

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

**Flora do Cerrado Goiano: Estudo morfo-anatômico, prospecção
fitoquímica, composição química e avaliação da atividade antibacteriana de
partes constituintes de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE)**

MARCELO GARCEZ RODRIGUES

ANÁPOLIS
2017



MARCELO GARCEZ RODRIGUES

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 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: Tecnologia e Meio Ambiente.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Josana de Castro Peixoto.

ANÁPOLIS
2017

MARCELO GARCEZ RODRIGUES

Dissertação de Mestrado intitulada “**Flora do Cerrado Goiano: estudo morfo-anatômico, prospecção fitoquímica, composição química e avaliação da atividade antibacteriana de partes constituintes de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE)**”, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente do Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Defendida em: 09/05/2017.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr^a. Josana de Castro Peixoto – UniEVANGÉLICA/UEG
(orientadora)

Prof. Dr^a. Claudia Fabiana Alves Rezende – UniEVANGÉLICA
(professora convidada)

Prof. Dr. Rafael Choze – UFG
(professor convidado)

Prof. Dr^a. Lucimar Pinheiro Rosseto – UniEVANGÉLICA
(suplente)

R696

Rodrigues, Marcelo Garcez.

Flora do Cerrado goiano: estudo morfo-anatômico, prospecção fitoquímica, composição química e avaliação da atividade antibacteriana de partes constituintes de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE) – Anápolis: Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica, 2017.
125 p.; il.

Orientador: Profª. Drª. Josana de Castro Peixoto.

Dissertação (mestrado) – Programa de pós-graduação em
Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente – Centro Universitário de
Anápolis – UniEvangélica, 2017.

1. Fitoquímica	2. Atividade antibacteriana	3. <i>Justicia pectoralis</i> Jacq
I. Peixoto, Josana de Castro		II. Título.

CDU 504

A meus pais, Nicolai e Valdivina, pelo amor incondicional, apoio e respeito em todos os meus projetos pessoais e profissionais e sem os quais eu não teria obtido tantas realizações e conquistas.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo amor e cuidado à minha pessoa e por me proporcionar a oportunidade, força e acalento para coroar com êxito esta vitória.

À professora Dr^a. Josana de Castro Peixoto pela orientação, confiança e ensinamentos.

Aos professores e colegas do Mestrado em Ciências Ambientais do Programa de Pós-graduação em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente do centro universitário de Anápolis- UniEVANGÉLICA, por todas as experiências compartilhadas e contribuições proporcionadas a este trabalho.

À minha amiga de mestrado e pesquisas, Laryssa Rosset Provensi.

Ao meu ex-aluno e biólogo Osvaldo Gomes Pinto, técnico do laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Goiás, pela preciosa ajuda e contribuição na realização dos experimentos de avaliação da atividade antibacteriana.

À Universidade Estadual de Goiás, em especial nas pessoas da professora Dr.^a Joelma Abadia Marciano de Paula, professora Dr^a. Josana de Castro Peixoto e professor Dr. Plínio Lázaro Faleiro Naves, por terem proporcionado total apoio e acessibilidade para uso dos laboratórios da UEG na realização dos experimentos.

À amiga Daiana da Silva Vargem pelo incentivo inicial e motivação para início desta jornada e por fazer parte de forma incondicional da minha vida.

Ao Valdemir Rodrigues do Carmo pelo apoio, amizade, companheirismo e auxílio sem medir esforços naquilo que eu precisasse.

Aos meus alunos e à coordenação da Faculdade Anhanguera e Metropolitana de Anápolis (FAMA) pelo estímulo e reconhecimento ao meu crescimento profissional.

À FAPEG pelo incentivo financeiro para o desenvolvimento desta pesquisa.

A todos que de alguma forma fizeram parte desta conquista tão penosa e almejada, meu engasgado e lacrimejado:

Muito obrigado!

“Os poucos conhecimentos da humanidade, por vezes, sequer conseguem sondar os preciosos mistérios dos vegetais, exemplos de equilíbrio e perfeição, gentilmente oferecidos pela Natureza”.

Joelma Abadia Marciano de Paula

LISTA DE FIGURAS

APRESENTAÇÃO

- Figura 1 -** Uso do solo, desmatamento e extinção no Cerrado. A – Desmatamento projetado, perda de habitat (2012-2050) e remanescentes de Cerrado em .. 2050. B – Uso do solo no Cerrado projetado em 2050 pelas terras de cultivo e rendimento de pastagens sustentável com áreas de restauração Fonte: adaptada de Strassburg et al. (2017)18

CAPÍTULO 1

- Figura 1 -** Distribuição geográfica de *Justicia pectoralis* Jacq. no Brasil demarcada.. pelos pontos em vermelho. Fonte: Lista das espécies da Flora do Brasil - (Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015).....30
- Figura 2 -** *Justicia pectoralis* – Aspecto geral da planta com inflorescências. Fonte: . <http://www.naturalmedicinefacts.info/plant/justicia-pectoralis.html>..... (2016).....30
- Figura 3 -** *Justicia pectoralis* – H – Detalhe da inflorescência evidenciando inflorescência com disposição secundiflora, porém contendo gemas não desenvolvidas na porção sem flores; I – Bráctea; J – Bractéolas; K – cálice dessecado; L – corola dissecada evidenciando o androceu. Fonte: Sartin (2015).....31
- Figura 4 -** Área de cultivo da *Justicia pectoralis* no Horto Medicinal do Centro Universitário de Anápolis, UniEvangélica. A – aspecto geral do canteiro de... cultivo; B – detalhe de um espécime33
- Figura 5 -** Material biológico, vidrarias e reagentes utilizados em microtécnica vegetal conforme metodologia de Oliveira e Akisue (2009) e Sass (1940) com modificações34
- Figura 6 -** *Justicia pectoralis*: Morfologia externa da Raiz: A – aspecto geral do sistema radicular; B – destaque para o sistema radicular do tipo axial ou pivoteante.....35
- Figura 7 -** *Justicia pectoralis*: Morfologia externa do Caule; A – aspecto geral; B -... caule sem pecíolos; C – destaque para as constrições enegrecidas acima... dos nós36
- Figura 8 -** Microscopia da seção transversal da raiz de *Justicia pectoralis*. Legenda:.. epi = epiderme unisseriada; ein = espaço intercelular; end = endoderme; .. per = periciclo; xil = xilema; flo = floema.....36

- Figura 9 -** Microscopia da seção transversal do caule de *Justicia pectoralis*. Legenda: epi = epiderme unisseriada; col = colênquima; eco = extensão colenquimática; tte = tricoma tector; tgl = tricoma glandular; lit = litocisto; pcr = parênquima de preenchimento cortical; pin = parênquima inter-fascicular; xil = xilema; flo = floema; pmd = parênquima de preenchimento medular37
- Figura 10 -** Microscopia da seção transversal do caule de *Justicia pectoralis*. A – evidenciando cristólito; B – detalhe do tricoma glandular. Legenda: epi = epiderme unisseriada; col = colênquima; eco = extensão colenquimática; cis = cristólito; xil = xilema; flo = floema; tgl = tricoma glandular.....38

CAPÍTULO 2

- Figura 1 -** Derivados antociânicos (antocianidinas) gerados pela reação dos flavonoides com fita de magnésio e ácido clorídrico concentrado53
- Figura 2 -** Complexos cromóforos formados pela reação dos flavonoides com ácido bórico e ácido oxálico54
- Figura 3 -** Estrutura de um flavonol com hidroxila livre em C-354
- Figura 4 -** Estruturas básicas de compostos flavônicos. A – flavona; B- chalcona55
- Figura 5 -** Íons oxônio gerados pela reação de compostos flavônicos com ácido sulfúrico concentrado55
- Figura 6 -** Complexos formados pela reação de cloreto de alumínio com hidroxilas vizinhas ou hidroxilas e carbonilas vizinhas nos derivados flavonoides56
- Figura 7 -** Ânions fenolatos gerados pela reação de quinonas hidroxiladas com hidróxido de amônio57
- Figura 8 -** Estrutura básica de uma antraquinona (9,10-antraquinona)57
- Figura 9 -** Estrutura básica de uma cumarina e seus subprodutos em meio alcalino....58
- Figura 10 -** Estrutura básica dos heterosídeos cardioativos.....62
- Figura 11 -** Dissociação do anel lactônico pentacíclico insaturado (cardenólido) em meio alcalino64
- Figura 12 -** Estruturas básicas das saponinas. A – saponina esteroidal; B- saponina triterpênica64
- Figura 13 -** Resultado das reações para caracterização de flavonoides: coloração enegrecida na reação com cloreto férrico (tubo da esquerda) e coloração.....

- marrom escura na reação da cianidina ou shinoda (tubo da direita).....67
- Figura 14 -** Resultado das reações para caracterização de flavonoides: fluorescência.. observada na reação com cloreto de alumínio sob luz U.V.(tubo da direita)67
- Figura 15 -** Fluorescência observada sobre papel de filtro na fase etérea da solução ... extrativa em que adicionou-se a gota de NaOH 1 N.....67
- Figura 16 -** Reações de caracterização de Taninos: controle positivo (à esquerda) e ... resultados para a amostra (a direita). Os reagentes em cada bateria, tanto para controle positivo como para amostra, da direita para esquerda foram: sulfato de quinino 1% (v/v); solução de brucina 1% (p/v); acetato de cobre 4% (p/v); cloreto férrico 2% (p/v); hidróxido de sódio 20% (p/v)68
- Figura 17 -** Reações de caracterização de Taninos com os alcaloides: sulfato de quinino 1% (v/v) – (à esquerda); solução de brucina 1% (p/v) – (à direita)..... Legenda: A – amostra; C – controle positivo68
- Figura 18 -** Reações de caracterização de Taninos com sais metálicos: acetato de cobre 4% (p/v) (à esquerda); cloreto férrico 2% (p/v) – (à direita). Legenda: A – amostra; C – controle positivo68
- Figura 19 -** Reação de caracterização de Taninos com Hidróxido de sódio 20% (p/v).. Legenda: A – amostra; C – controle positivo69
- Figura 20 -** Reações de caracterização de Alcaloides: controle positivo. Uso dos reativos gerais de Alcaloides, da esquerda para a direita: Reativo de Mayer... (precipitado branco), Reativo de Dragendorff (precipitado vermelho tijolo), Reativo de Bouchardat (precipitado marrom-avermelhado), Reativo... de Bertraud (precipitado branco), Reativo de Hager (precipitado amarelo) e Ácido tânico (precipitado bege)..... 69
- Figura 21 -** Reações de caracterização de Alcaloides: tubos teste, com a fração ácida do extrato de *J. pectoralis*, da esquerda para a direita, Reativo de Mayer, Reativo de Dragendorff, Reativo de Bouchardat, Reativo de Bertraud,..... Reativo de Hager e Ácido tânico. Nos tubos teste não houve formação de precipitado..... 70
- Figura 22 -** Reações de caracterização de heterosídeos cardioativos: tubos teste, com a fração clorofórmica do extrato de *J. pectoralis*, da esquerda para a direita, Reação de Liebermann-Burchard, Reação de Keller-Kiliani, Reativo de Kedde 70
- Figura 23 -** Reações de caracterização de heterosídeos cardioativos: Reação de Pesez da fração clorofórmica do extrato de *J. pectoralis*71
- Figura 24 -** Formação de espuma observada na reação de caracterização de saponinas no decocto das partes aéreas de *J. pectoralis*.....71

Figura 25 -	Estrutura das cumarinas presentes em <i>J. pectoralis</i> . A – 1,2-benzopirona; B - umbeliferona	72
--------------------	---	----

CAPÍTULO 3

Figura 1 -	Aparelho tipo Clevenger modificado para extração de óleos essenciais. A - aspecto geral do aparelho de extração; B – detalhe do tubo graduado onde o óleo extraído é reunido e medido. Fonte: Paula (2011)	87
Figura 2 -	Principais hidrocarbonetos lineares que originam os terpenos encontrados nos óleos voláteis. Fonte: adaptada de Heinzmann, Spitzer e Simões.. (2017).....	93
Figura 3 -	Representação esquemática da formação de terpenos. Fonte: adaptada de Heinzmann, Spitzer e Simões (2017).....	93
Figura 4 -	Estruturas químicas do beta-bourboneno, (E) – cariofileno, isopulegol e Iso-isopulegol, compostos majoritários do óleo essencial das partes aéreas de <i>Justicia pectoralis</i> cultivada no Horto Medicinal do Centro Universitário de Anápolis-Go, UniEvangélica	94

CAPÍTULO 4

Figura 1 -	Representação esquemática da técnica de esgotamento por estrias para isolamento de colônias bacterianas	107
Figura 2 -	Turvação obtida correspondente a 0,5 na escala de McFarland na preparação dos inóculos.....	107
Figura 3 -	Esquema para preparo da amostra do óleo e obtenção das diluições utilizadas nos testes de avaliação da atividade antibacteriana. Nota: as diluições utilizadas, neste trabalho, estão assinaladas com asterisco (*)	108
Figura 4 -	Preparo das diluições do antibiótico cloranfenicol utilizadas como controle de validação da técnica	109
Figura 5 -	Esquema para o preparo das diluições do antibiótico cloranfenicol conforme metodologia do CLSI 92010) utilizadas como controle de validação de técnica. Nota: as diluições utilizadas, neste trabalho, estão assinaladas com asterisco (*).....	110
Figura 6 -	Esquema de preenchimento da placa de 96 poços conforme metodologia para validação da técnica utilizando o antibiótico cloranfenicol	111
Figura 7 -	Preparo e diluição da resazurina a 0,001% em solução fisiológica 0,9% ..	

	utilizada como revelador visual de viabilidade bacteriana nos ensaios microbiológicos.....	111
Figura 8 -	Esquema de preenchimento da placa de 96 poços conforme metodologia.. para o ensaio microbiológico para determinação da concentração mínima inibitória (CMI).....	112
Figura 9 -	Esquema da placa de 96 poços após diluições e inoculações conforme..... metodologia para o controle de viabilidade da técnica utilizando cloranfenicol. A – B: placa antes da adição da resazurina, A – fundo claro, B - fundo escuro; C – D: placa após a adição da resazurina, C – fundo claro,.. D – fundo escuro	114
Figura 10 -	Esquema da placa de 96 poços após diluições e inoculações conforme..... metodologia para o ensaio microbiológico para determinação da concentração mínima inibitória (CMI) do óleo de <i>J. pectoralis</i> . A – B: placa antes da adição da resazurina, A - fundo claro, B – fundo escuro; C – D: placa após a adição da resazurina, C – fundo claro, D – fundo escuro.....	115

