizado (CLAE – DAD) e avaliação farmacológica.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2009.

FUKAMIYA, N.; LEE, K. Antitumor agents, 81. Justicidin-A and diphyllin, two

cytotoxic principles from *Justicia procumbens*. **Journal of Natural Products**, v. 49, p. 348-350, 1986.

FURTADO, F.; NASCIMENTO, E.; MARTINS, M.; OLIVEIRA, A.; MORAIS, S.; CHANG, R.; MARTINS, M.; NETO, J. A. S.; AQUINO, F. Seazonal avaliation of the chemical composition of essetential oils of bark and leaves from *Inga laurina* (Sw.) Willd. **Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. 7 Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De química, 2014.

GHOSAL, S.; BANERJEE, S.; SRIVASTAVA, R. S. Simplexolin, a new lignan from *Justicia simplex*. **Phytochemistry**, v. 18, n. 3, 1979.

GHOSAL, S. SRIVASTAVA, A. K.; SRIVASTAVA, R. S.; CHATTOPADHYAY, S.; MAITRA, M. Chemical constituents of *Justicia*. Part 4. Justicisaponin-I, a new triterpenoid saponin from *Justicia simplex*. **Planta Medica**, v. 42, p. 279-283, 1981.

GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY, M. G.; BERG, C. V. D. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 52-61, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GORZALCZANY, S.; MARRASSINI, C.; MIÑO, J.; ACEVEDO, C.; FERRARO, G. Antinociceptive activity of ethanolic extract and isolated compounds of *Urtica circularis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, p. 733-738, 2011.

GOVINDACHARI, T. R.; JADHAV, S. J.; JOSHI, B. S. Chemical investigation of some Indian plants: Part IV. **Indian Journal of Chemistry**, v. 7, p. 308-10, 1969.

GRAHN, H.; GELADI, P. **Techniques and Applications of Hyperspectral Image Analysis**, Willey, 2007.

GRANT, W. F. A cytogenetic study in the Acanthaceae. **Brittonia**, v. 8, p. 121-150, 1955.

GUPTA, R.; SHARMA, A. K.; DOBHAL, M. P.; SHARMA, M. C.; GUPTA R.S. Antidiabetic and antioxidant potential of b-sitosterol in streptozotocin-induced experimental hyperglycemia. **Journal of Diabetes**, v. 3, 2010.

HASTON, E.; RICHARDSON, J.E.; STEVENS, P.F.; CHASE, M.W. & HARRIS, D.J.: A linear sequence of Angiosperm Phylogeny Group II families. **Taxon**, v. 56, n. 1, p. 7-12, 2007.

HE, X.; LI, J.; ZHAO, W.; LIU, R.; ZHANG, L.; KONG, X. Chemical fingerprint analysis for quality control and identification of Ziyang green tea by HPLC. **Food Chemical**, v. 171, p. 405-411, 2015.

INAMDAR, J. A. Epidermal structure and development of stomata in some Polygonaceae. **Proceedings of the Indian Academy of Science**, v. 72, n. 2, p. 91-98, 1970.

ISIDOROV, V. A.; LECH, P.; ZOLCIAK, A.; RUSAK, N.; SZCZEPANIAK, L. Gas Chromatographic -mass spectrometric investigation of metabolites from the needles and roots of pine seedlings at early stages of pathogenic fungi *Armillaria ostoyae* attack. **Trees**, v. 22, n. 4, p. 531-542, 2008.

ISMAIL, L. D; LORENZ, P.; STERMITZ, F. R. Isolation and synthesis of an  $\alpha$ -malamic acid derivative from *Justicia ghiesbreghtiana*. **Journal of Natural Products**, v. 1, p. 1174-1176, 1998.

JARDIN, C. M.; JHAM, G. N.; DHINGRA, O. D.; FREIRE, M. M. Composition and Antifungal activity of the essential oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, n, 9, p. 1213-1218, 2008.

JIMÉNEZ, G.; HASEGAWA, M.; RODRÍGUEZ, M.; ESTRADA, O.; MÉNDEZ, J.; CASTILLO, A.; GONZALEZ-MUJICA, F.; MOTTA, N.; VÁSQUEZ, J.; ROMERO-VECCHIONE, E. Biological screening of plants of the venezuelan amazons. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 77-83, 2001.

JINDAL, D. P.; CHATTOPADHAYA, R.; MINU, M. Development of beta 2-adrenoceptor agonists: (antiasthmatics-1). **Indian Drugs**, v. 35, p. 606-639, 1998.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**, 4. ed. São Paulo: Nacional, 1976.

JOSEPH, H.; GLEYE, J.; MOULIS, C.; FOURASTE, I.; STANISLAS, E. *O*-methoxylated *C*-glycosylflavones from *Justicia pectoralis*. **Journal of Natural Products**, v. 51, p. 804-805, 1988.

KAMEYAMA, C. **Revisão taxonômica das espécies secundifloras neotropicais de *Lepidagathis* Willd. (Acanthaceae)**, Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade de São Paulo, 1997.

KANCHANAPOOM, T.; NOIARSA, P.; RUCHIRAWAT, S.; KASAI, R.; OTSUKA, H. Triterpenoidal glycosides from *Justicia betonica*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 2613-2618, 2004.

KANCHANAPOOM, T.; NOIARSA, P.; KASAI, R.; OTSUKAB, H.; AND RUCHIRAWAT, S. Justiciosides E–G, triterpenoidal glycosides with an unusual skeleton from *Justicia betonica*. **Tetrahedron**, v. 61, p. 2583–2587, 2005.

KANZLER, S. **Plantas Medicianis – Viva Mais e Melhor**. São Paulo: Blue Editora e Livraria Ltda, 2013.

KATEKHAYE, S.; GAVIT, R. LADDHA, K. A simple method for isolation of sesamin from *Sesamum indicum* Linn. seed oil. **Indian Drugs**, v, 48, 2011.

KAURINOVIC, B.; VLAISAVLJEVIC, S.; POPOVIC, M.; VASTAG, D.; DJURENDIC-BRENESEL, M. Antioxidant Properties of *Marrubium peregrinum* L. (Lamiaceae) Essential Oil. **Molecules**, v. 15, n. 9, p. 5943–5955, 2010.

KAVITHA, J.; GOPALAI AH, K.; RAJASEKHAR, D. G.; SUBBARAJU, V. Juspurpurin, an unusual secolignan glycoside from *Justicia purpurea*. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 1113-1115, 2003.

KNAPP, H.; STRAUBINGER, M.; FORNARI, S.; OKA, N.; WATANABE, N.; WINTERHALTER, P. (S)-3,7-Dimethyl-5-octene-1,7-diol and related oxygenated monoterpenoids from petals of *Rosa damascena* Mill. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 1966-1970, 1998.

KO, T. F.; WENG, Y.M.; CHIOU, Y.Y. Squalene content and antioxidant activity of *Terminalia catappa* leaves and seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5343-5348, 2002.

KOHNO, Y.; EGAWA, Y.; ITOH, S.; NAGAOKA, S.; TAKAHASHI, M.; MUKAI, K. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1256, p. 52-56, 1995.

KRISHNA, K. L.; MRUTHUNJAYA, K.; PATEL, J. A. Antioxidant and hepatoprotective activity of leaf extract of *Justicia gendarussa* Burm. **The International Journal of Biological and Chemical**, v. 3, p. 99-110, 2009.

KÜPELI, E.; ERDEMOGLU, N.; YESILADA, E.; SENER, B. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of taxoids and lignans from the heartwood of *Taxus baccata* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 890, p. 265-2, 2003.

KUNZ, V. T. *Glechon saphulata* Benth: **Estudo fitoquímico e biológico**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Santa Maria – RS. 2007.

KURASHOV, E. A.; MITRUKOVA, G. G.; KRYLOVA, YU, V. Variations in the component composition of essential oil of *Ceratophyllum demersum* (Ceratophyllaceae) during vegetation. **Plant Resources**, 2014.

LACAILLE-DUBOIS, M. A.; WAGNER, H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. **Phytomedicine**, v. 2, n. 4, p. 363-386, 1996.

LARCHER, L.; BOEGER, M. R. T. Anatomia foliar de *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze (Acanthaceae). **Biotemas**, v. 19 n. 4, p. 23-31, 2006.

LEAL, L. K. A. M.; FERREIRA, A. A. G.; BEZERRA, G. A.; MATOS, F. J. A.; VIANA, G. S. B. 2000. Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, p. 151–159, 2000.

LEAL, L. K. A. M.; SILVA, A. H.; VIANA G. S. B. *Justicia pectoralis*, a coumarin

**medicinal plant have potential for the development of antiasthmatic drugs?**

Review. Centro de Estudos Farmacêuticos e Cosméticos, Departamento de Farmácia, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brazil. 2017.

LEMES, J. A.; JUNIOR, F. M.; PEIXOTO, J. C. *Justicia* L. do Cerrado goiano: distribuição e ocorrência de espécies (1839 – 2016). **Anais SNCMA**. 2016.

LEONG, C. N. A.; TAKO, M.; HANASHIRO, I.; TAMAKI, H. Antioxidant flavonoid glycosides from the leaves of *Ficus pumila* L. **Food Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 415-420, 2008.

LOCKLEARA, T. D.; HUANGA, Y.; FRASOR, J.; DOYLE, B. J.; PEREZ, A.; GOMEZ-LAURITO, J.; MAHADYA, G. B. Estrogenic and progestagenic effects of extracts of *Justicia pectoralis* Jacq., an herbal medicine from Costa Rica used for the treatment of menopause and PMS. **Maturitas**, v. 66, p. 315-322, 2010.

LOPES, J. A.; PEREIRA, M. P.; LOPES, C. R. A. S.; MOURA, J. A. Levantamento de potencial medicinal de plantas da família Acanthaceae Juss. da coleção do herbário da amazônia meridional. **Anais da Semana da Biologia & Semana do Jornalismo**. 2014.