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1 -** Prospecção fitoquímica das partes aéreas de *Justicia pectoralis* Jacq.,.....
cultivada no Horto Medicinal do centro universitário de Anápolis-Go,.....
UniEvangélica.....66

CAPÍTULO 3

- Tabela 1 -** Teor de óleo essencial, em porcentagem (V/p), das amostras de *Justicia*...
pectoralis Jacq., cultivadas no Horto Medicinal do centro universitário de
Anápolis-Go, UniEvangélica89

- Tabela 2 -** Componentes do óleo essencial das partes aéreas de *Justicia pectoralis*
Jacq., cultivadas no Horto Medicinal do centro universitário de Anápolis .
-Go, UniEvangélica. Legenda: ^aÍndice de retenção obtidos nas análises; ..
^bÍndice de retenção obtido na literatura: Adams (2007). Nota: em negrito,
componentes com maior teor de óleo na espécie *J. pectoralis*90

- Tabela 3 -** Teor, expresso em porcentagem, dos componentes principais do óleo es- .
sencial das partes aéreas dos espécimes (I-V) de *Justicia pectoralis* Jacq.,
coletados na área de cultivo do Horto Medicinal do centro universitário ...
de Anápolis-Go, UniEvangélica. Legenda: I – V: Espécimes de *J. pecto- .*
ralis91

- Tabela 4 -** Teores mínimos e máximos, expressos em porcentagem, dos componen-..
tes principais do óleo essencial das partes aéreas dos espécimes (I-V).....
de *Justicia pectoralis* Jacq., coletados na área de cultivo de cultivo do.....
Horto Medicinal do centro universitário de Anápolis-Go, UniEvangé-
lica. Legenda: ^aÍndice de retenção obtido nas análises; ^bÍndice de re-
tenção obtido na literatura: Adams (2007).....91

CAPÍTULO 4

- Tabela 1 -** Microrganismos utilizados na determinação da concentração mínima ini-
bitória 106

- Tabela 2 -** Concentração mínima inibitória – (CMI) ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) do antibiótico cloran-
fenicol frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas das cepas.....
ATCC testadas 113

Tabela 3 - Concentração mínima inibitória – (CMI) ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) do óleo essencial de...
J. pectoralis frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas das ce- ..
pas ATCC testadas. Legenda: OE = óleo essencial de *J. pectoralis*.....114

SUMÁRIO

	APRESENTAÇÃO	16
	OBJETIVOS	21
	Objetivo Geral	21
	Objetivos Específicos	21
	Referências bibliográficas	22
Capítulo 1	Caracterização morfo-anatômica dos órgãos radicular e caulinar de <i>Justicia pectoralis</i> Jacq. (ACANTHACEAE) ocorrente no Cerrado..... Goiano.....	27
1	Introdução	28
2	Materiais e Métodos	32
2.1	OBTENÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO	32
2.2	CARACTERIZAÇÃO MORFO-ANATÔMICA	33
2.2.1	Morfodiagnose Macroscópica.....	33
2.2.2	Morfodiagnose Microscópica.....	34
3	Resultados	34
3.1	MORFODIAGNOSE MACROSCÓPICA	35
3.1.1	Raiz.....	35
3.1.2	Caule.....	35
3.2	MORFODIAGNOSE MICROSCÓPICA	36
3.2.1	Raiz.....	36
3.2.2	Caule.....	37
4	Discussão	38
5	Considerações finais	41
	Referências bibliográficas	42
Capítulo 2	Prospecção fitoquímica das partes aéreas de <i>Justicia pectoralis</i>..... (ACANTHACEAE) ocorrente no Cerrado Goiano.....	48
1	Introdução	49
2	Materiais e Métodos	51
2.1	COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO	51
2.2	PROCESSAMENTO DO MATERIAL BOTÂNICO	51
2.3	PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA	52
2.3.1	Compostos Fenólicos.....	52
2.3.1.1	Compostos Fenólicos simples, Flavonoides e Antraquinonas.....	52
2.3.1.2	Cumarinas.....	57
2.3.1.3	Taninos.....	58
2.3.2	Compostos nitrogenados (Alcaloides).....	59
2.3.3	Compostos terpênicos.....	61
2.3.3.1	Heterosídeos cardioativos.....	61

2.3.3.2	Saponinas	64
3	Resultados	65
4	Discussão	72
5	Considerações finais	76
	Referências bibliográficas	77

**Capítulo 3 Composição química do óleo essencial obtido das partes aéreas de
Justicia pectoralis Jacq. (ACANTHACEAE) ocorrente no Cerrado.....
Goiano** 83

1	Introdução	84
2	Materiais e Métodos	86
2.1	COLETA E PROCESSAMENTO DO MATERIAL BOTÂNICO	86
2.2	EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	87
2.3	TEOR DO ÓLEO ESSENCIAL	88
2.4	ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL	88
3	Resultados	89
4	Discussão	91
5	Considerações finais	96
	Referências bibliográficas	97

**Capítulo 4 Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* do óleo essencial extraí-
do das partes aéreas de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE)
ocorrente no Cerrado Goiano** 102

1	Introdução	103
2	Materiais e Métodos	103
2.1	OBTENÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO	105
2.2	EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	105
2.3	ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS.....	105
2.3.1	Atividade antibacteriana.....	105
2.3.2	Manutenção e conservação das cepas bacterianas	106
2.3.3	Preparo dos inóculos	107
2.3.4	Preparo da Amostra.....	108
2.3.5	Preparo do Antibiótico	109
2.3.6	Ensaio microbiológico para determinação da Concentração Mínima Inibi- tória (CMI)	112
3	Resultados	113
4	Discussão	116
5	Considerações finais	120
	Referências bibliográficas	120

APRESENTAÇÃO

Existem evidências do uso das plantas com fins medicinais desde o início das civilizações. Os conhecimentos iniciais, relacionados ao seu potencial curativo como um conjunto de saberes empíricos e intuitivos, foram repassados por meio de formas primitivas de registros, da fala e de documentos escritos. Estas observações deram origem ao processo investigativo que permitiu descobrir as propriedades medicinais de diversas espécies por meio de experimentos de ensaio e erro e estes conhecimentos transmitidos de geração em geração (CAVALCANTE et al., 2013; PETROVSKA, 2012).

No Brasil, as primeiras descrições sobre a utilização das plantas medicinais foram feitas na época do descobrimento por colonizadores europeus, por meio da observação do uso dos vegetais pelos índios (BADKE et al., 2016). Até a primeira metade do século XX, o Brasil era essencialmente rural e usava amplamente a flora medicinal, tanto nativa quanto exótica. Hoje, a medicina popular do país é reflexo das uniões étnicas entre os diferentes imigrantes e os inúmeros povos autóctones que implantaram o conhecimento das ervas locais e de seus usos, sendo difundido ao longo dos tempos por raizeiros, curandeiros e benzedeiros (ALBUQUERQUE; ANDRADE; SILVA, 2005; MACIEL et al., 2002).

Nos países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil, cerca de 80% da população recorre à Medicina Tradicional, incluindo a fitoterapia como a principal forma de assistência médica primária para suprir suas necessidades de saúde (OMS, 2013); fato que se dá devido à falta de acesso a assistência médica ou até mesmo à inexistência desta. Esta parcela da população representa cerca de 3,5 bilhões de indivíduos (AGYARE et al., 2013); entretanto, ante uma perspectiva de mudança do contexto, esta conduta alternativa à medicina convencional está sendo adotada entre diversas nações desenvolvidas, propulsionando maior interesse e demanda a este nicho de mercado (BRESOLIN; CECHINEL FILHO, 2010).

Além disso, as pessoas têm alinhado estratégias dirigidas à manutenção da qualidade de vida. Clinicamente, tem-se utilizado com frequência tratamentos por meio da combinação de medicamentos, buscando-se opções alternativas, evidenciando que há uma relação intrínseca entre bem-estar e recursos naturais; sendo assim, estes anseios têm sido alvo de novas terapêuticas e aspirações (WIGGINS, 2012).

No contexto dos recursos naturais, a marcante e característica utilização da medicina tradicional no Brasil pode ser justificada pelo fato de que o país é detentor de cerca de 20% da biodiversidade mundial (ARGETA et al., 2011; BADKE et al., 2011), com

destaque para o bioma Cerrado, que se apresenta como promissora fonte de produtos naturais com propriedades medicinais. O bioma é a segunda maior formação vegetal do Brasil, abrangendo 23% do território nacional e, o estado de Goiás, detém grande parte do mesmo. Considerado a maior savana do mundo, sua área original supera dois milhões de km² e encontra-se predominantemente no Planalto Central. Toda área ocupada pelo Cerrado abrange, além do estado de Goiás, o Tocantins e o Distrito Federal, parte dos estados do Ceará, Maranhão, Bahia, Mato Grosso entre outros (SANO; ALMEIDA, 1998). O Cerrado corta diagonalmente o Brasil no sentido nordeste-sudoeste, e sua área central limita-se com quase todos os outros biomas, à exceção dos Campos Sulinos e os ecossistemas costeiros e marinhos. Encontra-se situado entre 5° e 20° de latitude Sul e de 45° a 60° de longitude Oeste (AGUIAR; MACHADO; MARINHO-FILHO, 2004; SILVA; ASSAD; EVANGELISTA, 2008).

O Cerrado apresenta uma grande variedade de sistemas ecológicos originários da combinação de condições edáficas e climáticas que, somado ao relevo e à altitude, originam um conjunto de formações vegetais de heterogeneidade fisionômica e composição florística variável: campestres, savânicas e florestais, formando um complexo mosaico ecológico. O Cerrado possui alto índice de biodiversidade, com características de fauna e flora únicas, com muitos endemismos (AGUIAR; MACHADO; MARINHO-FILHO, 2004; BARRETO; BRAZ; FRANÇA, 2016; CARDOSO et al., 2011; COUTINHO, 1978; LIMA et al., 2012; MYERS et al., 2000; RIBEIRO; WALTER, 1998; ZATTA, 2008), abrigando mais de 4.800 espécies de plantas e vertebrados. Entretanto, estima-se que cerca de 70% do bioma já foi convertido em áreas de pastagem e agricultura nos últimos anos. As áreas públicas protegidas cobrem apenas 7,5% do bioma (em comparação com 46% da Amazônia), e sob o Código Florestal do Brasil, apenas 20% de terras privadas (em comparação com 80% da região amazônica) estão reservadas para a conservação. Há projeções de que 31-34% das regiões remanescentes de Cerrado possam desaparecer até 2050 (figura 1), de forma que ele é considerado um dos 25 *hotspots* mundiais para a conservação da biodiversidade (STRASSBURG et al., 2017).

No bioma Cerrado, com um arsenal de substâncias ainda não totalmente explorada na sua biodiversidade, destaca-se a família botânica Acanthaceae como fornecedora de protótipos com possíveis e importantes potenciais terapêuticos. Representantes desta família possuem grande variedade morfológica e ecológica, estando amplamente distribuídos entre os trópicos de todo o mundo (MABBERLEY, 1997; WASSHAUSEN; WOOD, 2004). De acordo com Indriunas (2011), Silva, Melo e Sales (2010), o Brasil representa um dos maiores

centros de diversidade do grupo, com aproximadamente 40 gêneros e 550 espécies distribuídas na Mata Atlântica, formações florestais do Sudeste e Centro-Oeste, nas matas, cerrados e campos do Planalto Central, na região Amazônica e uma quantidade considerável nas demais regiões brasileiras.

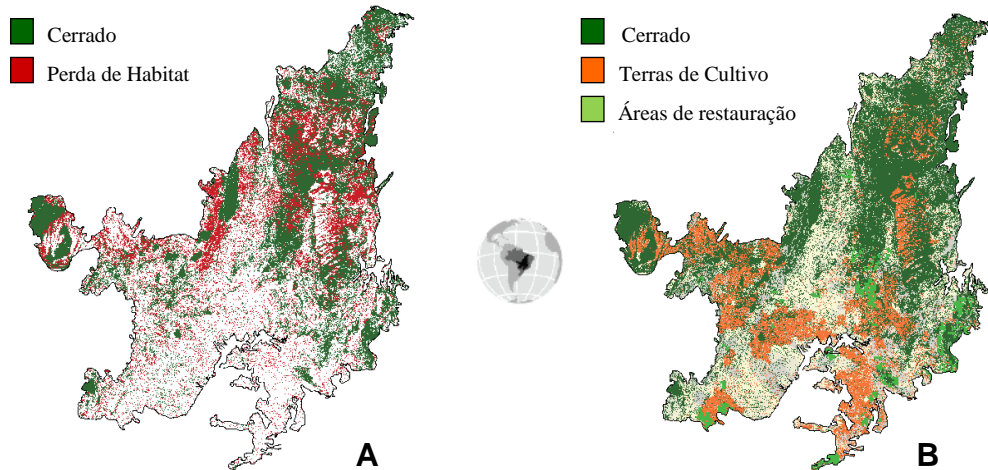


Figura 1 – Uso do solo, desmatamento e extinção no Cerrado. A – Desmatamento projetado, perda de habitat (2012-2050) e remanescentes de Cerrado em 2050. B – Uso do solo no Cerrado projetado em 2050 pelas terras de cultivo e rendimento de pastagens sustentável com áreas de restauração.

Fonte: adaptada de Strassburg et al. (2017).