LOPEZ, C. Considerações gerais sobre plantas medicinais. **Ambiente, Gestão e Desenvolvimento**, v. 1, n. 1, p. 19–27, 2006.

LORENZ, P.; STERMITZ, F. R.; ISMAIL, L. D. An amide of l-threo-  $\gamma$ -hydroxyglutamic acid from *Justicia ghiesbreghtiana*. **Phytochemistry**, v. 52, p. 63-66 1999.

LIMA, A. R. S. **Desenvolvimento tecnológico de extratos padronizados em cumarinas das partes aéreas de *Justicia pectoralis* Jacq. (Acanthaceae)**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde) - Universidade Estadual de Goiás – Goiás. 2017.

LINO, C. S.; VIANA, G. S. B.; MATOS, F. J. A. Analgesic and antiinflammatory activities of *Justicia pectoralis* Jacq and its main constituents: coumarin and umbelliferone. **Phytotherapy Research**, v. 11, p. 211-215, 1997.

LU, Y. H.; WEI, B. L.; KO, H. H.; LIN, C. N. DNA strand-scission by phloroglucinols and lignans from heartwood of *Garcinia subelliptica* Merr. and *Justicia* plants. **Phytochemistry**, v. 69, p. 225- 233, 2008.

MACDONALD, D.; VANCREY, K.; HARRISON, P.; RANGACHARI, P. K.; ROSENFELD, J.; WARREN, C.; SORGER, G. Ascaridole-less infusions of *C. ambrosioides* contain a nematocide(s) that is(are) not toxic to mammalian smooth muscle. **Journal of ethnopharmacology**, v. 92, n. 2-3, p. 215-221, 2004.

MACHADO, I. C. S.; SAZIMA, M. Biologia da polinização e pilhagem por beija-flores em *Ruellia asperula* Lindau (Acanthaceae) na caatinga, Nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 18, p. 24-33, 1995.

MACHADO, K. N.; KANEKO, T. M.; YOUNG, M. C. M. MURAKAMI, C.; CORDEIRO, I.; MORENO, P. R. H. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils from Two *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. Ex Moldenke (Acanthaceae) Populations. **Medicines**, v. 4, n. 26, 2017.

MALKI, F.; TOUATI, A; MOULAY, S. J. Comparative study of antioxidant activity of some amides. **Journal of Pharmaceutical Research and Analysis**, n. 5, p. 1–5, 2017.

MARCHIORETTO, M. S.; SILVA, V. R. S. P.; PARODE, M. F. A família Acanthaceae Juss. no Rio Grande do Sul. **Pesquisas, Botânica**, n. 68:7-82. Instituto Anchietano de Pesquisas, 2015.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: antioxidantes naturais da família lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 96-103, 2007.

MATOS, J. M. D.; MATOS, M. E. O. **Farmacognosia: curso teórico-prático**. Fortaleza: EUFC. 1989.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: Editora da UFC, 1988.

MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais - Guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil**. 3. ed. Imprensa Universitária/Edições UFC, Fortaleza, 2007.

MECKES, M.; DAVID-RIVERA, A. D.; NAVA-AGUILAR, V., JIMENEZ, A. Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema. **Phytomedicine**, v. 11, p. 446-451, 2004.

MELAGRAKI, G.; A. AFANTITIS, O. IGGLESSI-MARKOPOULOU, A. DETSI, M. KOUFAKI, C. KONTOGIORGIS, D. J. HADJIPAVLOU-LITINA, *EUR. Journal of Medicinal Chemistry*, v. 44, p. 3020–3026, 2009.

MELO, R. F.; ANDRADE, L. H. C. Contribuição ao estudo farmacológico do Chambá – *Justicia pectoralis* Jacq (Acanthaceae). **Biológica Brasileira**, v. 1, p. 195-207, 1989.

MESQUITA, G. C.; LEMES, G. F.; PEIXOTO, J. C. Estudo da atividade antioxidante das folhas de *Justicia thunbergioides* (Lindau) Leonard (Acanthaceae). **Anais do IV Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG**. Universidade Estadual de Goiás. Anápolis – Goiás. 2017.

McDADE, L. A. Phylogenetic relationships among Acanthaceae: evidence from two genomes. **Systematic Botany**, v. 25, p. 106-121, 2000.

MCKENNA, D.J.; TOWERS, G.H.N.; ABBOTT, F.S. Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: tryptamine and p-carboline constituents of Ayahuasca. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 10, p. 195-223, 1984.

MCKENNA, D. J.; RUIZ, J. M.; HOYE, T. R.; ROTH, B. L.; SHOEMAKER, A. T.

Receptor screening technologies in the evaluation of Amazonian ethnomedicines with potential applications to cognitive deficits. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, p. 475-492, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse ao SUS (Rennisus)**. 2009.

MOHAN, V. R.; RAJENDRAKUMAR, N.; VASANTHA K.; MURUGAN, M. Antioxidant Activity of Tuber of *Ruellia tuberosa* L. (Acanthaceae). **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 6, p. 97-103, 2014.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MORONKOLA, D. O.; ABOABA, S. A.; CHOUDHARY, I. M. Composition of volatile oils from leaf, stem, root, fruit, and flower of *Ruellia tuberosa* L. (Acanthaceae) from Nigeria. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 41, p. 1031-1037, 2015.

MOURA, C. T. M.; BATISTA-LIMA, F. J.; BRITO, T. S.; SILVA, A. A. F.; FERREIRA, L. C.; ROQUE, C. R.; ARAGÃO, K. S.; HAVT, A.; FONSECA, F. N.; LEAL, L. K. A. M.; MAGALHÃES, P. J. C. Inhibitory effects of a standardized extract of *Justicia pectoralis* in an experimental rat model of airway hyper-responsiveness. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 69, n. 6, p. 722-732, 2017.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

NAEEM, M.; MASROOR, M.; KHAN, A.; MOINUDDIN. Triacontanol: a potent plant growth regulator in agriculture, **Journal of Plant Interactions**, v. 7, n. 2, p. 129-142, 2012.

NAPOLITANO, H. B.; CAMPOS, D. M. B.; VAZ, W. F.; GARRO, F. L. T. Inovação e Biotecnologia na Biodiversidade do Cerrado. **FRONTEIRAS – ISSN**, v. 5 n. 2, p. 2238-8869, 2016.

NASCIMENTO, W. M. C. **Xarope de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.) no tratamento da tosse e sintomas respiratórios: um ensaio clínico randomizado**. Dissertação (Ciências da Saúde) Universidade Federal do Ceará. SOBRAL – CE. 2018.

NASCIMENTO, K. F.; MOREIRA, F. M. F.; SANTOS, J. A.; KASSUYA, C. A. L.; CRODA, J. H. R.; CARDOSO, C. A. L.; VIEIRA, M. C.; RUIZ, A. L. T. G.; FOGLIO, M. A.; CARVALHO, J. E.; FORMAGIO, A. S. N. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, p. 351-358, 2018.

NAVARRO, E.; ALONSO, S. J.; TRUJILLO, J.; JORGE, E.; PÉREZ, C. General

behavior, toxicity, and cytotoxic activity of elenoside, a lignan from *Justicia hyssopifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 64, p. 134-135, 2001a.

NAVARRO, E.; ALONSO, S. J.; TRUJILLO, J.; JORGE, E.; PÉREZ, C. Pharmacological effects of elenoside, an aryl-naphthalene lignan. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 24, p. 254-258, 2001b.

NEES, C. G. Acanthaceae. IN: MARTIUSK. F. P. VONEICHLER, A. G. (eds.), **Flora Brasiliensis**, v. 9, n. 1, p. 164, 1847a.

NEES, C. G. Acanthaceae. In: A. L. P. P. de Candolle(ed.), **Prodromus Systematic Naturalis Regni Vegetabilis**, vol. 11: 46 – 519, 1847b.

NIKSIC, H.; DURIC, K.; OMERAGIC, E.; NIKSIC, H. E.; MURATOVIC, S.; BECIC, F. Chemical characterization, antimicrobial and antioxidant properties of *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) essential oil. **Bulletin of the Chemist and Technologists of Bosnia and Herzegovina** - University of Sarajevo, Faculty of Pharmacy, 2018.

NIU, C. S.; CHEN, W.; WU, H. T.; CHENG, K. C.; WEN, Y. J.; LIN, K. C.; CHENG, J. T. Decrease of plasma glucose by allantoin, an active principle of yam (*Dioscorea* spp.), in streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 8, p. 12031-12035, 2010.

OLIVEIRA, F.; AKISSUE, G. **Fundamentos da farmacobotânica**. Editora Atheneu. 1989.

OLIVEIRA, A.F.M.; ANDRADE, L.H.C. Caracterização morfológica de *Justicia pectoralis* Jacq. e *J. gendarussa* burm. f. (Acanthaceae). **Acta Amazonica**. Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, 2000a.

OLIVEIRA, A. F. M.; XAVIER, H. S.; SILVA, N. H.; ANDRADE, L. H. C. Screening cromatográfico de Acanthaceae medicinais: *Justicia pectoralis* Jacq. e *Justicia geradarussa* Burm. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 3, p. 37–41, 2000b.

OLIVEIRA, D. M.; PIETRAFESA, J. P.; BARBALHO, M. G. S. Manutenção da biodiversidade e o hotspots cerrado. **Revista Caminhos de Geografia**. Instituto de Geografia – UFU, Programa de Pós-graduação em Geografia. v.9, n. 6, 2008.

OLIVEIRA, R. C.; SANTOS R. F.; JUNIOR, J. F. M.; SARTIN R. D.; BARBALHO, M. G. S.; PEIXOTO, J. C. Inventário florístico do cerrado Goiano na microrregião de Ceres, GO: Flórua das Acanthaceae. **VII Simpósio Nacional de Ciência e Meio Ambiente**. Anais Eletrônicos, PPSTMA, UniEVANGÉLICA. 2016

PALIWAL, G. S. Structure and ontogeny of stomata in some Acanthaceae. **Phytomorphology**, v, 16, p. 527-532, 1966.

PANSARIN, E. R. **Sistemática filogenética e biologia floral de Pogoniinae sul-americanas, e revisão taxonômica e análise das ceras epicuticulares do gênero *Cleisthes* Rich. ex Lindl. (Orchidaceae)**. Doutorado (Doutorado em Biologia Vegetal).

Universidade Estadual De Campinas. 2005.

PANT, B.; MEHRA. Development of stomata in *Psilotum nudum* (L.) Beauv **Current Science**, v. 32, n. 9, p. 420-422, 1963.

PAULO, I. M. M. **Estudo químico e biológico de *Crescentia cujete* L. (BIGNONIACEAE)**. Dissertação (Pós-Graduação em Recursos Naturais do Semiárido) - Universidade Federal do Vale do São Francisco. Petrolina, 2016.

PAVAL, J.; KAITHERI, S.K.; POTU, B.K.; GOVINDAN, S.; KUMAR, R.S.; NARAYANAN, S.N.; MOORKOTH, S. Anti-arthritic potential of the plant *Justicia gendarussa* Burm F. **Clinics**, v.64, p. 357-360, 2009.

PEREIRA, M. F. A. **Biologia d epolinização de duas espécies simpátricas de *Acanthaceana* região de Campinas, São Paulo**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, 1998.

PEIXOTO, J.C.; SILVA, R.S.G. Acanthaceaes do bioma cerrado: identificação dos fitoquímicos das folhas da espécie *Justicia thunbergioides* (lindau) leonard (acanthaceae) ocorrente no parque estadual serra dos pireneus, pirenópolis, GO. **FRONTEIRAS Revista do Mestrado Multidisciplinar em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente**. v.2 n.1, p.17. Goiás, Centro Universitário de Anápolis UniEvangélica, 2013.

PETRAKIS, P.V.; TSITSIMPIKOU, C.; TZAKOU, O.; COULADIS, M.; VAGIAS, C.; ROUSSIS, V. Needle volatiles from five *Pinus* species growing in Greece, **Flavour Fragrance Journal**, v. 16, n. 4, p. 249-252. 2001.

PINTO, P. S. **Terpenóides em espécies do gênero *Salvia* (Lamiaceae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2012.

PORTAL SEIA. **Sistema Estadual de Informações Ambientais – Bahia: Fauna, Flora, Acervo Botânico, Clima, Vegetação e Significado do Termo Cerrado**. 2008.

PONTES, W. J. T.; OLIVEIRA, J. C. S.; CAMARA, C. A. G.; GONDIM, M. G. C.; OLIVEIRA, J. V.; SCHWARTZ, M. O. E. Acaricidal activity of the essential oils of leaves and fruits of *Xylopiia sericea* St. Hill. On the two spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Química Nova**, v. 30, p. 838–841, 2007.

PRADHEEPKUMAR, C. P.; PANNEERSELVAM, N.; SHANMUGAM, G. Cleistanthin A causes DNA strand breaks and induces apoptosis in cultured cells. **Mutation Research**, v. 464, p. 185–193, 2000.

PROFICE, S. R.; SFAIR, J. C.; FILHO, L. A. F. S.; PRIETO, P. V.; PENEDO, T. S. A. Acanthaceae. In: Martinelli, G. & Moraes, M.A. (Orgs.) **Livro Vermelho da Flora do Brasil**. Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1100 pp. 2013.

PROFICE, S. R.; KAMEYAMA, C.; CÔRTEZ, A. L. A.; BRAZ, D. M.; INDRIUNAS,

A.; VILAR, T.; PESSOA, C.; EZCURRA, C.; WASSHAUSEN, D. Acanthaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.

RACHANA, S. B.; MAMTA, P.; MANOJ, K. P.; SONAM, S. Review and future perspectives of using vasicine, and related compounds. **Indo-Global Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 1, n. 1, p. 85-98, 2011.

RAHMAN, A.; SHANTA, Z. S.; RASHID, M. A.; PARVIN, T.; AFRIN, S.; KHATUN, M. K.; SATTAR, M. A. In vitro antibacterial properties of essential oil and organic extracts of *Premna integrifolia* Linn. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, p. 475-479, 2011.

RAJAKUMAR, N.; SHIVANNA, M. B. Ethno-medicinal application of plants in the eastern region of Shimoga district, Karnataka, India. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 126, p. 64-73, 2009.

RAMESH, B.; PUGALENDI, K. V. Antioxidant role of umbelliferone in stz-diabetic rats. **Life Sciences**, v. 79, p. 306–310. 2006.

RATTER, J. BRIDGEWATE, S.; RIBEIRO, J. F.; Analysis of the floristic composition of the Brazilian Cerrado vegetation: comparison of the woody vegetation of 376 areas. **Journal of Botany**, v. 60. n. 1, p. 57-109, 2003.

REDDY, Y. S.; CHINNALA, K. M.; NATH, K. V. S.; MOHAN, E. M.; PREETHI, B. AND NARENDER, B. In vitro evaluation of anti-oxidant activity of different extracts of *Justicia gendarussa* leaf. **Der Pharma Chemica**, v. 7, v. 8, p. 21-24, 2015.

RODRIGUES, M. G; **Flora do Cerrado Goiano: Estudo morfo-anatômico, prospecção fitoquímica, composição química e avaliação da atividade antibacteriana de partes constituintes de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE)**. Dissertação (Mestrado em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente) Centro Universitário de Anápolis UniEvangélica, GO. 2017.

RUKAIYAT, M.; GARBA, S.; LABARAN S. Antimicrobial activities of hexacosane isolated from *Sanseveria liberica* (Gerome and Labroy). **Plant. Advancement in Medicinal Plant Research**, v. 3, n. 3, p. 120-125, 2015.

SÁ, R. D. **Estudo farmacognóstico de *Chenopodium ambrosioides* L.** (Chenopodiaceae). Dissertação (Mestrado, programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2013.

SANMUGAPRIYA, E; SHANMUGASUNDARAM, P; VENKATARAMAN, S. Anti-inflammatory activity of *Justicia prostrata* Gamble in acute and sub-acute models of inflammation. **Inflammopharmacology**, v. 13, p. 493-500, 2005.

SANDASI, M; VERMAAK, II; CHEN, W; VILJOEN, A.M. Hyperspectral Imaging and Chemometric Modeling of Echinacea—A Novel Approach in the Quality Control of Herbal Medicines. **Molecules**, v. 19, p. 13104–13121, 2014.

SANTANA, M. A. N.; Araújo, J. G.; Neto, P. P. M.; Rodrigues, C. F. C.; Barbosa, J. A. P.; Oliveira, T. B.; Pinto, I. M. A.; Lima, F. T.; Bezerra, H. M. S.; Gomes-Júnior, P.P. ; Vieira, J. R. C. Efeito do extrato aquoso de *avicenia schaueriana* sobre *aedes aegypti*. **Resumos Expandidos do I CONICBIO / II CONABIO / VI SIMCBIO** (v.2) Universidade Católica de Pernambuco - Recife - PE – Brasil. 2013.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (eds.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª. Ed. Editora Universidade/UFRGS, Porto Alegre, 2010.

SANTOS, R. F.; ISOBE, M. T. C.; LALLA, J. G.; HABER, L. L.; MARQUES, M. O. M.; MING, L. C. Composição química e produtividade dos principais componentes do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. em função da adubação orgânica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p. 224-234. 2012.

SANTOYO, S.; JAIME, L.; PLAZA, M.; HERRERO, M.; RODRIGUEZ-MEIZOSO, I.; IBÁÑEZ, E.; REGLERO, G. Antiviral compounds obtained from microalgae commonly used as carotenoid sources. **Journal of Applied Phycology**, v. 23 n. 3, 2011.

SARASOLA, A. A. **Evaluación farmacológica de distintos extractos de los rabos de cereza** (*Prunus avium* L.). Dissertação (Mestrado em Farmácia e Química de Produtos Naturais) - Universidade de Salamanca. 2016.

SARTIN, R. D. **O Gênero Justicia L. (Acanthaceae) no Estado de Goiás**. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2015.

SASIREKHA, R.; MANGAYARKARASI, R.; GANESAN, S.; SANTHANAM, P. Biosynthesis, characterization antibacterial effects of silver nanoparticle by using *Carica papaya* fruit extract and it's interaction with an anticancer drug (5 flurouracil). **Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences (JIPBS)**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2018.

SAWATZKY, D.; WILLOUGHBY, D.; COLVILLE-NASH, P.; ROSSI, A. The involvement of the apoptosis-modulating proteins Erk 1/2, Bcl-xL, and Bax in the resolution of acute inflammation in vivo. **The American Journal of Pathology**. v. 168, p. 33-41, 2006.

Saeidnia, S.; Manayi, A.; Gohari, A. R.; Abdollahi, M. The Story of Beta-sitosterol- A Review. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 4, n. 5, p. 590-609, 2014.

SHAROPOV, F.S.; SATYAL, P.; SETZER, W.N.; WINK, M. Chemical compositions of the essential oils of three *Salvia* species cultivated in Germany. **American Journal of Essential Oils and Natural Products**, v. 3, p. 26–29. 2015.

SATYAL, P.; SETZER, W. N. Chemical composition and enantiomeric distribution of monoterpenoids of the essential oil of *Abies spectabilis* from Nepal. **American Journal of Essential Oils and Natural Products**, v. 5, n. 1, p. 22-26, 2017.

SCHERER, R.; Godoy, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v. 112, p. 654–658, 2009.