Como uma das famílias ainda inexploradas do Cerrado, Acanthaceae merece atenção por apresentar poucos estudos taxonômicos e estes serem escassos para a Região Centro-Oeste, o que pode justificar em parte a falta de estudos morfoanatômicos, fitoquímicos e quimiotaxonômicos das diferentes espécies do bioma (SOUZA; LORENZI, 2012; WASSHAUSEN; WOOD, 2004). Neste sentido, esta família ainda necessita ser estudada, sendo o tratamento taxonômico de Ness von Esenbeck (1847), na Flora Brasiliensis, um dos estudos pioneiros sobre a mesma. Ainda no que se refere aos trabalhos clássicos incluindo espécies brasileiras, destaca-se o estudo elaborado por Lindau (1895). Posteriormente a estes estudos, informações sobre alguns de seus táxons são encontradas em: Wasshausen e Smith (1969); Profice (1988, 1997, 1998); Kameyama (1991, 1995, 2003); Braz, Vieira e Carvalho-Okano (2000); Braz, Carvalho-Okano e Kameyama (2002); Costa, Souza e Kameyama (1999) e Wasshausen (2003). No Nordeste brasileiro, o único tratamento dado às Acanthaceae, até o presente, foi o de Harvey e Wasshausen (1995). Porém, algumas de suas espécies são mencionadas nas listas florísticas de Sales, Mayo e Rodal (1998) e Rodal e Nascimento (2002) ou, ainda, como um todo, no checklist das plantas do Nordeste (KAMEYAMA, 2006). Ainda para o Brasil, sobressaem-se, mais recentemente, os trabalhos de Braz e Monteiro

(2005, 2006) em fragmento e reserva Florestal de Viçosa, Minas Gerais; o levantamento das espécies de Acanthaceae do Parque Estadual do Ibitipoca no sudeste de Minas Gerais por Martinelli e Mello-Silva (2015) e o trabalho de Sartin (2015), sendo este último voltado especificamente para as espécies do gênero mais representativo da família (o gênero *Justicia*) ocorrentes no Estado de Goiás.

Dentre os vários estudos sobre a utilização medicinal de algumas espécies deste gênero de plantas da família Acanthaceae, destacam-se os estudos relacionados à espécie *Justicia pectoralis* Jacq., popularmente conhecida como comel ou trevo-cumarú. Segundo trabalho realizado por Venâncio et al. (2011), o trevo-cumarú é utilizado por exercer vários efeitos, dentre eles: analgésico, antipirético, anti-inflamatório, antitussígeno, anti-histamínico e broncodilatador, além de antimicrobiano. Devido a isso, as propriedades terapêuticas da espécie estão associadas ao alívio do mal estar e dores generalizadas em quadros de gripe e resfriados, além de ser útil no manejo de crises da asma conforme indicação do trabalho de Cameron et al. (2015). Ainda, de acordo com os mesmos autores, existem evidências de que a planta possui substâncias que atuam no sistema nervoso central e causam efeitos ansiolíticos.

Convém ressaltar que, apesar da utilização de plantas com finalidade medicinal ser histórica no Brasil, somente em 2008 ocorreu a elaboração da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) cuja finalidade é subsidiar o desenvolvimento de toda a cadeia produtiva de fitoterápicos, inclusive nas ações que serão desenvolvidas pelo Ministério da Saúde e também pelos outros Ministérios participantes no Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, as quais estão relacionadas à regulamentação, cultivo, manejo, produção, comercialização e dispensação de plantas medicinais e fitoterápicos (LINHARES, 2012).

A RENISUS possui 71 plantas, incluindo a *Justicia pectoralis* Jacq., com evidências científicas de segurança e eficácia e com potencial de avançar na cadeia produtiva e gerar produtos medicinais de interesse ao sistema de saúde (BRASIL, 2008), sendo prioridade pesquisá-la. Nesse sentido, o amplo emprego desta planta nas práticas caseiras da medicina popular e nos serviços de saúde pública, que usam a fitoterapia nos programas de atenção primária à saúde, bem como os diversos trabalhos científicos que comprovam suas atividades, configura em motivo suficiente para sua escolha como tema de estudos botânicos, químicos, biológicos e farmacológicos, visando a sua validação como um medicamento eficaz e seguro derivado da flora medicinal do bioma Cerrado (SOUZA; LORENZI, 2012). Neste trabalho é descrito o estudo morfoanatômico, fitoquímico e biológico de *Justicia pectoralis* Jacq. (Acanthaceae), uma espécie vegetal bastante utilizada na medicina tradicional da região.

A presente dissertação está organizada em quatro capítulos e cada capítulo estruturado em: Resumo/Abstract, 1. Introdução, 2. Materiais e Métodos, 3. Resultados, 4. Discussão, 5. Considerações finais e Referências bibliográficas. O capítulo 1 caracteriza a morfoanatomia dos órgãos radicular e caulinar da espécie em questão. O capítulo 2 identifica e elucida os fitoquímicos das partes aéreas de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE) ocorrente no Cerrado Goiano. O capítulo 3 elucida os compostos químicos do óleo essencial e, o capítulo 4, apresenta os resultados referentes à avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* do referido óleo extraído das partes aéreas da espécie medicinal em estudo.

OBJETIVOS:

Objetivo Geral

- Caracterizar a morfoanatomia da raiz e do caule de *Justicia pectoralis* Jacq. (Acanthaceae), realizar a prospecção fitoquímica, bem como elucidar a composição química e avaliar a atividade antibacteriana in vitro do óleo essencial obtido a partir das partes aéreas da referida espécie medicinal ocorrente no Cerrado Goiano.

Objetivos Específicos

- Descrever a anatomia radicular e caulinar de *Justicia pectoralis* visando contribuir para caracterização taxonômica da espécie;
- Analisar e discutir a ocorrência de cristólitos em representantes de Acanthaceae, em especial para *J. pectoralis*, como marcador anatômico de relevância taxonômica e referencial diagnóstico para caracterização e distinção da espécie;
- Efetuar a prospecção fitoquímica das partes aéreas da referida espécie botânica e elencar as principais classes de metabólitos secundários presentes na droga vegetal;
- Elucidar os compostos químicos presentes no óleo essencial obtido das partes aéreas de *J. pectoralis*;
- Apresentar a aplicabilidade econômica, cosmética e potencial farmacológico dos constituintes identificados como majoritários no óleo essencial da referida espécie;
- Avaliar a atividade antibacteriana in vitro do óleo essencial extraído das partes aéreas da espécie medicinal em estudo;
- Discutir e apresentar estudos descritos na literatura que tenham testado a atividade antibacteriana de óleos essenciais de espécies vegetais que contenham os mesmos compostos majoritários verificados para *J. pectoralis*.

Referências Bibliográficas:

- AGUIAR, L. M. S.; MACHADO, R. B.; MARINHO-FILHO, J. **A diversidade biológica do Cerrado**. In: AGUIAR, L. M. S.; CAMARGO, A. J. A de (eds.). Cerrado: ecologia e caracterização. Brasília: Embrapa-CPAC, 2004. p. 17-40.
- AGYARE, C.; BEMPAH, S. B.; BOAKYE, Y. D.; AYANDE, P. G.; ADARKWA-YIADOM, M.; MENSAH, K. B. Evaluation of Antimicrobial and Wound Healing Potential of *Justicia flava* and *Lannea welwitschii*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 10 p., 2013. Article ID 632927. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/632927>. Acesso em: 21 dez. 2016.
- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C.; SILVA, A. C. O. Use of plants resources in a seasonal dry forest (Northeastern Brazil). **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 27-38, 2005.
- ARGETA, S. C.; ARGETA, L. C.; GIACOMELLI, S. R.; CERAZOTTO, V. S. Plantas medicinais: cultura popular versus ciência. **Vivências**, v. 7, n. 12, p. 51-60, 2011.
- BADKE, M. R.; BUDÓ, M. L. D.; SILVA, F. M.; RESSEL, L. B. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 132-39, 2011.
- BADKE, M. R.; SOMAVILLA, C. A.; HEISLER, E. V.; ANDRADE, A. de; BUDÓ, M. L. D.; GARLET, T. M. B. Saber popular: uso de plantas medicinais como forma terapêutica no cuidado à saúde. **Rev Enferm UFSM**, v. 6, n. 2, p. 225-234, 2016.
- BARRETO, C. G.; BRAZ, V. da S.; FRANÇA, F. G. Lições para a Biologia da Conservação no Cerrado a partir dos Padrões de Diversidade Genética Populacional do Anfíbio *Physalaemus cuvieri*. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 5, n. 3, p. 101-119, jul.-dez. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21664/2238-8869.2016v5i3.p101-119>. Acesso em: 22 dez. 2016.
- BRASIL. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS - RENISUS**. Ministério da Saúde, Brasília, DF, 2008.
- BRAZ, D. M.; CARVALHO-OKANO, R. M.; KAMEYAMA, C. Acanthaceae da Reserva Florestal Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 4, p. 495-504, 2002.
- 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, MG. **Ceres**, v. 47, n. 270, p. 229-239, 2000.
- BRAZ, D. M.; MONTEIRO, R. *Staurogyne rubescens* (Acanthaceae): a new species from southeastern Brazil. **Novon**, v. 15, p. 55-58, 2005.
- BRAZ, D. M.; MONTEIRO, R. Novas espécies de *Staurogyne* Wall. (Acanthaceae) para o Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n. 4, p. 579-586, 2006.

BRESOLIN, T. M. B.; CECHINEL FILHO, V. **Fármacos e medicamentos: uma abordagem multidisciplinar**. São Paulo -Santos: Santos. 2010. 416 p.

CAMERON, C.; JACOB, A. S.; THOMAS, E. A.; LEVY, A. S. Preliminary investigations of the anti-asthmatic properties of the aqueous extract of *Justicia pectoralis* (Fresh Cut). **West Indian Med J**, v. 64, n. 4, p. 320-324, 2015.

CARDOSO, L. D. M.; MARTINO, H. S. D.; MOREIRA, A. V. B.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: Physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2151-2154, 2011.

CAVALCANTE, G. M.; NETO, J. F. L.; BONFIM, E. O.; SANTOS, M. F. Atividade antimicrobiana de *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Moraceae) sobre o desenvolvimento de *Streptococcus pneumoniae* e *Escherichia coli*. **Scientia Plena**, v. 9, n. 2, p. 1 – 7, 2013.

COSTA, M. A. S.; SOUZA, M.A.D.; KAMEYAMA, C. Acanthaceae. In: RIBEIRO, J. E. L. S. et al. (Ed.). **Flora da Reserva Ducke** – guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Departamento de Desenvolvimento Internacional do Reino Unido, 1999. p. 606-607.

COUTINHO, L. M.. Aspectos ecológicos do fogo no Cerrado. **Ciência e Cultura**, v. 30, n. 416, 1978.

HARVEY, Y. B.; WASSHAUSEN, D. Acanthaceae. In: STANNARD, B. L. (Ed.). **Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia - Brasil**. Kew: Royal Botanic Garden, 1995, p. 112-114.

INDRIUNAS, A. **Revisão taxonômica de *Herpetacanthus Nees* (Acanthaceae)**. 2011. 119 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente), Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2011.

KAMEYAMA, C. Acanthaceae. In: MELO, M. M. R. F. et al. (Ed.). **Flora fanerogâmica da Ilha do Cardoso**. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo, v. 1, p. 62-63, 1991.

KAMEYAMA, C. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Acanthaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 14, p. 181-206, 1995.

KAMEYAMA, C. Flora de Grão Mogol, Minas Gerais: Acanthaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 21, n. 1, p. 51-53, 2003.

KAMEYAMA, C. Acanthaceae. In: BARBOSA, M. R. V. et al. (Ed.). **Checklist das plantas do Nordeste brasileiro: angiospermas e gymnospermas**. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2006, p. 25.

LIMA, I. L. P.; SCARIOT, A.; MEDEIROS, M. B.; SEVILHA, A. C. Diversidade e uso de plantas do Cerrado em comunidade de Geraizeiros no norte do estado de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 3, p. 675-684, 2012.

LINDAU, G. Acanthaceae. In: ENGLER, A.; PRANTL, K. (Ed.). **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**. Leipzig: Wilhelm Engelmann, v. 2, p. 274-354, 1895.

LINHARES, J. H. **Avaliação da eficácia terapêutica do xarope composto por *Justicia pectoralis*, *Plectranthus amboinicus* e *Mentha arvensis* na asma**. 2012. 85 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Departamento de Cirurgia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

MABBERLEY, D. J. **The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, C. A.; VEIGA-JÚNIOR, F. V.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas Medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Quím Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MARTINELLI, I. G.; MELLO-SILVA, R. Acanthaceae do parque Estadual de Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. **Bol. Bot. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 33, p. 7-13, 2015.

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

NEES von ESENBECK, C. G. Acanthaceae. In: MARTIUS, C. F. P. von (Ed.). **Flora Brasiliensis**. Lipsiae: Fridrich Fleischer, v. 9, p. 6-163, 1847.

OMS. **Organização Mundial da Saúde**. WHO - Traditional Medicine Strategy 2014–2023. Geneva, 2013. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098_spa.pdf. Acesso em: 12 set. 2016.

PETROVSKA, B. B. Historical review of medicinal plants usage. **Pharmacognosy Review**, v. 6, n. 11, p. 1-5, 2012.

PROFICE, S. R. *Mendoncia* Vell. ex Vand. (Acanthaceae). Espécies ocorrentes no Brasil. **Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, v. 29, p. 201-279, 1988.

PROFICE, S. R. Acanthaceae. In: MARQUES, M. C. M.; VAZ, A. S. F.; MARQUETE, R. (Org.). **Flórula da APA Cairuçu, Parati, RJ**: espécies vasculares. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v. 14, p. 9-23, 1997 (Série estudos e contribuições).

PROFICE, S. R. Acanthaceae. In: LIMA, M. P. M.; GUEDES-BRUNI, R. R. (Ed.). **Reserva ecológica de Macaé de Cima, Nova Friburgo - RJ**: aspectos florísticos das espécies vasculares. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v. 2, p. 23-35, 1998.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Orgs.). **Cerrado**: ambiente e flora. Planaltina: EMBRAPA CERRADOS, 1998.

RODAL, M. J. N.; NASCIMENTO, L. M. Levantamento florístico da floresta serrana da Reserva Biológica de Serra Negra, Microrregião de Itaparica, Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasileira**, v. 16, n. 4, p. 481-500, 2002.

SALES, M. F.; MAYO, S. J.; RODAL, M. J. N. **Plantas vasculares das florestas serranas de Pernambuco**. Recife/Kew: Ed. Univ. Fed. Rural de Pernambuco, Royal Botanic Garden-CNPq, 1998. 130 p.