SCOTLAND, R. W. **Palynology and systematics of Acanthaceae**. Ph.D Thesis. University of Reading, England. 1990.

SCOTLAND, R. W.; VOLLESEN, K. Classification of Acanthaceae. **Kew Bulletin**, v. 55, n. 3, p. 513, 2000.

SCOLASTICI, C. **Efeito do esqualeno em ratos Wistar submetidos ao modelo de hepatocarcinogênese do “Hepatócito Resistente**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Patologia) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. São Paulo. 2003

SEO, W. H.; BAEK, H. H. Identification of characteristic aroma-active compounds from water dropwort (*Oenanthe javanica* DC.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 53, n. 17, p. 6766-6770, 2005.

SHARMA, R.; KISHORE, N.; HUSSEIN, A.; LALL, N. The potential of *Leucosidea sericea* against *Propionibacterium acnes*. **Phytochemistry Letters**, v. 7, p. 124–129, 2014.

SILVA, M. L. C.; Costa, R. S.; Santana, A. S.; Koblitz, M. G. B. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010

SILVA, C. A. L.; **Ação da atividade antioxidante da vitamina e em eritrócitos – aplicações em hemoterapia**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

SILVA, F. F. M.; MOURA, L. F.; BARBOSA, P. T.; FERNANDES, A. B. D.; BERTINI, L. M.; ALVES, L. A. Análise da composição química do óleo essencial de capim santo (*Cymbopogon citratus*) obtido através de extrator por arraste com vapor d’água construído com materias de fácil aquisição e baixo custo. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte – Campus Apodi. **HOLOS**, v. 3, 2013.

SILVA, N. L.; ZOBIOLE, N. N.; SILVA, D. B.; SARTORI, A. L. B.; OLIVEIRA, R. J.; PINTO, M. E. A.; SANTOS, FLÁVIO, J. L.; SIQUEIRA, J. M. Constituintes químicos e atividade fitotóxica das folhas de *Annona nutans*. **Química Nova**, v. 38, n. 5, p. 640-644, 2015.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 6. ed. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre. 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS/Florianópolis: Editora da UFSC, 2010.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL E.P.; MELLO J.C.P.; MENTZ L.A.; PETROVICK P.R. **Farmacognosia do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SIMÓN, F. B.; GARCÍA-VALLEJO, M. C.; CADAHÍA, E.; ARRABAL, C.; CORTIJO, M. Analysis of lipophilic compounds in needles of *Pinus pinea* L. *Annals of Forest Science*, v. 58, n. 4, p. 449–454, 2001.

SLAVIN, M.; KENWORTHY, W.; YU, L. L. Antioxidant properties, phytochemical composition, and antiproliferative activity of maryland-grown soybeans with colored ceed coats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, n. 23, p. 11174–11185, 2009.

SOARES, D, B, S.; **Estudo fitoquímico das folhas de *Psychotria viridis* (Rubiaceae) e avaliação da atividade biológica de extratos e constituintes**. Dissertação (Mestrato em Química Orgânica) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2015.

SOUSA, V. F.; VERSIEUX, L. M. Notes on the ornamental potential and taxonomy of *Justicia* (Acanthaceae, Justicieae), including a first record for the Paraíba Flora, Brazil. *Phytotaxa*, v. 270, n. 3, p. 203–209, 2016.

SOUZA, C. G. **Fitoquímica foliar de *Justicia thunbergioides* (Lindau) Leonard (ACANTHACEAE) ocorrente em cerrado Goiano**. Trabalho de conclusão de curso (Farmácia). Universidade Estadual de Goiás. Goiás. 2014.

SOUZA, V. C; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2ª ed., **Instituto Plantarum**, p. 640, Nova Odessa, 2008.

SOUZA, V. O uso de imagens hiperespectrais com efeitos de reflectância bidirecional na melhoria da classificação de culturas agrícolas. **Revista Eletrônica: Tempo - Técnica - Território**, v.4, n. 1, p. 1-21, 2013.

SOUTO, I. C. C.; FERREIRA, J. L. S.; OLIVEIRA, H. M. B. F.; ALVES, M. A. S. G.; FILHO, A, A. O. Atividades farmacológicas do monoterpeneo 1,8-cineol: um estudo in silico. **Revista Brasileira de Educação e Saúde**, v.6, n.3, p.26-28, 2016.

SRIDHAR, C. KRISHNARAJU, A. V.; SUBBARAJU, G. V. Antiinflammatory constituents of *Teramnus labialis*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, n. 68, p. 111-114, 2006.

STRASSBURG, B. B. N.; BROOKS, T.; FELTRAN-BARBIERI, R.; IRIBARREM, A.; CROUZEILLES, R., LOYOLA, R.; LATAWIEC, A.E.; OLIVEIRA-FILHO, F.J.B.; SCARAMUZZA, C.A.M.; SCARANO, F.R.; SOARES-FILHO, B.; BALMFORD, A. Moment of truth for the Cerrado hotspot, **Nature Ecology & Evolution**, v. 1, n. 4, p. 1-3, 2017.

SUBBARAJU, G. V.; KAVITHA, J. D. R.; RAJASEKHAR, D.; JIMENEZ, J. I. Jusbetonin, the first indolo [3,2- b] quinoline alkaloid glycoside, from *Justicia betonica*.

**Journal of Natural Products**, v. 67, p. 461-462, 2004.

SUBBARAJU, G. V.; KUMAR, K. K.; RAJU, B. L.; PILLAI, K. R.; REDDY, M. C. Justiciresinol, a new furanoid lignan from *Justicia glauca*. **Journal of Natural Products**, v. 6, p. 1639-1641, 1991.

SUJATHA, A. P.; EVANJALINE, M. R.; MUTHUKUMARASAMY, S.; MOHAN, V. R. Determination of bioactive components of *Barleria courtallica* nees (Acanthaceae) by gas chromatography–mass spectrometry analysis. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 10, n. 6, 2017.

SUSPLUGAS, S.; VAN HUNG, N.; BIGNON, J.; THOISON, O.; KRUCZYNSKI, A.; SÉVENET, T.; GUÉRITTE, F. Cytotoxic aryl-naphthalene lignans from a Vietnamese acanthaceae, *Justicia patentiflora*. **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 734-738, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. Porto Alegre: **Artmed**, v. 5, p. 918, 2004.

TAKEDA, K.; MINATO H.; ISHICAWA, M. **Structure and absolute configuration of oplopanone, a new sesquiterpene from *Oplopanax japonicus* (Nakai)**. **Chemical Communicatin**, n. 5, Shionogi Research Laboratory, Fukushima-ku, Osaka, Japan. 1965.

TANKEU, V. I.; CHEN W.; SANDASI M.; VILJOEN, A. Differentiation between two “fang ji” herbal medicines, *Stephania tetrandra* and the nephrotoxic *Aristolochia fangchi*, using hyperspectral imaging. **Phytochemistry**, v. 122, p. 213-222, 2016.

TAVARES, E. S. Anatomia foliar de *Justicia cydoniifolia* (Nees) Lindau Acanthaceae. **Bradea**, v. 6, n. 25, p. 220-231, 1993.

TAYLOR, J. C.; RAPPORT, L.; LOCKWOOD, G. B. Octacosanol in human health. **Nutrition**, v. 19, n. 2, p. 192-195, 2003.

TORRES, M. C. Assunção J. C.; Santiago, G. M.; Andrade-Neto, M.; Silveira, E. R.; Costa-Lotufo, L. V.; Bezerra, D. P.; Marinho Filho, J. D.; Viana, F. A.; Pessoa, O. D. Larvicidal and nematicidal activities of the leaf essential oil of *Croton regelianus*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, n. 12, p. 2724-2728, 2008.

TRUEBA, T. G.; MARTINEZ, R. R.; RUIZ, P. Z.; CHANFRAU, R. J. Evaluación de la actividad antioxidante de *Justicia pectoralis* Jacq. **Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas**, v. 20, n. 1, p. 30-33, 2001.

TRUJILLO, J. M.; JORGE, R. E.; NAVARRO, E.; BOADA, J. Lignans from *Justicia hyssopifolia*. **Phytochemistry**, v. 29, 1990.

TSENG, Y. P.; KUO, Y. H.; HU, C. P.; JENG, K. S.; JANMANCHI, D.; LIN, C. H.; CHOU, C. K.; YEH, S. F. The role of helioxanthin in inhibiting human hepatitis B viral replication and gene expression by interfering with the host transcriptional machinery of viral promoters. **Antiviral Research**, v. 77, p. 206- 214, 2008.

TUNSARINGKARN, T.; PALANUVEJ, C.; RUNGSIYOTHIN, A.; ISSARAVANICH, S.; VIPUNNGEUN, N.; CHUTHAPUTTI, A.; RUANGRUNGSI, N. Pharmacognostic specification of *Kaempferia galanga* rhizome in thailand. **Journal of Health Research**, v. 21, n. 3, p. 207-214, 2007.

UMER, S.; ASRES, K.; VEERESHAM, C. Hepatoprotective activities of two Ethiopian medicinal plant. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, p. 461-468, 2010.

URITU, C. M.; MIHAI, C. T.; MIHAI, STANCIU, G. D.; DODI. G.; ALEXA-STRATULAT, T.; LUCA, A.; LEON-CONSTANTIN, M.; STEFANESCU, R.; BILD, V.; MELNIC, S. "Medicinal Plants of the Family Lamiaceae in Pain Therapy: A Review," Pain Research and Management, vol. 2018, 44 pages, 2018.

VARGEM, D. S. **Morfoanatomia, prospecção fitoquímica e caracterização do óleo essencial das folhas de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE) ocorrente em Brasília, DF.** Dissertação (Mestrado em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente) Centro Universitário de Anápolis UniEvangélica. 2015.

VEDERNIKOV, D. N.; ROSCHIN, V. I. Extractive compounds of Birch Buds (*Betula pendula* Roth.): I. Composition of fatty acids, hydrocarbons, and esters. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**. v. 36, n. 7, p. 894-898, 2010.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VERDAM, M. C. S.; GUILHON-SIMPLICIO, F.; BARBOSA, G. S.; MAGALHÃES A. L.; OLIVEIRA, C. I. F. B.; ALMEIDA, P. D. O.; MACHADO, T. M.; VASCONCELLOS, M. C.; LIMA, E. S.; OHANA, D. T.; PEREIRA, M. M. Anti-inflammatory action of *Justicia acuminatissima* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25 n. 4, p. 264-268, 2015.

VILA, F.C. "**Identificação dos flavonóides com atividade antioxidante da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*).**" Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade de São Paulo. São Carlos-SP. 2006.

VILA, R.; VALENZUELA, R.; BELLO, H. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Peumus boldus* leaves. **Planta Medica**, v. 65, p. 178-179, 1999.

VILAR, T. S. **Acanthaceae Juss no Distrito Federal, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade de Brasília. Brasília, DF. 2009.

VITORINO, L. C. **Caracterização da comunidade endofítica radicular de *hyptis marrubioides* epling, potencial biotecnológico e perfil químico induzido por essa comunidade em plântulas micropropagadas.** Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde. 2011.

WAHI, S. P.; WAHI, A. K.; KAPOOR, R. Chemical study of the leaf of *Justicia gendarussa* Burm. **JRIM**, v. 9, p. 65-66, 1974.

WANG, S.; DUSTING, G. J.; WOODMAN, O. L.; MAYA, C. N. Selective vasodilator and chronotropic actions of 3,4-dihydroxyflavonol in conscious sheep. **European Journal of Pharmacology**, v. 491, p. 43-51, 2004.

WANG, C. L. J.; RIPKA, W. C. Total synthesis of justikidin P. A new lignan lactone from *Justicia extensa*. **The Journal of Organic Chemistry**, v.48, p. 2555-2557, 1983.

WASSHAUSEN, D. Acanthaceae (*Acanthus family*). In: SMITH, N., MORI, S. A., HENDERSON, A., STEVENSON, D. W., HEALD, S. V. Flowering plants of the neotropics. p. 3- 7. Princeton University Press, **The New York Botanical Garden**, 2004.

WASSHAUSEN, D.; WOOD, J. R. I. Acanthaceae of Bolivia. **Contributions from the United States National Herbarium**, v. 49, p. 1-152, 2004.

WEYERSTAHL, P.; MARSCHALL-WEYERSTAHL, H.; MANTEUFFEL, E.; KAUL, V. K. Constituents of the Essential Oil of *Strobilanthes callosus* Nees, **Journal of Essential Oil Research**, v. 4, n. 3, 281-285. 1992.

WIDYOWATI, R.; AGIL, M. Chemical Constituents and Bioactivities of Several Indonesian Plants Typically Used in Jamu. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 66, p. 506-518, 2017.

WILLIAMS, R. B.; HOCH, J.; GLASS, T. E.; EVANS, R.; MILLER, J. S.; WISSE, J. H.; KINGSTON, D. G. I. A novel cytotoxic guttiferone analogue from *Garcinia macrophylla* from the Suriname Rainforest. **Planta Medica**, v. 69, p. 864-866, 2003.

WOODMAN, O. L.; MALAKUL, W. 3',4'-Dihydroxyflavonol prevents diabetes-induced endothelial dysfunction in rat aorta. **Life Sciences**, v. 85, p. 54-59, 2009.

WOODMAN, O. L.; MEEKER, W. F.; BOUJAOUDE, M. Vasorelaxant and antioxidant activity of flavonols and flavones: structure - activity relationships. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 46, p. 302- 309. 2005.

WORADULAYAPINIJ, W.; SOONTHORNCHAREONNON, N.; WIWA, C. *In vitro* HIV type 1 reverse transcriptase inhibitory activities of Thai medicinal plants and *Canna indica* L. rhizomes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 84-89, 2005.

WU, T. W.; LEE, C. C.; HSU, W. H.; HENGEL, M.; SHIBAMOTO, T. 2017. Antioxidant Activity of Natural Plant Extracts from Mate (*Ilex paraguariensis*), Lotus Plumule (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) and Rhubarb (*Rheum rhabarbarum* L.). **Journal of Food and Nutritional Disorders**, v. 6 n. 3, 2017.

WU, C. M.; WU, S. C.; CHUNG, W. J.; LIN, H. C.; CHEN, K. T.; CHEN, Y. C.; HSU, M. F.; YANG, J. M.; WANG, J. P.; LIN, C. N. Antiplatelet effect and selective binding to cyclooxygenase (COX) by molecular docking analysis of flavonoids and lignans. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 8, n. 8, p. 830-841, 2007.

YANG, D. Z.; AN, Y. Q.; JIANG, X. L.; TANG, D. Q.; GAO, Y. Y.; ZHAO, H. T.; WU, X. W. Development of a novel method combining HPLC fingerprint and multi-

ingredients quantitative analysis for quality evaluation of traditional chinese medicine preparation. **Talanta**, v. 85, p. 885-890, 2011.

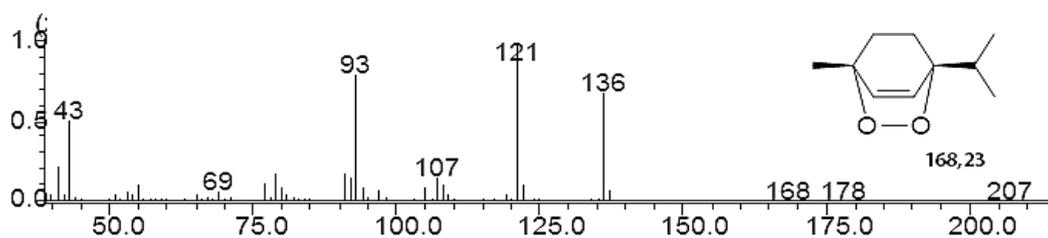
YLIAS, M. VERMA, R.; JAMAL, P. Chemical constituents of the flowers of *Strobilanthes callosus* (Acanthaceae). **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 56, 1979.

ZHU, Y.; LI, X.; MO, H.; ZHANG, L.; ZHANG, L.; ZHOU, S.; MA, X.; ZHANG, B. Gastroprotective Effects of Ascaridole on Gastric Ulcer in Rats. **Chinese Herbal Medicines**, v. 4, n. 1, p. 58-62, 2012.

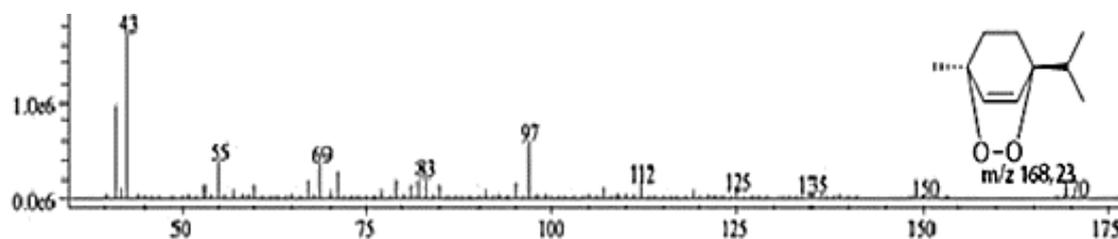
ZYGADLO, J. A.; LAMARQUE, A. L.; MAESTRI, D. M.; NEGUERUELA A. V.; ALONSO, M. J. P.; VALLEJO, M. C. G. Volatile constituents from flowers of *Acacia praecox* Gris. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 11, n. 1, p. 3-5, 1996.

## ANEXOS

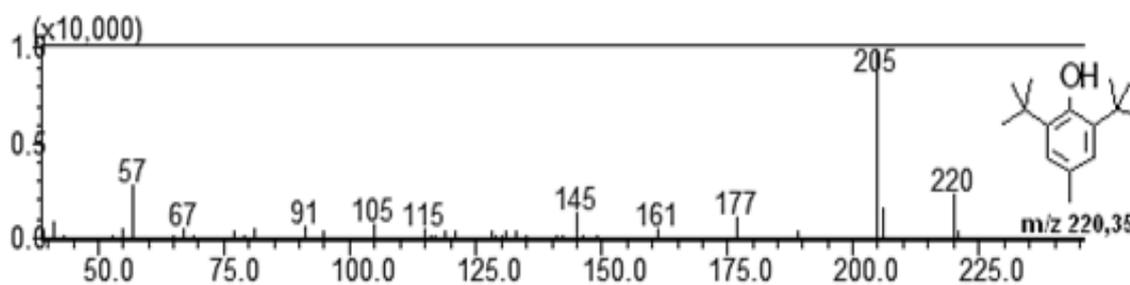
ANEXO 1 - Espectro de massa obtido por ionização de elétrons (70 eV) do ascaridol



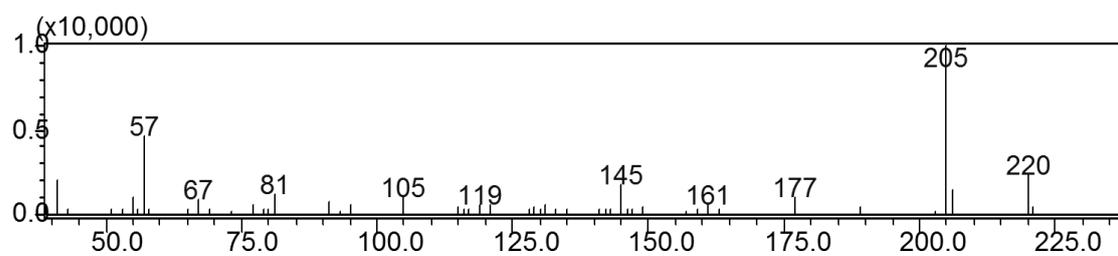
ANEXO 2 - Espectros de massa obtido por ionização de elétrons (70 eV) do isoascaridol