SANO S. M.; ALMEIDA, S. P. (Orgs.) **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA CERRADOS, 1998.

SARTIN, R. D. **O gênero *Justicia* L. (Acanthaceae) no estado de Goiás**. 2015. 135 f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Universidade de São Paulo, USP, SP, 2015.

SILVA, F. A. M.; ASSAD, E. D.; EVANGELISTA; B. A. Caracterização Climática do Bioma Cerrado. In: AGUIAR, L. M. S.; CAMARGO, A. J. A. (Orgs.). **Cerrado: ecologia e flora**. Planaltina: EMBRAPA CERRADOS, 2008.

SILVA, M. J.; MELO, J. I. M.; SALES, M. F. Flora da região de Xingó, Alagoas e Sergipe: Acanthaceae A. Juss. **Rev. Caatinga**, v. 23, n. 2, p. 59-67, abr/jun. 2010.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Acanthaceae. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG III**. 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012.

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** 1, 0099 (2017), DOI: 10.1038/s41559-017-0099. Disponível em: www.nature.com/natecolevol. Acesso em: 30 mar. 2017.

VENÂNCIO, E. T.; ROCHA, N. F. M.; RIOS, E. R. V.; FEITOSA, M. L.; LINHARES, M. I. M.; MELO, F. H. C.; MATIAS, M. S.; FONSECA, F. N.; SOUSA, F. C. F.; LEAL, L. K. A. M.; FONTENELES, M. M. F. Anxiolytic-like Effects of Standardized Extract of *Justicia pectoralis* (SEJP) in Mice: Involvement of GABA/Benzodiazepine in Receptor. **Phytotherapy Research**, n. 45, p. 444-450, 2011.

WASSHAUSEN, D. C.; SMITH, L. B. Acanthaceae. In: REITZ, R. (Ed.). **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1969. 134 p.

WASSHAUSEN, D. C. Notes on the genus *Ruellia* (Acanthaceae) in Bolivia, Peru and Brazil. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 116, n. 2, p. 263-274, 2003.

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

WIGGINS, N. Popular education for health promotion and community empowerment: a review of the literature. **Health promotion international**, v. 27, n. 3, p. 356-371, 2012.

ZATTA, D. T. **Estudo farmacognóstico, avaliação da toxicidade aguda e da atividade antimicrobiana das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. – Bignoniaceae**, 2008. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

Capítulo 1 – Caracterização morfo-anatômica dos órgãos radicular e caulinar de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE) – ocorrente no Cerrado Goiano.

RESUMO: O estudo de plantas medicinais envolve várias áreas da ciência. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo descrever a morfologia e anatomia da raiz e do caule de *Justicia pectoralis* uma vez que, embora atualmente esteja incluída na Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS, há escassez de estudos farmacobotânicos que possam apoiar seu controle de qualidade. As análises morfológicas foram realizadas com material fresco e auxílio de estereomicroscópio. O estudo anatômico foi realizado a partir de seções transversais dos órgãos radicular e caulinar, examinadas e fotografadas ao microscópio óptico. A raiz é do tipo axial e o caule do tipo haste ou escapo. Em seção transversal, a raiz de *J. pectoralis* apresenta epiderme uniestratificada, espaços intercelulares bem desenvolvidos e sistema vascular do tipo colateral com organização protostélica. O caule possui epiderme unisseriada com tricomas tectores simples pluricelulares e cystólitos. Adjacente à epiderme, encontra-se colênquima angular. O sistema vascular é do tipo colateral com estrutura sifonostélica ectofloica. Os achados deste estudo permitem inferir que a verificação de cystólitos solitários globosos, visualizados no caule de *J. pectoralis*, constituem um marcador anatômico de relevância taxonômica que pode ser empregado para caracterização e distinção da espécie em estudo.

Palavras-chave: Morfo-anatomia. RENISUS. *Justicia pectoralis* Jacq.

ABSTRACT: The study of medicinal plants involves several areas of science. In this context, the objective of this work was to describe the morphology and anatomy of the root and stem of *Justicia pectoralis* since, although it is currently included in the List of Medicinal Plants of Interest to SUS, there is a shortage of pharmacobotanical studies that can support its control of quality. Morphological analyzes were performed with fresh material and stereomicroscope aid. The anatomical study was performed from transversal sections of the root and caulinar organs, examined and photographed under an optical microscope. The root is of the axial type and the rod-like stem or escaped. In cross section, the root of *J. pectoralis* presents unstratified epidermis, well developed intercellular spaces and collateral type vascular system with protostélic organization. The stem has epidermis uniseriate with multicellular simple tectorial trichomes and cystoliths. Adjacent to the epidermis is angular collenchyma. The vascular system is of the collateral type with ectophilic sifonostélic structure. The findings of this study allow us to infer that the verification of globular solitary cystoliths, visualized in the stem of *J. pectoralis*, constitute an anatomical marker of taxonomic relevance that can be used to characterize and distinguish the species under study.

Keywords: Morpho-anatomy. RENISUS. *Justicia pectoralis* Jacq.

1. Introdução:

O cerrado, dentro da biodiversidade brasileira, é fonte de muitas espécies vegetais que desempenham importante papel na medicina popular (RODRIGUES; CARVALHO, 2001). Neste cenário destacam-se espécies da família Acanthaceae. Esta família, segundo classificação do Angiosperm Phylogeny Group (APG III), pertence à ordem Lamiales (clado Eurosídeas I) e compreende cerca de 240 gêneros com aproximadamente 3.250 espécies (HASTON et al., 2009; MARCHIORETTO; SILVA; PARODE, 2015; MATIAS; CONSORALO, 2015; SOUZA; LORENZI, 2012), distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais de todo mundo, alcançando algumas áreas temperadas mas com pouca representatividade (MARTINELLI; MELLO-SILVA, 2015). A região neotropical possui aproximadamente 85 gêneros e 2000 espécies conhecidas (WASSHAUSEN; WOOD, 2004). Os principais centros de diversidade da família são a Indo-Malásia, África, América Central e Brasil (BARROSO et al., 1991; INDRIUNAS, 2011; PROFICE et al., 2015; SILVA; MELO; SALES, 2010; WASSHAUSEN; WOOD, 2004).

No contexto dos biomas brasileiros, 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 distribuídas em oito gêneros (VILAR, 2009). Apesar de bem representada na flora do Brasil, a identificação específica dos representantes desta família no país é, em geral, bastante difícil, devido à ausência de trabalhos taxonômicos recentes mais abrangentes, uma vez que as espécies brasileiras se encontram, em sua grande maioria, mal delimitadas, com nomenclatura desatualizada e problemas de tipificação (SARTIN, 2015).

Na família Acanthaceae as árvores são raras, sendo a maioria encontrada como ervas, lianas, arbustos, trepadeiras, xerófitas e pantanosas. Suas flores são pentâmeras com corolas gamopétalas, zigomorfas, muitas vezes bilabiadas e com androceu oligostêmone. Algumas características morfológicas são compartilhadas pela grande maioria das espécies, como as folhas opostas cruzadas e as inflorescências em espiga, portando brácteas muitas

vezes vistosas (SOUZA; LORENZI, 2012). Todavia, essas características também são compartilhadas por outras famílias proximamente relacionadas às Acanthaceae, dentro da Ordem Lamiales. Sendo assim, a família carece de uma sinapomorfia morfológica que a caracterize (McDADE; DANIEL; KIEL, 2008).

Descrita pela primeira vez pelo botânico escocês James Justice, o gênero *Justicia* é considerado o mais complexo dentre os pertencentes à família Acanthaceae (VILAR, 2009; WASSHAUSEN, 2002). A classificação é baseada nas características das inflorescências, androceu, pólen e sementes. Embora o gênero *Justicia* s.l. não seja sustentado como monofilético, os especialistas na família têm preferido utilizar seu conceito mais amplo, com cerca de 600 espécies com distribuição pantropical (GRAHAM, 1988) até que mais estudos sejam realizados e uma nova circunscrição dos táxons seja proposta de modo consistente.

Não há estudos conclusivos para a flora brasileira do número de espécies existentes, entretanto, segundo Profice et al. (2013), no Brasil ocorrem 125 espécies, sendo 71 endêmicas e é consenso que o gênero *Justicia* é o maior em riqueza de espécies (CORTÊS; RAPINI, 2013; VILAR, 2009) abrangendo 600 no mundo todo de acordo com Ruengsawang, Chantaranonthai e Simpson (2012) e Singh et al. (2015). As espécies de *Justicia* 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 (KAMEYAMA, 2006).

A partir de uma abordagem etnofarmacológica, para o gênero em questão, selecionou-se para este trabalho a espécie *Justicia pectoralis* Jacq. como objeto de estudo, amplamente utilizada pela população para tratamento de processos inflamatórios (OLIVEIRA; ANDRADE, 2000). Entretanto, devido a sua ampla distribuição geográfica entre os trópicos, seus usos etnofarmacológicos se ampliam: como tranquilizante e sedativo em Cuba, onde é conhecida por tilo; como alucinógeno por tribos indígenas da América do Sul; para mal estar no estômago e dores nas pernas no Panamá; como afrodisíaco em Trinidad (FONSECA, 2009; MACRAE; TOWERS, 1984); como ansiolítico na Amazônia (LIZCANO et al., 2010), para o tratamento de sintomas da menopausa e dismenorreia na Costa Rica devido às suas propriedades estrogênicas e progestagênicas (LOCKLEAR et al., 2010).

A espécie é considerada nativa do Brasil, onde é utilizada principalmente na forma de chá ou lambedor para tratamento de afecções do trato respiratório (CORRÊA; ALCÂNTARA, 2012; VIANA; LEAL; VASCONCELOS, 2013). *Justicia pectoralis* ocorre nos estados da região Norte (Acre, Amazonas, Pará, Rondônia e Roraima), Nordeste (Ceará e

Maranhão) e Centro-oeste (Goiás e Mato Grosso) com substrato terrícola (PROFICE et al., 2010) (Figura 1).

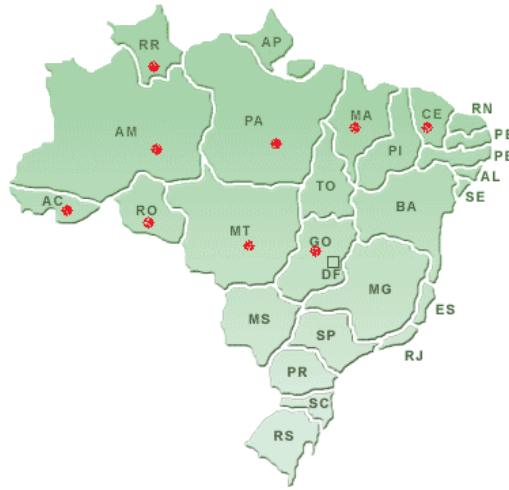


Figura 1 – Distribuição geográfica da *Justicia pectoralis* Jacq. no Brasil demarcada pelos pontos em vermelho.

Fonte: Lista das espécies da Flora do Brasil – (Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015).

De acordo com Lorenzi e Matos (2008) e Sartin (2015), trata-se de uma planta perene, suberecta, de caule reptante e hastes ascendentes, de 15 a 50 cm de altura, sempre verde, florífera e de folhagem ornamental. As folhas são opostas, membranáceas, estreitas e longas atingindo até 5 cm de comprimento, lanceoladas, longo-acuminadas, glabras, com a nervura central sulcada na face superior e verde clara na inferior e tricomas esparsos nas nervuras da face adaxial. Bráctea de 1,5 - 1,7 mm de comprimento e bractéolas de 1,2 - 1,7 mm de comprimento, sésseis, estreito-triangulares a lineares. Inflorescência terminal, paniculada, rala, cálice verde, corola tubulosa com flores sésseis, zigomorfas que variam do lilás ao azul com estrias brancas no palato, as flores são muito pequenas e esparsas formadas no verão. Os estames estão inseridos na região central da corola com conectivo estreito (figuras 2 e 3).



Figura 2 – *Justicia pectoralis* - Aspecto geral da planta com inflorescências.
 Fonte: <http://www.naturalmedicinefacts.info/plant/justicia-pectoralis.html> (2016).



Figura 3 – *Justicia pectoralis*: H – Detalhe da inflorescência evidenciando inflorescência com disposição secundiflora, porém contendo gemas não desenvolvidas na porção sem flores; I – Bráctea; J – Bractéolas; K – Cálice dissecado; L – corola dissecada evidenciando o androceu.
 Fonte: Sartin (2015).

Justicia pectoralis Jacq. apresenta fruto do tipo cápsula clavada, glabra, deiscente, 1,2-2,3 cm de comprimento, sementes castanho-avermelhadas, achatadas, com 0,9-1,2 mm de comprimento. A espécie propaga-se facilmente por rebentos, estacas ou ramos já enraizados, crescendo bem em canteiros e jarros formando conjuntos aglomerados globoides de até 40 cm de altura. Esta forma de crescimento serve para distinguir a planta de outras com mesmo nome popular mas que crescem na forma de grama (MATOS, 2000; OLIVEIRA; ANDRADE, 2000; VENÂNCIO, 2009). A planta íntegra e as folhas recém-colhidas, secas ou após a fervura, exalam um odor que lembra o cheiro adocicado do cumaru, devido à presença de cumarinas (MATOS, 1998).

A *Justicia pectoralis* Jacq. pode ser cultivada em hortos e quintais devido ao interesse medicinal. Portanto, faz-se necessária a correta identificação a fim de evitar uso equivocado quando do emprego a partir de nomes populares. Este erro pode ser observado em espécimes depositados em herbários os quais não poucas vezes são incorretamente identificados, não obstante as diferenças morfológicas das espécies. Além disso, a espécie pode ser comercializada estéril ou rasurada o que impossibilita a correta identificação (AOYAMA; INDRIUNAS, 2014). Nesse sentido, faz-se necessário estabelecer formas de diagnóstico de controle de qualidade para melhor identificação do material botânico.

É premente a necessidade de pesquisas que envolvam o uso de plantas medicinais consagradas no meio popular (AGRA; FRANÇA; BARBOSA-FILHO, 2007; ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006; BRANDÃO, 2017) uma vez que a utilização racional de plantas com fins terapêuticos pode constituir um importante fator de economia no setor de

saúde em países em desenvolvimento (YUNES; PEDROSA; CECHINEL-FILHO; 2001; FUNARI; FERRO, 2005). Estas pesquisas devem envolver a identificação rigorosa da planta e estabelecer os parâmetros de qualidade necessários a sua utilização a fim de garantir o seu uso seguro, a detecção de fraudes e evitar intoxicações ou efeitos colaterais relacionados a doses inadequadas ou ao uso de plantas erroneamente identificadas (BRAGA; RATES; SIMÕES, 2017).

Visando contribuir com estes parâmetros de qualidade, os estudos anatômicos com espécies de *Justicia* se concentram nas características foliares (AOYAMA; INDRIUNAS, 2013; AOYAMA; INDRIUNAS, 2014; KUMAR; PALIWAL, 1978; SARITHA; BRINDHA, 2011; TAVARES; NEVES, 1993; TAVARES; VIANA, 1995; VARGEM, 2015; VERDAM et al., 2012), devido ao valor taxonômico das estruturas presentes neste órgão. Entretanto, em decorrência da escassez de estudos que tratem da caracterização morfoanatômica dos órgãos vegetativos raiz e caule de *J. pectoralis*, o objetivo deste trabalho foi fornecer subsídios para sua identificação botânica a fim de definir parâmetros para o controle de qualidade, certificação e autenticidade dessa espécie medicinal, uma vez que o formulário de fitoterápicos da farmacopeia brasileira ainda não possui monografia para a espécie em estudo.

2. Materiais e Métodos:

2.1 OBTENÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO:

Para realização dos estudos, as mudas de *Justicia pectoralis* Jacq. foram cultivadas, entre julho/2015 e junho/2016 sob condições ambientais não controladas, no Horto Medicinal do Centro Universitário de Anápolis - UniEvangélica, na cidade de Anápolis, Goiás (16°34'50"S e 48°92'88"W) (figura 4) sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Josana de Castro Peixoto. As matrizes das plantas foram coletadas nas proximidades do Córrego do Ouro, Brasília, DF (15°30`S, 47°57`W). Os cultivos foram realizados em canteiros, com espessamento aproximado de 40x40 cm, com adubação orgânica, irrigação com água potável e sem o abrigo da luz.

A referida espécie foi identificada pela Prof^a. Dr^a. Josana de Castro Peixoto e as exsiccatas foram depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Goiás, sob os tombos HUEG10764 e HUEG11027.



Figura 4 – Área de cultivo da *Justicia pectoralis* no Horto Medicinal do Centro Universitário de Anápolis, UniEvangélica. A – aspecto geral do canteiro de cultivo; B – detalhe de um espécime.

2.2 CARACTERIZAÇÃO MORFO-ANATÔMICA:

2.2.1 Morfodiagnose Macroscópica:

Os estudos morfológicos da raiz e do caule foram realizados em material fresco. Os exemplares foram coletados na área de cultivo em julho/2016, entre 10 e 13 horas, com auxílio de tesoura adequada de poda. As análises foram feitas à vista desarmada e com auxílio de microscópio estereoscópico Q-106S - P1 binocular no laboratório de Pesquisa em Biodiversidade (LAPEBIO) do Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica. Foram analisados eixos principais da região mediana de raízes e caules obtidos a partir de 5 cm abaixo do ápice dos ramos. A terminologia empregada para as descrições morfológicas baseou-se em Glória e Guerreiro (2006), Gonçalves e Lorenzi (2011), Oliveira e Akisue (2009) e Vidal e Vidal (2009).

2.2.2 Morfodiagnose Microscópica:

A metodologia para microscopia óptica foi realizada no Laboratório de Biodiversidade e Laboratório de Estudos botânicos, químicos e biológicos de Plantas Medicinais da Universidade Estadual de Goiás, campus Anápolis.

Para visualização da anatomia da raiz, foram realizadas seções transversais na raiz principal e, para análise microscópica do caule, foram realizadas seções transversais em porções localizadas 5 cm do ápice dos ramos. Os cortes foram realizados à mão livre com auxílio de lâmina de barbear e isopor como suporte.

A confecção das lâminas seguiu metodologia descrita por Oliveira e Akisue (2009) e Sass (1940) com modificações (figura 5): As seções foram clarificadas com hipoclorito de sódio a 20%, neutralizadas com solução aquosa de ácido acético 1%, lavadas em água destilada e submetidas a dupla coloração com mistura de azul de astra e safranina 1%, na proporção 3:1, e montadas entre lâmina e lamínula com glicerina 50%.



Figura 5 – Material biológico, vidrarias e reagentes utilizados em microtécnica vegetal conforme metodologia de Oliveira e Akisue (2009) e Sass (1940) com modificações.

Os cortes foram visualizados e analisados ao microscópio óptico comum Olympus CX31 (Leica DM500). As fotomicrografias referentes às estruturas anatômicas foram obtidas em fotomicroscópio modelo LEICA DM27000 (câmera Leica ICC50) com captura digital das imagens e as escalas, que acompanham as ilustrações, foram obtidas nas mesmas condições ópticas.

A terminologia empregada para as descrições da caracterização tecidual dos cortes visualizados baseou-se em Glória e Guerreiro (2006), Gonçalves e Lorenzi (2011), Oliveira e Akisue (2009) e Vidal e Vidal (2009).

3. Resultados:

As espécies do gênero *Justicia* apresentam semelhanças morfológicas (OLIVEIRA et al., 2000) sendo a descrição de suas características botânicas relevante para

certificação e caracterização taxonômica da espécie. Desta forma, seguem os resultados do estudo morfológico e anatômico da raiz e caule da espécie em estudo:

3.1. MORFODIAGNOSE MACROSCÓPICA:

3.1.1. Raiz:

A raiz é do tipo axial ou pivotante, tendo eixo principal 1-2 mm de diâmetro, coloração marrom a marrom clara, moderadamente fixada ao substrato, com estrias longitudinais pouco marcadas (Figura 6).



Figura 6 – *Justicia pectoralis*: Morfologia externa da Raiz: A – aspecto geral do sistema radicular; B – destaque para o sistema radicular do tipo axial ou pivotante.

3.1.2. Caule:

Caule ascendente, cilíndrico a quadrangular, herbáceo do tipo haste ou escapo, 1-2 mm de diâmetro na região basal, verde na região mediana e apical, base lenhosa de cor acinzentada, não estriado, ramificação simpodial, constrições enegrecidas acima dos nós, glabro e esparsamente pubescente, com tricomas acinzentados dispostos em duas faixas verticais e entrenós com 3,0 cm de comprimento (Figura 7).

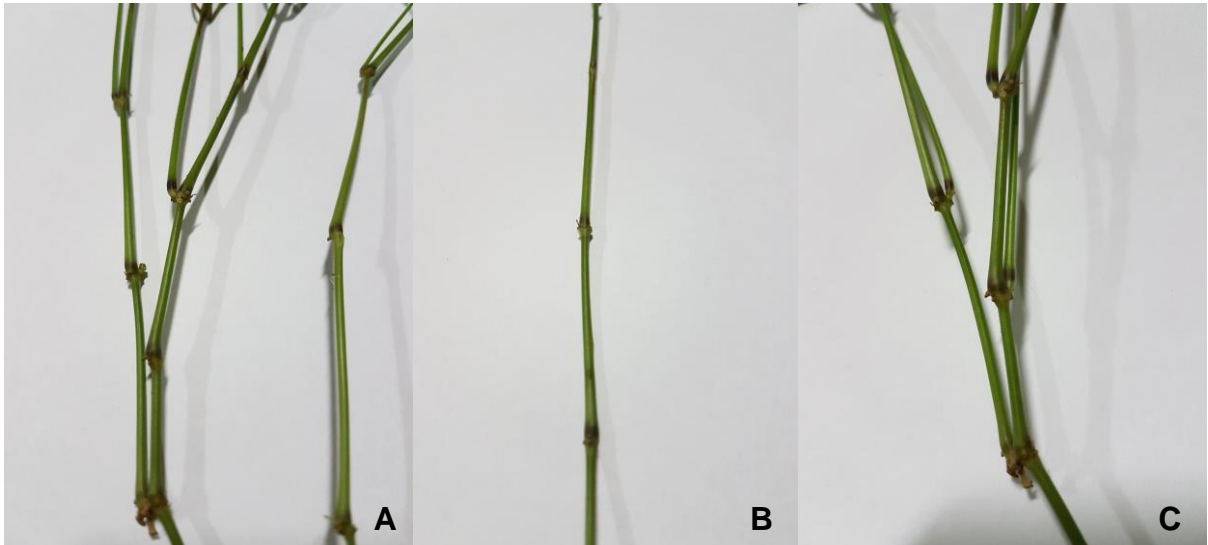


Figura 7 – *Justicia pectoralis*: Morfologia externa do Caule; A – aspecto geral; B – caule sem pecíolos; C – destaque para as constrições enegrecidas acima dos nós.

3.2. MORFODIAGNOSE MICROSCÓPICA:

3.2.1. Raiz:

A raiz de *Justicia pectoralis* Jacq., em seção transversal, apresenta contorno cilíndrico. A epiderme é uniestratificada. A região cortical apresenta espaços intercelulares bem desenvolvidos apresentando endoderme como última camada do córtex. O periciclo, situado abaixo da endoderme, delimita o cilindro vascular. Xilema e floema formam sistema vascular do tipo colateral com organização protostélica (Figura 8).

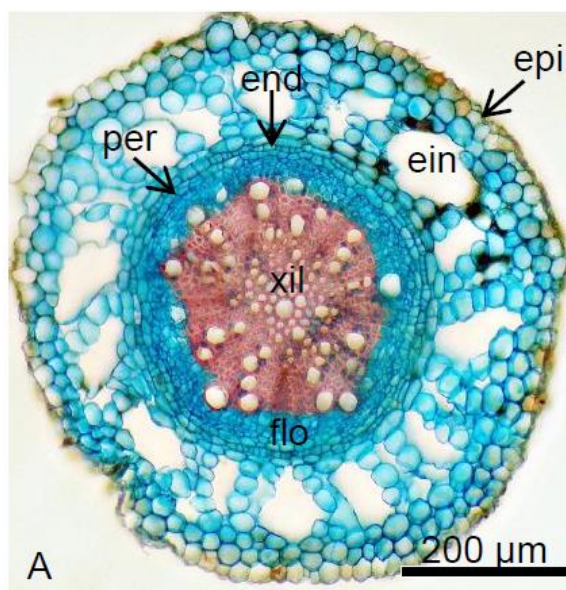


Figura 8 – Microscopia da seção transversal da raiz de *Justicia pectoralis*. Legenda: epi = epiderme unisseriada; ein = espaço intercelular; end = endoderme; per = periciclo; xil = xilema; flo = floema.

Fonte: Malheiros (2012).

3.2.2. Caule:

Em seção transversal, o caule, em crescimento primário, exibe contorno poligonal hexagonal. A epiderme é unisseriada com tricomas tectores simples pluricelulares. Apresenta inclusões celulares na forma de agregados de carbonato de cálcio, do tipo cristólitos solitários e globosos, albergados no interior de litocistos. A epiderme caulinar também apresenta depressões onde estão inseridos tricomas glandulares pluricelulares de pescoço curto. Adjacente à epiderme, de forma descontínua ao longo do contorno caulinar, em cada um dos seis ângulos do contorno, encontram-se três a quatro estratos de células colenquimáticas do tipo angular seguidos por parênquima de preenchimento cortical. Entre o colênquima angular e o parênquima de preenchimento cortical, observa-se uma extensão colenquimática intensamente corada. O sistema vascular é do tipo colateral com estrutura sifonostélica ectofloica descontínua. Parênquimas interfasciculares são observados como faixas de tecidos unindo os feixes vasculares, os quais delimitam uma região central preenchida por parênquima medular (Figuras 9 e 10).

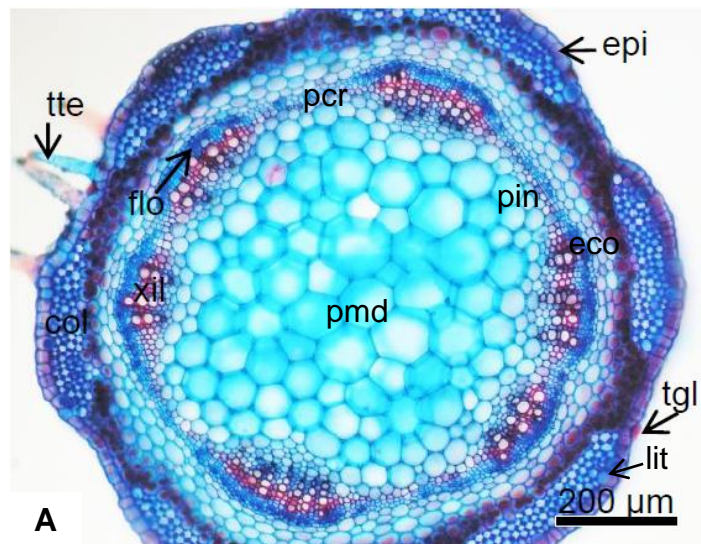


Figura 9 – Microscopia da seção transversal do caule de *Justicia pectoralis*. Legenda: epi = epiderme unisseriada; col = colênquima; eco = extensão colenquimática; tte = tricoma tector; tgl = tricoma glandular; lit = litocisto; pqr = parênquima de preenchimento cortical; pin = parênquima interfascicular; xil = xilema; flo = floema; pmd = parênquima de preenchimento medular.

Fonte: Malheiros (2012).