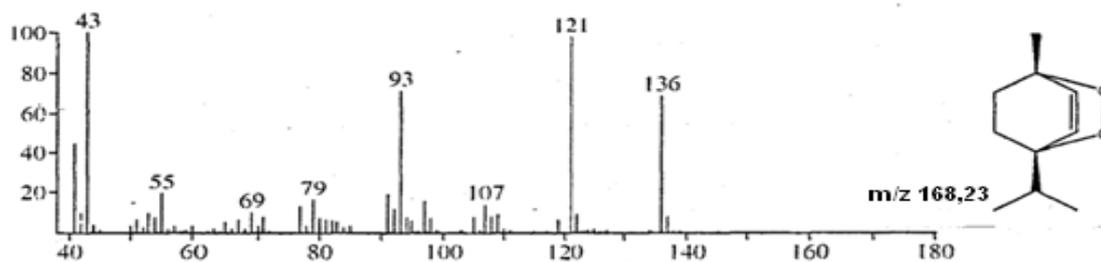
ANEXO 3 - Espectro de massa obtido por ionização de elétrons (70 eV) dibutilhidroxitolueno



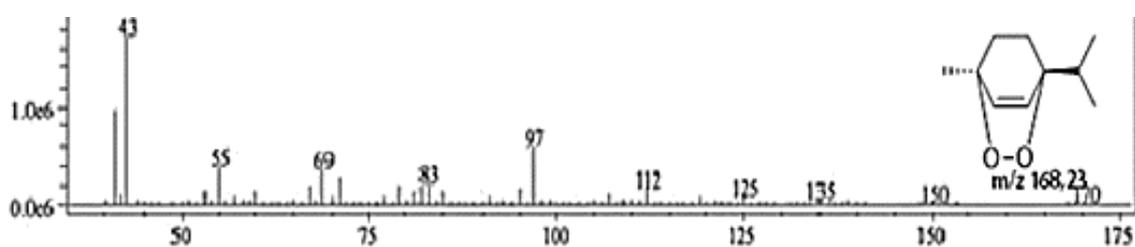
ANEXO 4 - Espectro de massas do dibutilhidroxitolueno



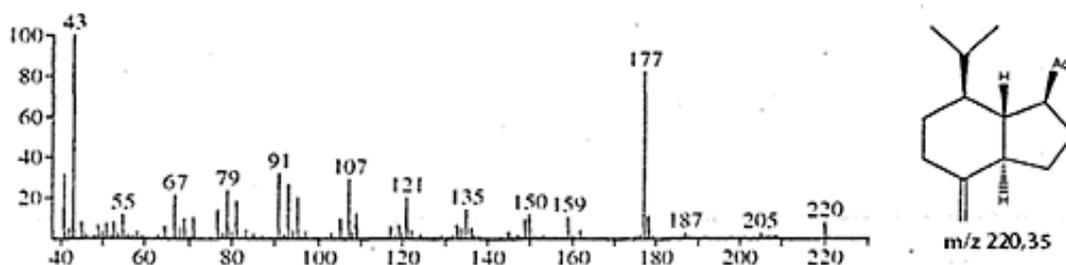
ANEXO 5 - Espectro de massa obtido por ionização de elétrons (70 eV) do ascaridol (Pico 1)



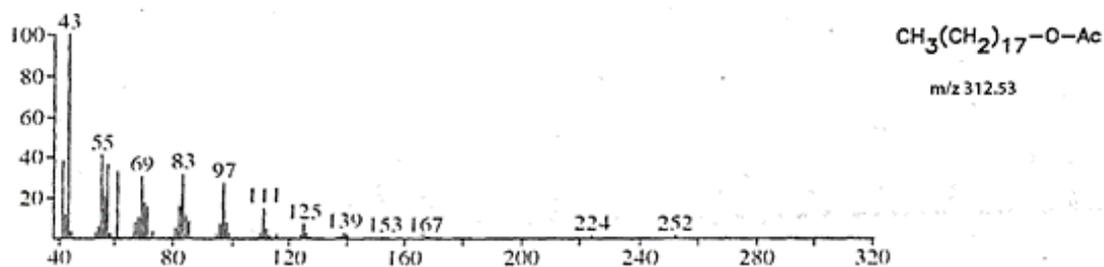
ANEXO 6 - Espectros de massa obtido por ionização de elétrons (70 eV) do isoascaridol (Pico 2)



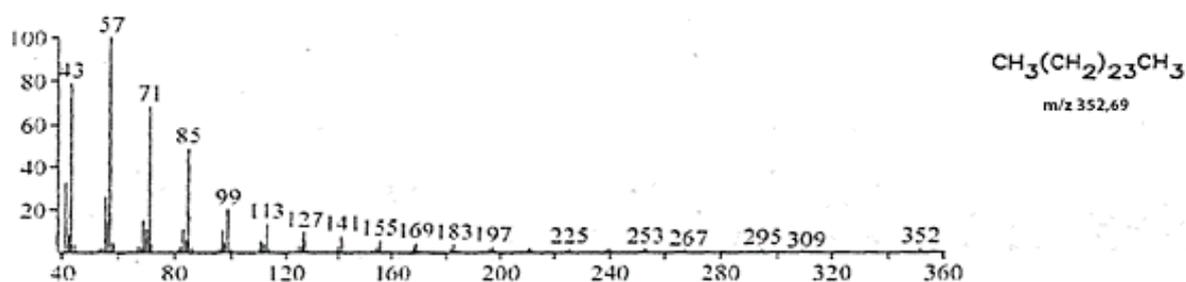
ANEXO 7 - Espectro de massas do  $\beta$ -Oplophenone (pico 3)



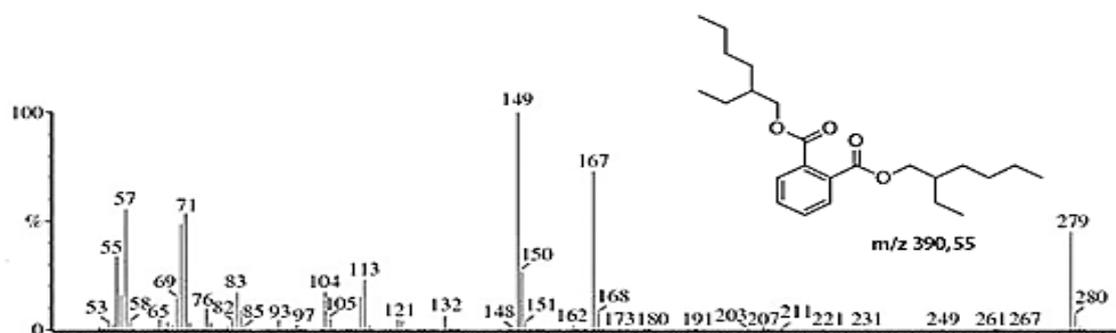
ANEXO 8 - Espectro de massas do Octadecyl acetato (pico 4)



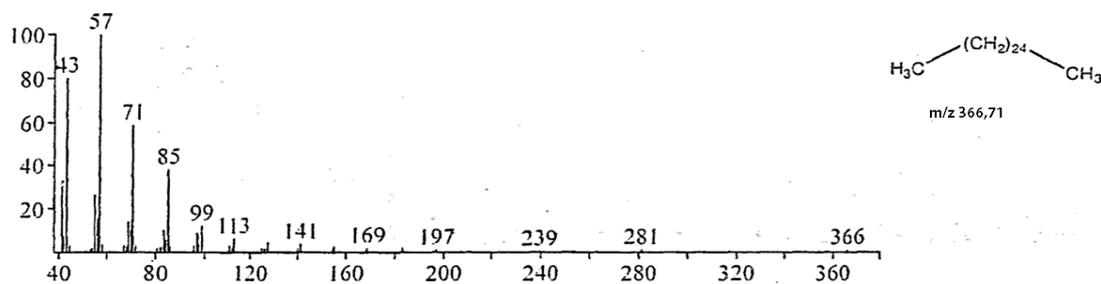
ANEXO 9 - Espectro de massas do Pentacosano (pico 5)



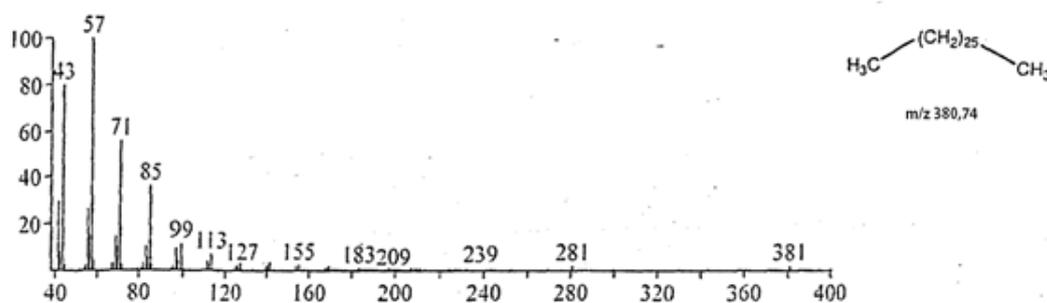
ANEXO 10 - Espectro de massas do Bis(2-ethylhexyl) fitalato (pico 6)