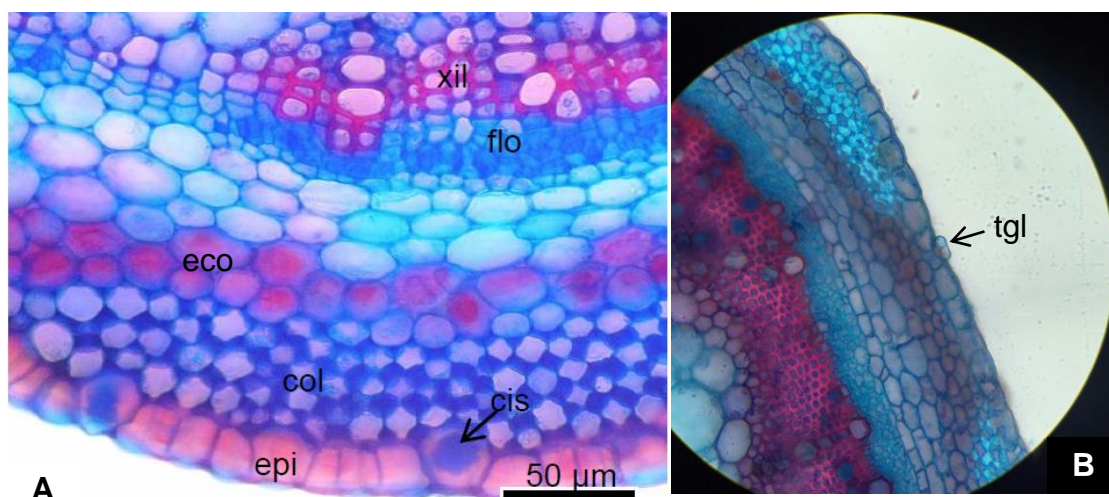


Figura 10 – Microscopia da seção transversal do caule de *Justicia pectoralis*. A - evidenciando cistólito; B – detalhe do tricoma glandular. Legenda: epi = epiderme unisseriada; col = colênquima; eco = extensão colenquimática; cis = cistólito; xil = xilema; flo = floema; tgl = tricoma glandular.

Fonte: A – Malheiros (2012); B – Própria.

4. Discussão:

A descrição das características macroscópicas da espécie *Justicia pectoralis* Jacq. reforçam a afirmação de que há similaridade entre os membros do gênero *Justicia*. Dessa maneira, as informações acerca de suas características são relevantes, uma vez que muitas espécies desse gênero são utilizadas pela população como plantas medicinais e essas informações podem servir como fonte para a correta determinação da espécie (OLIVEIRA; ANDRADE, 2000; OLIVEIRA et al., 2000).

Entretanto, os caracteres morfológicos vegetativos encontrados mostraram-se insuficientes para distinção de *Justicia pectoralis*, uma vez que os padrões apresentados são comuns dentro do gênero *Justicia* (KAMEYAMA, 2006). Sendo assim, os padrões anatômicos ganharam maior relevância no papel de caracterização da espécie.

Quanto aos caracteres microscópicos, a presença de tricomas tectores multicelulares é comumente observada em representantes da família Acanthaceae e bem descrita na literatura (AKHTAR; SYED, 2006; O'NEIL, 2010; PEICHOTO, 1998; VERDAM et al., 2012). A ocorrência de colênquima angular verificada no caule, também pôde ser observada no pecíolo e na região da nervura central nos trabalhos de Aoyama e Indriunas (2013), Monteiro e Aoyama (2012), Zottele e Aoyama (2013) em outras espécies de Acanthaceae, além de *J. pectoralis*.

A família também tem a característica peculiar de apresentar cristólitos de formatos variados que ocorrem na folha e caule. Acanthaceae é referendada na literatura como uma das 14 famílias onde estas inclusões estão presentes (METCALFE; CHALK, 1957). Entretanto, de acordo com Lin, Yen e Kuo-Huang (2004), essa deposição de carbonato de cálcio é mais restrita e de ocorrência em apenas três famílias: Moraceae, Urticaceae e Acanthaceae.

A ocorrência de cristólitos em Acanthaceae tem sido relatada em vários trabalhos. Em 1908, Solereder já havia mencionado a presença de cristólitos duplos em *Glossochilus durechellii* (Barlerieae). Ahmad (1979) relatou cristólitos presentes em 82 espécies da subfamília Acanthoideae. Kumar e Paliwal (1978; 1982) descreveram características dos cristólitos em membros de Acanthaceae ressaltando a relevância sistemática destas inclusões. Inandmar, Chaudari e Ramana Rao (1990) investigaram a ocorrência de cristólitos em 46 espécies de Acanthaceae, de modo que foram verificados em 39 delas. Patil e Patil (2011) evidenciaram a ocorrência de cristólitos em 43 espécies pertencentes a 22 gêneros de Acanthaceae.

Estes autores destacam que estas inclusões celulares de cálcio encontram-se, geralmente, nas partes vegetativas de várias espécies da família com variações na natureza, forma, tamanho, cor, distribuição e posição nos órgãos vegetais, conferindo-lhes importância como caracteres diagnósticos de Acanthaceae. Com base nestes dados, sugere-se que as várias características dos cristólitos podem ser convenientemente empregadas em taxonomia e considerações filogenéticas, além de auxiliar na distinção em nível de gêneros e espécies.

Para *Justicia*, são vastos os relatos na literatura da ocorrência de cristólitos nas folhas de espécies desse gênero: Aoyama e Indriunas (2013) descreveram a ocorrência de litocistos contendo cristólitos de carbonato de cálcio em *J. carnea*, *J. scheidweileri* e em *J. kleinii* entre as células epidérmicas da face adaxial. As três espécies apresentam cristólitos foliares solitários e alongados, como observado para outras *Justicia*: *J. cydoniifolia* (TAVARES; NEVES, 1993); *J. acuminatissima* (MENDONÇA; PEREIRA, 2012); *J. brandegeana* (AOYAMA; INDRIUNAS, 2012); *J. procumbens* (KUO-HUANG; YEN, 1996); *J. gendarussa* (AOYAMA; INDRIUNAS, 2014) e *J. pectoralis* (AOYAMA; INDRIUNAS, 2014; VARGEM, 2015).

Assim, os dados da literatura quanto a anatomia foliar de diversas espécies de Acanthaceae, permitem concluir que a presença de cristólitos foliares é comum e característica em representantes da família, em especial para o gênero *Justicia*, constituindo um indicador anatômico de importância taxonômica para as espécies deste gênero. Entretanto, pela presença

desta inclusão não ter sido comumente verificada no caule das espécies de *Justicia* descritas na literatura, os achados deste estudo permitem inferir que a presença e tipo de cristólitos neste órgão pode ser utilizado como referencial anatômico para caracterização da *Justicia pectoralis* Jacq.

Segundo Larcher e Boeger (2006), os cristólitos podem estar relacionados à defesa contra herbivoria, invasão de fungos e com os mecanismos de retirada de excesso de cálcio absorvido do solo. Outros autores (KUO-HUANG; YEN, 1996; LIN; YEN; KUO-HUANG, 2004) sugerem que tais inclusões possam atuar como reservatório de CO₂ ou Ca²⁺ para a fotossíntese. Coerente com este raciocínio, segundo Vilar (2009), fatores ambientais como ausência de luz, principalmente em indivíduos jovens, ou a ausência de dióxido de carbono na atmosfera parecem inibir o desenvolvimento dos cristólitos. Bauer, Elbaum e Weiss (2011) ainda enfatizam a importância da mineralização na prevenção do efeito tóxico do íon Ca²⁺ na célula.

Os caracteres observados neste estudo para anatomia caulinar de *J. pectoralis*, em especial a ocorrência de epiderme unisseriada e colênquima angular, parênquimas de preenchimento, tricomas tectores pluricelulares e glandulares, estão em conformidade com os caracteres analisados no trabalho de Peichoto (1998) em 12 espécies de *Justicia* (*J. axillaris*, *J. brasiliensis*, *J. comata*, *J. dumetorum*, *J. floribunda*, *J. goudotti*, *J. laevilinguis*, *J. lythroides*, *J. ramulosa*, *J. oblonga*, *J. squarrosa*, *J. tweediana*) ocorrentes no nordeste argentino, assim como no trabalho de Zotte e Aoyama (2014) envolvendo a caracterização anatômica caulinar da espécie *Justicia wasshauseniana* P. de ocorrência no Espírito Santo, Brasil. Os resultados deste estudo, quanto a anatomia caulinar de *J. pectoralis*, estão também em conformidade com as verificações de Verdum (2009) para espécie *J. acuminatissima* coletada em Manaus no Amazonas.

Entretanto, para as espécies de *Justicia* dos estudos acima citados de ocorrência no Brasil, não foi observada a presença de cristólitos, cuja inclusão foi verificada apenas nas *Justicia* de ocorrência na Argentina. Esses achados evidenciam e reforçam que os cristólitos do tipo solitário globoso, encontrado na epiderme caulinar de *J. pectoralis* no presente trabalho, podem ser utilizados na distinção da espécie dentre outros membros de *Justicia* de ocorrência nos biomas brasileiros.

Convém ainda citar a *J. pectoralis* forma mutuquinha, de ocorrência na Amazônia, reconhecida como uma etnoespécie diferente da *J. pectoralis* var. *stenophylla* por populações ribeirinhas que as cultivam, sendo-lhes atribuídas inclusive indicações terapêuticas distintas (as folhas e caules da primeira são comumente usados na forma de

infusão pelas mulheres no tratamento de hemorragias e cólicas uterinas) (RODRIGUES, 2006). Embora morfologicamente distintas, *J. pectoralis* var. *stenophylla* (analisada neste estudo) e *J. pectoralis* forma mutuquinha, verificada no trabalho de Cassino (2010), também compartilham estruturas (tricomas tectores pluricelulares e glandulares) e tecidos (epiderme unisseriada, colênquima angular, parênquimas de preenchimento) na constituição da anatomia caulinar, inclusive quanto a ocorrência de estrutura vascular sifonostélica ectofloica colateral e presença de cristólitos, corroborando que a presença desta inclusão no caule pode ser utilizada como marcador anatômico para a espécie, mesmo que pertençam a variedades diferentes.

Além disso, a morfologia e anatomia da raiz e caule verificadas neste trabalho para *J. pectoralis*, coincidem com as observações do estudo de Malheiros (2012) para mesma espécie em ocorrência no nordeste brasileiro.

5. Considerações finais:

Acredita-se que, propor à sociedade a utilização de um determinado fitoterápico requer, antes de tudo, a avaliação pragmática e identificação taxonômica correta das plantas medicinais, isto para aumentar o seu valor agregado e possibilitar a exploração do potencial terapêutico na saúde pública regional. Desta forma, a realização de análises morfo-anatômicas contribui com os padrões de controle de qualidade para o reconhecimento de determinada espécie medicinal.

Com base nos resultados obtidos, foi possível realizar o levantamento de características anatômicas da raiz e caule da espécie *J. pectoralis* ocorrente no Cerrado goiano. Tendo em vista a escassez de estudos farmacobotânicos anteriores para esta espécie, em especial para a anatomia radicular e caulinar, e até mesmo para o gênero *Justicia*, o presente trabalho ganha relevância na caracterização de *J. pectoralis* como importante ferramenta que pode auxiliar na sua correta identificação, especialmente no que diz respeito a sua utilização na forma de droga vegetal, dado o uso intenso dessa espécie na medicina popular.

Os achados deste estudo, aliados aos dados obtidos na literatura, permitem inferir que verificação de cristólitos solitários globosos visualizados no caule de *J. pectoralis*, constituem um marcador anatômico de relevância taxonômica que pode ser empregado para caracterização e distinção da espécie em estudo em virtude de outros trabalhos não terem

verificado, até o presente, a ocorrência desta inclusão no mesmo órgão em outras espécies de *Justicia* de ocorrência no Brasil.

Referências Bibliográficas:

AGRA, M. F.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

AHMAD, K. J. Taxonomic significance of epidermal characters in (Acanthaceae). In: Progress in Plant Research. **Today and Tomorrow's Printers and Publishers**. New Delhi, v.1, p. 135-160, 1979.

AKHTAR, N.; SYED, A. Epidermal structures as taxonomic feature in some members of Acanthaceae. **Pak. J. Pl. Sci.**, v.2, n.2, p.163-166, 2006.

ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 16 (Supl.), p. 678-689, 2006.

AOYAMA, E. M.; INDRIUNAS, A. Leaf anatomy of *Justicia brandegeana* Washh. & L.B. Sm. (Acanthaceae). **Communications in Plant Sciences**, v. 2, n. 3-4, p. 37-39, 2012.

AOYAMA, E. M.; INDRIUNAS, A. Micromorfologia e anatomia foliar de duas espécies de *Justicia* L. (Acanthaceae) de uso medicinal. **Rev. Biol. Neotrop.**, v. 11, n. 2, p. 97-106, 2014.

AOYAMA, E. M.; INDRIUNAS, A. Morfoanatomia foliar de três espécies de *Justicia* L. (Acanthaceae). **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, p. 2833-2844, 2013.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; COSTA, C. G.; ICHASO, C. L. F.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1991.

BAUER, P.; ELBAUM, R.; WEISS, I. M. Calcium and silicone mineralization in land plants: transport, structure and function. **Plant Science**, v. 180, p. 746-756, 2011.

BRAGA, F. C.; RATES, S. M. K.; SIMÕES, C. M. O. Avaliação da eficácia e segurança de produtos naturais candidatos a fármacos e medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 53 – 68.

BRANDÃO, M. das G. L. Importância dos registros históricos na investigação e utilização de produtos naturais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO J. C. P.; MENTZ, L.

A.; PETROVICK, P. R. (Org). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 29 – 38.

CASSINO, M. F. **Estudo etnobotânico de plantas medicinais em comunidades de Várzea do rio Solimões, Amazonas e aspectos farmacognósticos de *Justicia pectoralis* Jacq. forma mutuquinha (Acanthaceae)**, 2010. 135 f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Programa de Pós-Graduação em Botânica, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Amazonas, Manaus, 2010.

CORRÊA, G. M.; ALCÂNTARA, A. F. de C. Chemical constituents and biological activities of species of *Justicia* - a review. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn**, v. 22, n. 1, p. 220-238, jan./feb. 2012.

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

FONSECA, F. N. **Desenvolvimento tecnológico de fitoproduto a partir de *Justicia pectoralis* – chambá: obtenção do extrato seco padronizado (CLAE-DAD) e avaliação farmacológica**. 2009. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 178-182, 2005.

GLÓRIA, B. A. da; GUERREIRO, S. M. S. **Anatomia Vegetal**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2006.

GONÇALVES, E. G.; LORENZI, H. **Morfologia Vegetal**. Organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares. 2.ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2011.

GRAHAM, V. A. W. Delimitation and infra-generic classification of *Justicia* (Acanthaceae). **Kew Bulletin**, v. 43, n. 4, p. 551-624, 1988.

HASTON, E.; RICHARDSON, J. E.; STEVENS, P. F.; CHASE, M. W.; HARRIS, D. J. The Linear Angiosperm Phylogeny Group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, p – 128-131, 2009.

INANDMAR, J. A.; CHAUDHARI, G. S.; RAMANA RAO, T. V. Studies on the cystoliths of Acanthaceae. **Feddes Repertorium**, v. 101, n. 7-8, p. 417-424, 1990.

INDRIUNAS, A. **Revisão taxonômica de *Herpetacanthus Nees* (Acanthaceae)**. 2011. 119 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente), Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2011.

INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Lista das espécies da Flora do Brasil** – 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do#CondicaoTaxo> nCP. Acesso em: 05 set. 2016.

KAMEYAMA, C. Acanthaceae. In: BARBOSA, M. R. V. et al. (Org.). **Checklist das plantas do Nordeste brasileiro: angiospermas e gymnospermas**. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2006.

KAMEYAMA, C. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Acanthaceae. **Rodriguesia**, v. 57, n. 2, p. 149-154, 2006.

KUMAR, S.; PALIWAL, G. S. Foliar anatomy of Scrophularianaceae and Acanthaceae. **Geophytology**, v. 12, n. 1, p. 22-29, 1982.

KUMAR, S.; PALIWAL, G. S. Foliar anatomy of the family Acanthaceae. The tribe Justiceae. **Bulletin of the Botanical Survey of India**, v. 20, n. 1-4, p. 54-63, 1978.

KUO-HUANG, L. L.; YEN, T. B. The development of lithocysts in the leaves and sepals of *Justicia procumbens* L. **Taiwania**, v. 41, n. 1, p. 17-26, 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.

LIN, M. L.; YEN, T. B. KUO-HUANG, L. L. Formation of calcium carbonate deposition in the cotyledons during the germination of *Justicia procumbens* L. (Acanthaceae) seeds. **Taiwania**, v. 49, n. 4, p. 250-262, 2004.

LIZCANO, L. J.; BAKKALI, F.; RUIZ-LARREA, M. B.; RUIZ-SANZ, J. I. Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1566-1570, 2010.

LOCKLEAR, T. D.; HUANG, Y.; FRASOR, J.; DOYLE, B. J.; PEREZ, A.; GOMEZ-LAURITO, J.; MAHADY, 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.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.

MACRAE, W. D.; TOWERS, G. H. N. *Justicia pectoralis*: a study of the basis for its use as hallucinogenic snuff ingredient. **J. Ethnopharmacology**, v. 12, n. 1, p. 93-111, 1984.

MALHEIROS, S. G. de L. **Estudo Farmacobotânico de seis espécies de uso medicinal no Nordeste Brasileiro**, 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2012.

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

MARTINELLI, I. G.; MELLO-SILVA, R. Acanthaceae do parque Estadual de Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. **Bol. Bot. Univ. São Paulo**, São Paulo, v. 33, p. 7-13, 2015.

MATIAS, R.; CONSOLARO, H. Polinização e sistema reprodutivo de Acanthaceae Juss. no Brasil: uma revisão. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 31, n. 3, p. 890-907, 2015.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas: sistemas de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades.** 3.ed. Fortaleza: Editora da UFC, 1998.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil.** 2.ed. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2000.

McDADE, L. A.; DANIEL, T F.; KIEL, C. A. Toward a comprehensive understanding of phylogenetic relationships among lineales of Acanthaceae. **American Journal of Botany**, v. 95, n. 9, p. 1136-1152, 2008.

MENDONÇA, A. S. de, PEREIRA, M. M. Morphology and anatomy of *Justicia acuminatissima* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 6, p. 1212-18, 2012.

METCALFE, C. R.; CHALCK, L. **Anatomy of dicotyledones.** v. II. Oxford Clarendon Press, 1957. 1500 p.

MONTEIRO, M. M.; AOYAMA, E. M. Morfoanatomia foliar de *Ruellia furcata* (Nees) Lindau (Acanthaceae). **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, p. 735-750, 2012.

NATURAL MEDICINE FACTS. Disponível em: <http://www.naturalmedicinefacts.info/plant/justicia-pectoralis.html>. Acesso em: 22 dez. 2016.

OLIVEIRA, A. F. M.; ANDRADE, L. de H. C. Caracterização morfológica de *Justicia pectoralis* JACQ. e *Justicia gendarussa* BURM. F. (ACANTHACEAE). **Acta Amazonica**, v. 30, n. 4, p. 569-578, 2000.

OLIVEIRA, A. F. M.; XAVIER; H. S.; SILVA; H. N.; ANDRADE, L. H. C. Screening cromatográfico de Acanthaceae medicinais: *Justicia pectoralis* e *J. gendarussa* Burm. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 3, n. 1, p. 37-41, 2000.

OLIVEIRA, F. de; AKISUE, G. **Fundamentos de Farmacobotânica e de Morfologia Vegetal.** 3.ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 2009.

O'NEIL, C. S. Anatomy of the shrimp plant, *Justicia brandegeana* (Acanthaceae). **Studies by Undergraduate Researchers at Guelph**, v. 3, p. 41-47, 2010.

PATIL, A. M.; PATIL, D. A. Occurrence and significance of cystoliths in Acanthaceae. **Current Botany**, v. 2, n. 4, p. 1-5, 2011.

PEICHOTO, M. C. Estudios morfo-anatómicos em espécies de *Justicia* (Acanthaceae) del nordeste argentino. **Darwiniana**, v. 36, n. 1-4, p. 13-28, 1998.

PROFICE, S. R., KAMEYAMA, C., CÔRTEZ, A. L. A., BRAZ, D. M., INDRUNAS, A., VILAR, T., PESSOA, C., EZCURRA, C. & WASSHAUSEN, D. R. C. FORZZA, et al. (Orgs.). 2010. **Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso: em 21 set. 2016.

PROFICE, S. R.; KAMEYAMA, C.; CÔRTEZ, A. L. A.; BRAZ, D. M.; INDRIUNAS, A.; VILAR, T.; PESSOA, C.; EZCURRA, C.; WASSHAUSEN, D. R. C. FORZZA, et al. (Orgs.). 2013. **Acanthaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB4156>>. Acesso em: 21 set. 2016.

PROFICE, S. R.; KAMEYAMA, C.; CÔRTEZ, A. L. A.; BRAZ, D. M.; INDRIUNAS, A.; VILAR, T.; PESSOA, C.; EZCURRA, C.; WASHAUSEN, D. R. C. FORZZA, et al. (Orgs.). 2015. **Acanthaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB21673>>. Acesso em: 21 set. 2016.

RODRIGUES, E. Plants and animals utilized as medicines in the Jaú National Park (JNP), Brazilian Amazon. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 5, p. 378–391, 2006.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados**. Lavras: UFLA. 2001.

RUENGSAWANG, K.; CHANTARANOTHAI, P.; SIMPSON, D. A. Contributions to the seed morphology and taxonomy of *Justicia* (Acanthaceae) from Thailand. **Journal of Systematics and Evolution**, v. 50, n. 2, p. 153–162, 2012.

SARITHA, B.; BRINDHA, P. Microscopic standardization studies on *Justicia tranquebarensis* L. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 9, p. 2897-2899, 2011.

SARTIN, R. D. **O gênero *Justicia* L. (Acanthaceae) no estado de Goiás**. 2015. 135 f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Universidade de São Paulo, USP, SP, 2015.

SASS, J. E. **Elemente of Botanical Microtechnique**. New York: MacGraw-Hill Book, 1940.

SILVA, M. J.; MELO, J. I. M.; SALES, M. F. Flora da região de Xingó, Alagoas e Sergipe: Acanthaceae A. Juss. **Rev. Caatinga**, v. 23, n. 2, p. 59-67, abr/jun. 2010.

SINGH, P.; KHOSA, R. L.; MISHRA, G.; TAHSEEN, M. A. A phytopharmacological review on *Justicia picta* (Acanthaceae): a well known tropical folklore medicinal plant. **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 3, n. 12, p. 1000-1002, 2015.

SOLEREDER, R. **Systematic anatomy of the Dicotyledons**. Clarendon Press, Oxford, 1908.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Acanthaceae. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG III**. 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012.

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

TAVARES, E. S.; VIANA, V. R. C. Contribuição ao estudo de *Justicia pectoralis* Jacq. – anador. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 76, n. 3, p. 63-66, 1995.

VARGEM, D. S. **Morfoanatomia, prospecção fitoquímica e caracterização do óleo essencial das folhas de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE) ocorrente em Brasília, DF.** 2015. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais), Curso de Pós-graduação em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente da Faculdade UniEVANGÉLICA, Anápolis, GO, 2015.

VENÂNCIO, E. T. **Estudo dos efeitos comportamentais e neuroquímicos do extrato padronizado de *Justicia pectoralis* (chambá) em camundongos.** 2009. 132 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

VERDAM, M. C. S. **Estudo farmacognóstico e abordagem farmacológica de *J. acuminatissima* (Miq.) Bremek (Acanthaceae),** 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Tropical), Universidade Federal do Amazonas, UFMA, Manaus, 2009.

VERDAM, M. C. S.; OHANA, D. T.; ARAÚJO, M. G. P.; GHILHON-SIMPLICIO, F.; MENDONÇA, A. S. de; PEREIRA, M. M. Morphology and anatomy of *Justicia acuminatissima* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, p. 1212-1218, 2012.

VIANA, G. S. B.; LEAL, L.K.A. M.; VASCONCELOS, S. M. M. Plantas Medicinais da Caatinga: Atividades Biológicas e Potencial Terapêutico. **Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza, 2013.

VIDAL, W. N. & VIDAL, M. R. R. **Botânica – Organografia: Quadros sinóticos ilustrados de Fanerógamas.** 4.ed. Viçosa: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, 2009.

VILAR, T. S. **Acanthaceae Juss. no Distrito Federal, Brasil,** 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Programa de Pós-Graduação em Botânica, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, DF, 2009.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL-FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

WASSHAUSEN, D. C. New species of *Justicia* (Acanthaceae) from the Guianas. **Brittonia**, v. 54, n. 4, p. 286-297, 2002.

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

ZOTTELE, L.; AOYAMA, E. M. Morfoanatomia e enraizamento de estacas caulinares de *Justicia wasshauseniana* Profice (Acanthaceae). **Natureza on line**, v. 12, n. 4, p. 179-184, 2014.

ZOTTELE, L.; AOYAMA, E. M. Morfo-anatomia foliar de *Justicia wasshauseniana* Profice (Acanthaceae). In: **II Simpósio sobre a Biodiversidade de Mata Atlântica.** Santa Teresa, Museu de Biologia Mello Leitão, 2013.

**Capítulo 2 – Prospecção fitoquímica das partes aéreas de *Justicia pectoralis* Jacq.
(ACANTHACEAE) ocorrente no Cerrado Goiano.**

RESUMO: O estudo químico vem despertando interesse ao longo da história na composição das plantas medicinais. Estudos fitoquímicos envolvendo membros da família Acanthaceae demonstraram que são espécies importantes na medicina tradicional para o tratamento de infecções e dores em geral. Neste contexto, visando elucidar qualitativamente os constituintes químicos de *Justicia pectoralis* Jacq., foi realizada a prospecção fitoquímica de suas partes aéreas com o objetivo de elucidar os grupos de metabólitos secundários mais característicos da referida espécie e obter conhecimentos preliminares do comportamento químico dos extratos analisados. A identificação dos fitoquímicos foi realizada por meio de reações de caracterização dos metabólitos secundários mais relevantes, separadas em três grandes grupos: compostos fenólicos; compostos nitrogenados e terpenos. Os resultados demonstraram a presença dos seguintes grupos: flavonoides, compostos fenólicos, presença de núcleo esteroide e desoxi-açúcares, além da presença de cumarinas. Baseando-se nos constituintes químicos encontrados na amostra das partes aéreas de *J. pectoralis*, constatou-se que a planta segue o padrão da família Acanthaceae, e que, com exceção dos heterosídeos antraquinônicos e cardioativos, alcaloides e saponinas, todas as outras classes de metabólitos secundários estão em conformidade com os estudos já realizados para a espécie, indicando-os como potenciais marcadores quimiotaxonômicos.

Palavras-chave: Fitoquímica. Acanthaceae. *Justicia pectoralis* Jacq.

ABSTRACT: The chemical study has aroused interest throughout history in the composition of medicinal plants. Phytochemical studies involving members of the Acanthaceae family have demonstrated that they are important species in traditional medicine for the treatment of infections and pains in general. In this context, in order to elucidate qualitatively the chemical constituents of *Justicia pectoralis* Jacq., The phytochemical prospection of its aerial parts was carried out with the objective of elucidating the groups of secondary metabolites more characteristic of this species and to obtain preliminary knowledge of the chemical behavior of the analyzed extracts. The identification of the phytochemicals was carried out through characterization reactions of the most relevant secondary metabolites, separated into three large groups: phenolic compounds; nitrogen compounds and terpenes. The results showed the presence of the following groups: flavonoids, phenolic compounds, presence of steroid nucleus and deoxy sugars, besides the presence of coumarins. Based on the chemical constituents found in the sample of the aerial parts of *J. pectoralis*, it was verified that a plant follows the pattern of the Acanthaceae family, and that,

with the exception of anthraquinone and cardioactive heterosides, alkaloids and saponins, all other classes of secondary metabolites are in accordance with studies already performed for the species, indicating them as potential chemotaxonomic markers.

Keywords: Phytochemistry. Acanthaceae. *Justicia pectoralis* Jacq.