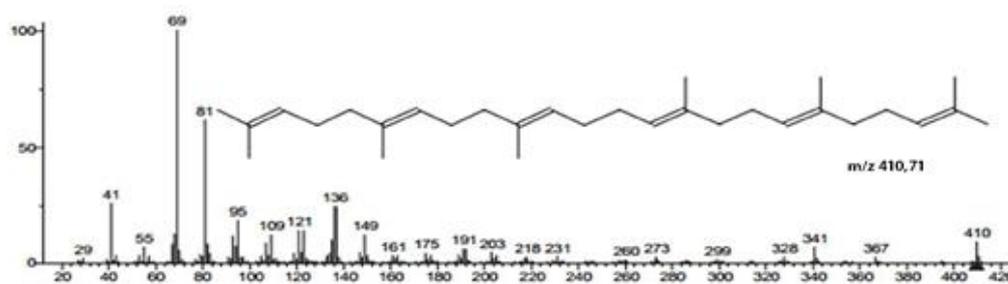
ANEXO 11 - Espectro de massas do Hexacosano (pico 7)



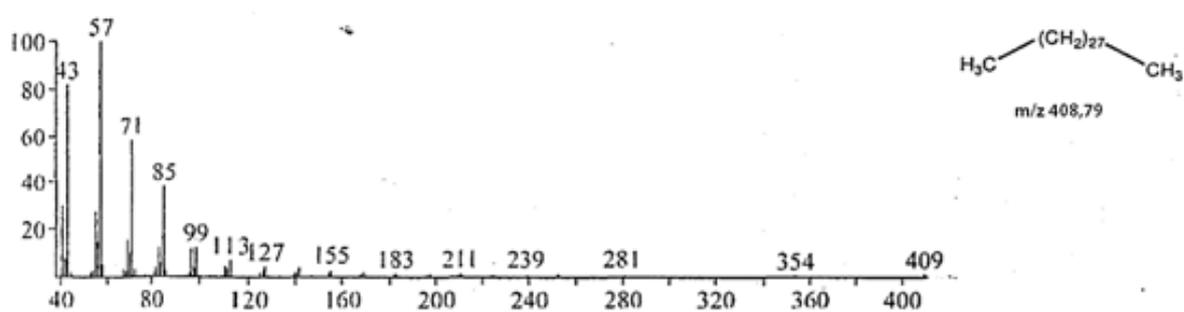
ANEXO 12 - Espectro de massas do Heptacosano (pico 8)



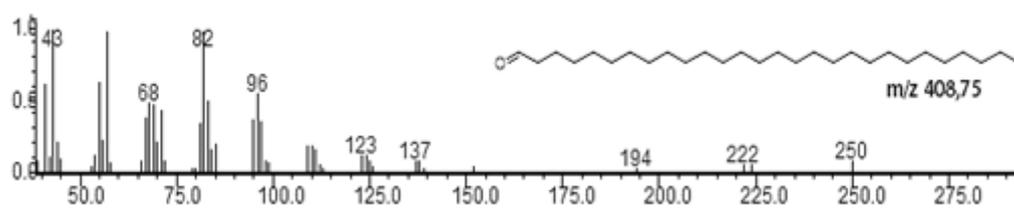
ANEXO 13 - Espectro de massas do Esqualeno (pico 9)



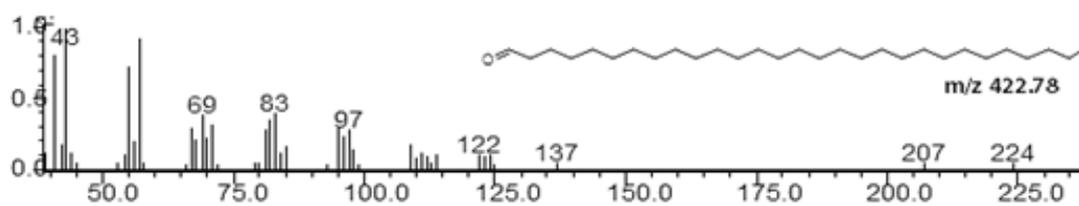
ANEXO 14 - Espectro de massas do Nonacosano (pico 10)



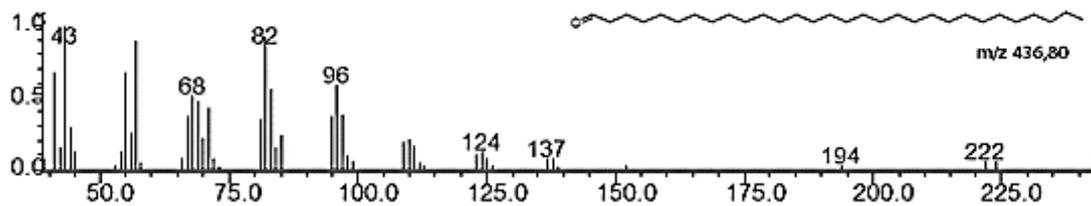
ANEXO 15 - Espectro de massas do Octacosanal (pico 11)



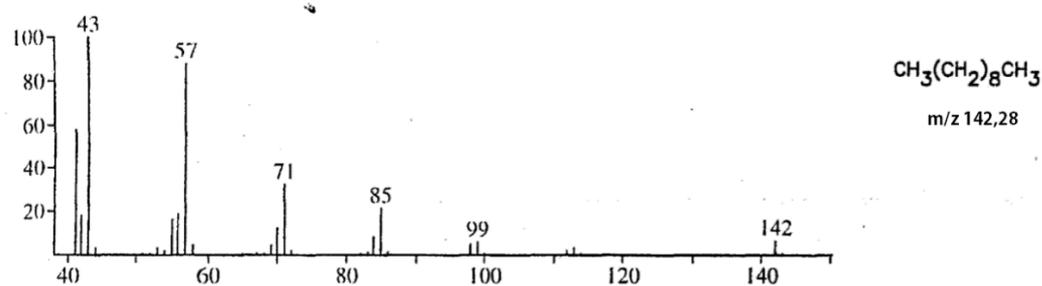
ANEXO 16 - Espectro de massas do Nonacosanal (pico 12)



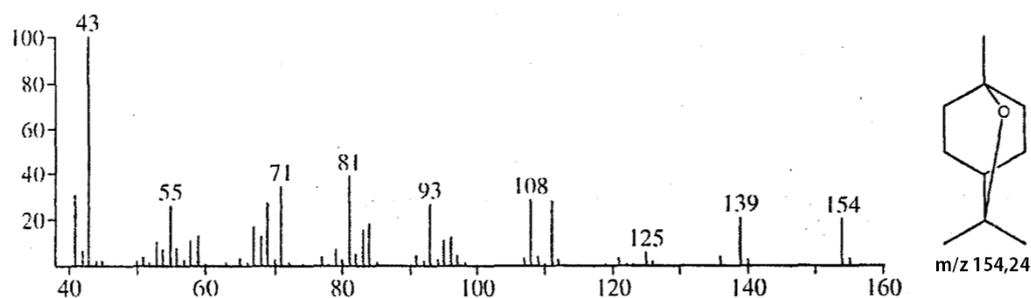
ANEXO 17 - Espectro de massas do Triacontanal (pico 14)



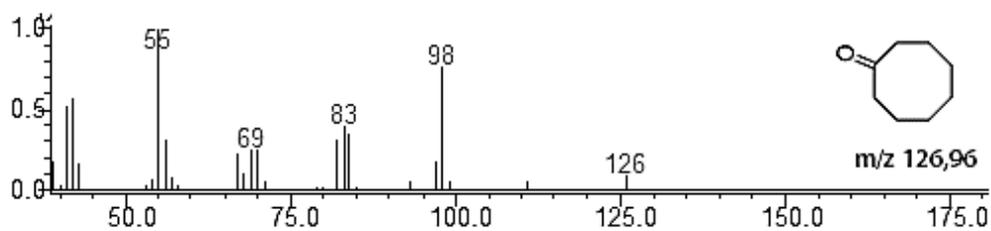
ANEXO 18 - Espectro de massas do Decane (Pico 1)



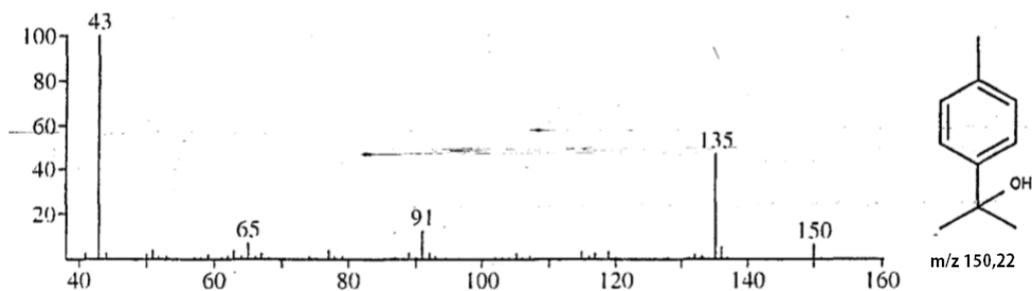
ANEXO 19 - Espectro de massas do 1,8-Cineol (Pico 2)



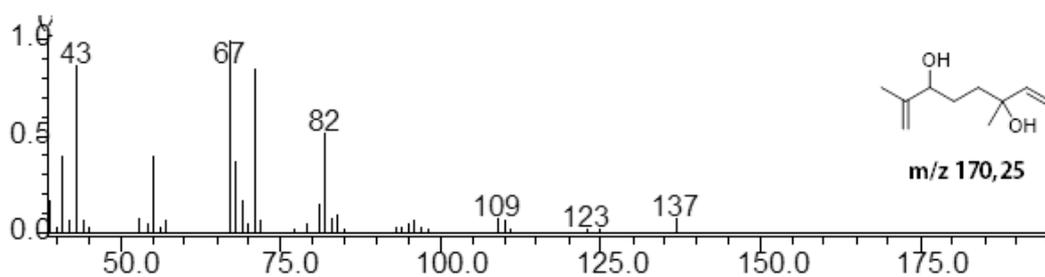
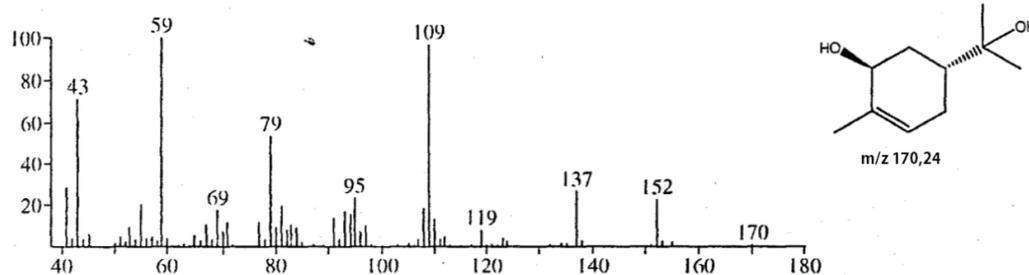
ANEXO 20 - Espectro de massas do Ciclooctanona (Pico 3)



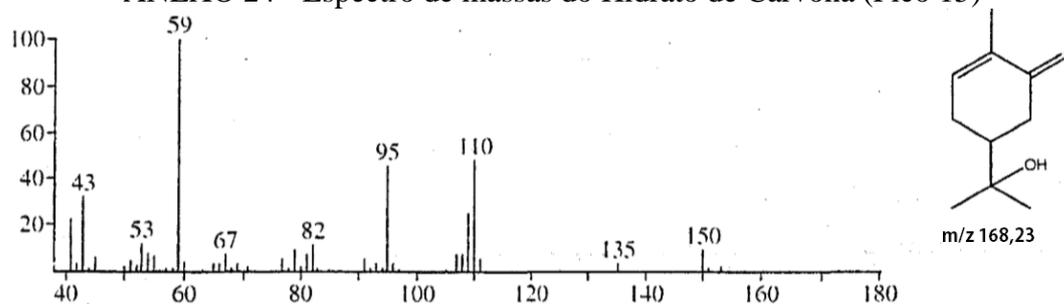
ANEXO 21 - Espectro de massas do p-Cymen-8-ol (Pico 4)



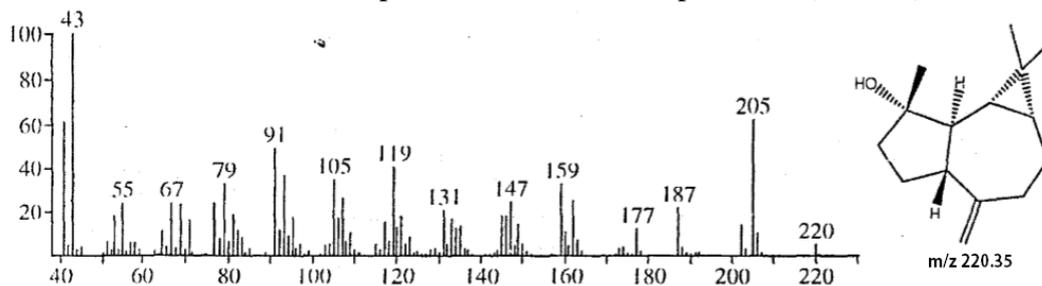
ANEXO 22 - Espectro de massas do 2,6-Dimethyl-octa-1,7-dien-3,6-diol (Pico 5)

ANEXO 23 - Espectro de massas do *trans*-p-Menth-6-en-2,8-diol (Pico 9)

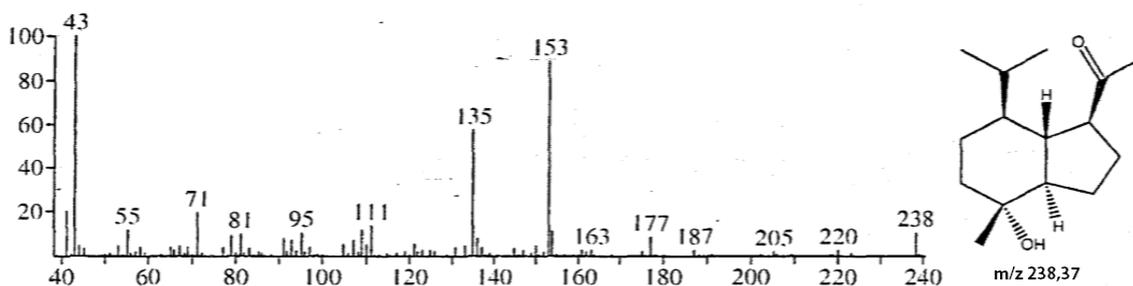
ANEXO 24 - Espectro de massas do Hidrato de Carvona (Pico 15)



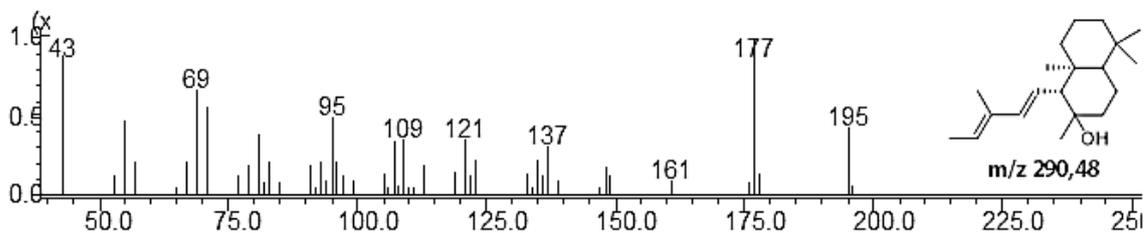
ANEXO 25 - Espectro de massas do Espatulenol (Pico 24)



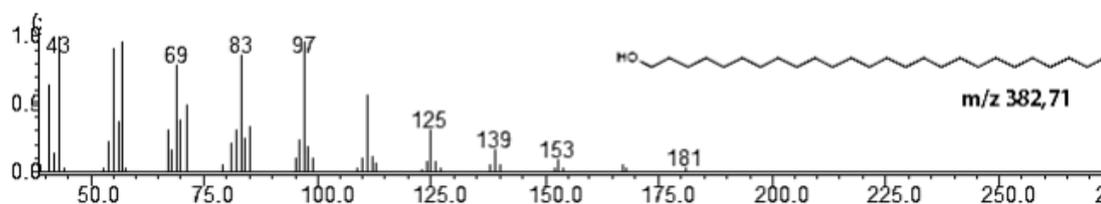
ANEXO 26 - Espectro de massas do Oplonanona (Pico 26)



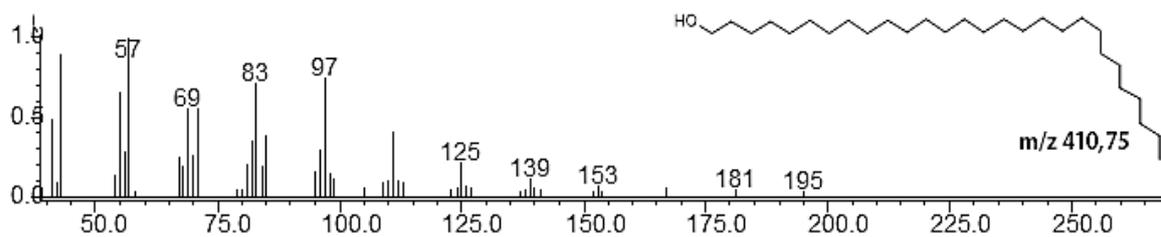
ANEXO 27 - Espectro de massas do (11E,13Z)-Labdadien-8-ol (Pico 33)



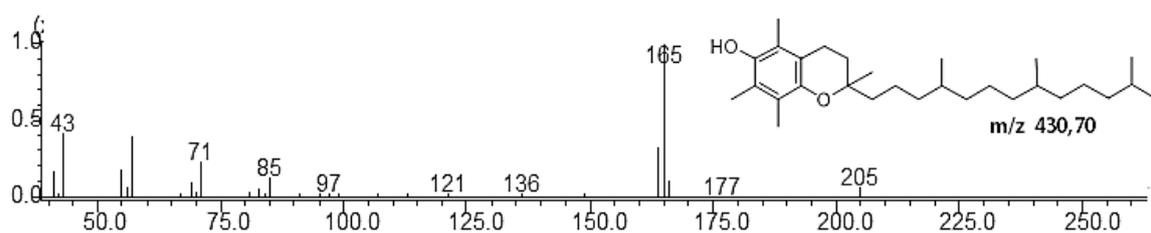
ANEXO 28 - Espectro de massas do 1-Hexacosanol (Pico 35)



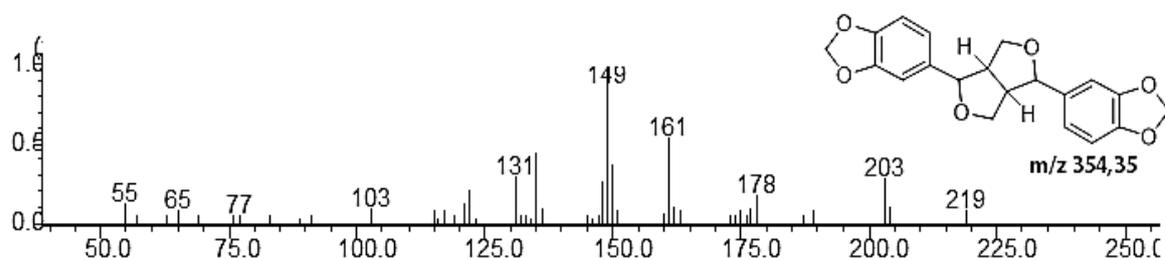
ANEXO 29 - Espectro de massas do 1-Octacosanol (Pico 37)



ANEXO 30 - Espectro de massas do Vitamina E (Pico 38)



ANEXO 31 - Espectro de massas do Vitamina E (Pico 38)

ANEXO 32 - Espectro de massas do  $\beta$ -Sitosterol (Pico 40)