1. Introdução:

Com o desenvolvimento da ciência e da tecnologia, aliado ao interesse em se confirmar o conhecimento em medicina popular, as plantas medicinais estão tendo seu valor terapêutico mais intensamente pesquisado pela ciência e a sua utilização vem crescendo (ATASANOV et al., 2015). As plantas são importantes fontes de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos (OLIVEIRA; FERREIRA; TOMA, 2010). A produção e utilização de fitoterápicos padronizados com seus benefícios comprovados e de alta qualidade, podem facilitar o acesso da população a medicamentos seguros e de baixo custo, facilitando ainda o crescimento da fitomedicina nacional e, desta forma, promovem positivo impacto na economia local (AGYARE et al., 2013; BADKE et al., 2016).

Os produtos naturais podem ser tão eficientes quanto os produzidos pela síntese química, contudo a transformação de uma matéria-prima vegetal em um medicamento deve manter a integridade química e farmacológica da espécie medicinal, garantindo a constância de sua ação biológica e a sua segurança de utilização, além de valorizar seu potencial terapêutico. Para garantir esses objetivos, a produção de fitoterápicos requer, necessariamente, estudos prévios relativos a aspectos botânicos, agrônômicos, fitoquímicos, farmacológicos e toxicológicos por meio do desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas (BRUM et al., 2011).

Atualmente, cerca de 40% dos medicamentos disponíveis no mercado farmacêutico são derivados de produtos naturais, sendo 25% provenientes de plantas, 10% de microrganismo e 3% de animais, mas, se forem considerados apenas os fármacos antineoplásicos e antimicrobianos, esse percentual sobe para 70% (SCANNEL et al., 2012). No Brasil, os fitoterápicos e as plantas medicinais são a classe de produtos que possuem maior potencialidade de crescimento. Nesse contexto, o crescente interesse por esses produtos

está relacionado ao mercado potencial que gira na casa dos bilhões de dólares. Estima-se que o faturamento nacional nesse setor chegue a US\$1 bilhão de dólares em 2017, caracterizando 15% do mercado farmacêutico (ABIFISA, 2016).

Cerca de 60.000 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). Essa riqueza vegetal característica do Brasil está relacionada com os diversos ecossistemas distribuídos em todo seu território devido à grande variedade de solos e climas (CORDELL, 2000).

Nesse cenário, destaca-se o bioma Cerrado bastante rico em espécies medicinais, em função de suas características morfológicas, com xilopódios e cascas que acumulam reservas e, com frequência, possuem substâncias farmacologicamente ativas. A partir do conhecimento empírico tradicional destes vegetais, muitas descobertas benéficas para a medicina já foram realizadas (SILVA; MIRANDA; CONCEIÇÃO, 2010). Entretanto, as pesquisas ainda são poucas e existem lacunas referentes ao conhecimento científico de compostos bioativos produzidos pelas espécies desse bioma, repercutindo em uma realidade brasileira onde, embora se tenha elevada diversidade vegetal e muitas espécies medicinais sejam de amplo conhecimento popular, o número de informações sobre essas plantas tem crescido menos de 10% ao ano (BESSA et al., 2013).

Dentre as inúmeras potencialidades terapêuticas do bioma Cerrado, destaca-se a espécie *Justicia pectoralis* Jacq., conhecida no Brasil pelos nomes populares de chambá, anador, melhoral ou novalgina, é considerada uma planta de uso medicinal nas regiões Norte e Nordeste, no tratamento de asma, tosse e bronquite (VENÂNCIO, 2009). Além disso, por apresentarem semelhanças fisiológicas entre si, espécies do gênero *Justicia* compartilham alguns nomes populares e indicações fitoterápicas, como anti-inflamatória e analgésica, as quais têm sido relacionadas à presença de cumarinas (LINO et al., 1997; MARTÍN-VIAÑA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2000). A distribuição deste metabólito secundário na família Acanthaceae é restrita a poucas espécies conferindo-lhe importância etnofarmacológica (MURRAY; MÉNDEZ; BROWN, 1982). Dentro do gênero *Justicia*, as cumarinas já foram elucidadas para *J. pectoralis* e *J. acuminatissima* (CORRÊA, 2013).

A produção de cumarinas em *Justicia* sp. é induzida pelo ataque de herbívoros (DIXON; PAIVA, 1995), microrganismos (MANN, 1987), sendo também liberadas pelas raízes, exercendo efeito alelopático sobre plantas vizinhas (MELO; ANDRADE, 1989), demonstrando que sua produção no vegetal tem caráter defensivo.

Estudos fitoquímicos com membros da família Acanthaceae demonstraram que são espécies importantes na medicina tradicional para o tratamento de infecções e dores em geral e promissoras do ponto de vista farmacológico (CABRAL et al., 2012; CORTÊS; RAPINI, 2013). Entretanto, os dados da literatura referentes à constituição fitoquímica de *Justicia pectoralis* Jacq. nativas do bioma Cerrado, onde também ocorre, ainda são escassos. Estudos desta natureza são úteis para a caracterização quimiotaxonômica desta espécie e, ainda, por fornecer subsídios para o controle de qualidade da matéria-prima vegetal.

Neste contexto, visando conhecer os constituintes químicos de *Justicia pectoralis* Jacq., foi realizada a análise fitoquímica das partes aéreas da referida espécie, por meio de técnicas de prospecção de substâncias de interesse terapêutico com o objetivo de elucidar os grupos de metabólitos secundários relevantes da espécie e obter conhecimentos preliminares do comportamento químico dos extratos analisados.

2. Materiais e Métodos:

2.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO:

O material botânico para realização das análises foi obtido conforme procedimento descrito no item 2.1 do capítulo 1 desta dissertação. Foram utilizadas plantas adultas completamente expandidas, sem florescência, sendo as partes aéreas coletadas abaixo do terceiro nó, sempre no período da manhã.

2.2 PROCESSAMENTO DO MATERIAL BOTÂNICO:

O material coletado foi limpo em água potável, com posterior enxágue em água destilada e submetido à secagem em estufa com circulação forçada de ar, Marca Solab e modelo SL-102, à 40°C (\pm 5°C) até atingir o teor de umidade entre 8 a 14%, conforme especificação da Farmacopeia Brasileira 5ª edição (V) - caracterização de drogas vegetais (BRASIL, 2010). Após a secagem, o material seco foi pulverizado em moinho de facas, marca Marconi e modelo MA-580. O pó obtido foi acondicionado em sacos plásticos escuros, identificado e armazenado em local protegido da luz e umidade até sua utilização nos experimentos. A droga vegetal foi então submetida a análise de prospecção fitoquímica conforme metodologias descritas a seguir.

2.3 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA:

A análise qualitativa das principais classes de metabólitos secundários presentes nas partes aéreas de *Justicia pectoralis* Jacq., foi realizada nas amostras pulverizadas obtidas conforme descrito nos itens 2.1 e 2.2. Neste trabalho foram utilizadas algumas das principais reações de caracterização dos metabólitos secundários mais relevantes, adaptadas de Costa (2001), Matos (1988), Matos & Matos (1989) e Simões et al. (2017), separadas em três grandes grupos: compostos fenólicos (fenois simples, flavonoides, antraquinonas, cumarinas e taninos); compostos nitrogenados (alcaloides) e terpenos (heterosídeos cardioativos e saponinas). As análises relacionadas à prospecção fitoquímica foram realizadas no Laboratório de Química Instrumental da Universidade Estadual de Goiás (campus Anápolis).

2.3.1 Compostos Fenólicos:

2.3.1.1 Compostos Fenólicos simples, Flavonoides e Antraquinonas

Extração:

Foram pesados, em balança de precisão, 8g da amostra pulverizada das partes aéreas de *J. pectoralis* e acrescentados 80 mL de etanol a 70% (v/v). Essa mistura foi fervida durante 5 minutos e filtrada em papel de filtro umedecido com etanol a 70% (v/v) (MATOS; MATOS, 1989).

Reações de Caracterização

Reações específicas para Flavonoides – Caracterização do núcleo fundamental benzopirano:

- *Reação de cianidina ou de Shinoda:* Foram transferidos 3 mL do filtrado para um tubo de ensaio. Adicionou-se cerca de 1 cm de fita de magnésio fina e acrescentou-se cuidadosamente 1 mL de ácido clorídrico concentrado. O aparecimento de coloração vermelha indica reação positiva para heterosídeos flavonoides. Nessa reação, os derivados flavônicos, que têm cor amarelada, em presença de meio ácido, são reduzidos a derivados antociânicos (Figura 1) de coloração vermelha. Chalconas e isoflavonas não desenvolvem cor nesse ensaio (ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017).

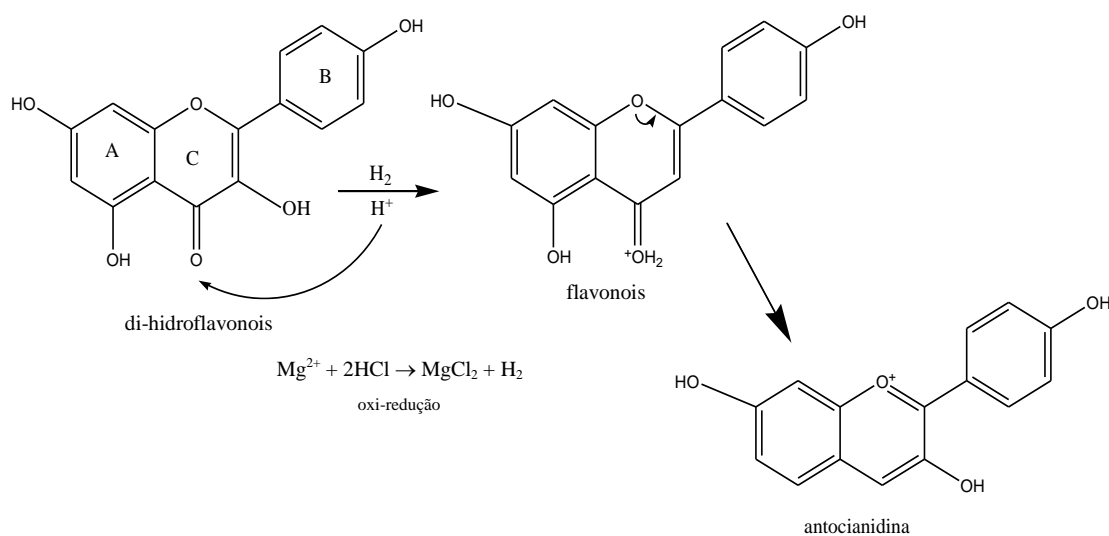


Figura 1 – Derivados antociânicos (antocianidinas) gerados pela reação dos flavonoides com fita de magnésio e ácido clorídrico concentrado.

- *Reação Oxalo-Bórica*: Evaporou-se 5 mL de solução extrativa em uma cápsula de porcelana. Juntou-se ao resíduo semi-seco 3 mL de solução de ácido bórico a 3% (p/v) e 1 mL de solução de ácido oxálico a 10% (p/v). Evaporou-se até secura e adicionou-se, ao resíduo seco, 7 mL de éter etílico P.A. Observou-se sob luz ultravioleta se há aparecimento de fluorescência amarelo-esverdeada. Costa (2001), afirma que os flavonoides da amostra, na presença de ácido bórico e ácido oxálico, formam complexos cromóforos (Figura 2) 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 (Figura 3) originam composto corado de amarelo esverdeado solúvel em éter, com fluorescência perceptível (ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017). Esta reação é exclusiva de flavonóis. Os outros compostos (flavonas, flavanonas e isoflavonas) podem corar-se, mas não apresentam fluorescência.

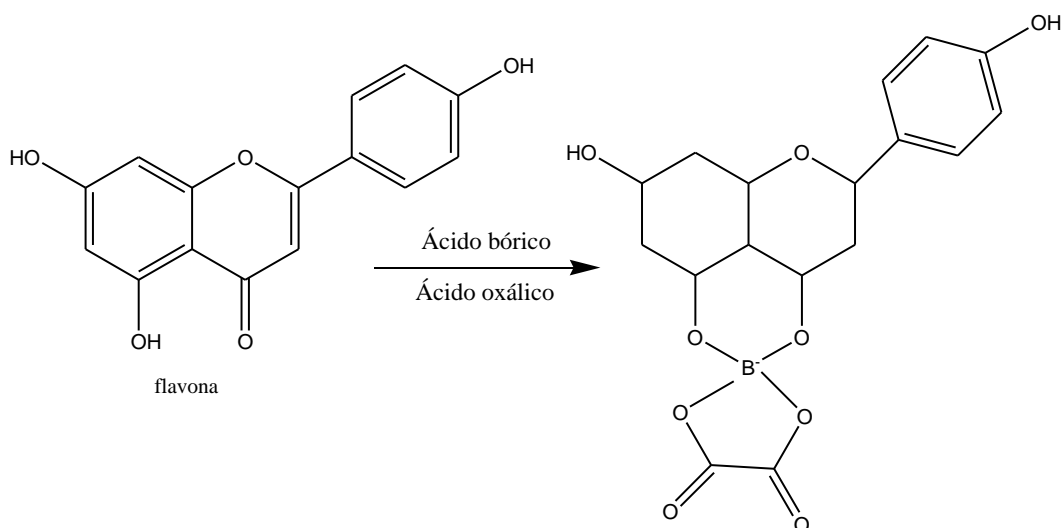


Figura 2 – Complexos cromóforos formados pela reação dos flavonoides com ácido bórico e ácido oxálico.

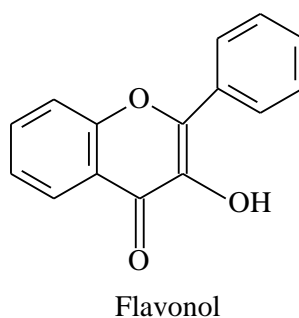


Figura 3 – Estrutura de um flavonol com hidroxila livre em C-3.

- *Reação com Ácido Sulfúrico Concentrado:* Foram adicionados 3 mL da solução extrativa numa cápsula de porcelana e deixou-se evaporar até a semi-secura. Juntou-se 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A presença de fluorescência amarela ou verde, sob luz ultravioleta, indica reação positiva para heterosídeos flavonoides. Na presença de ácido sulfúrico concentrado os compostos flavônicos (Figura 4) formam sais de oxônio (Figura 5) (ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017). Estes sais apresentam fluorescência variável, conforme a posição do íon oxônio, quando expostos à luz ultravioleta.

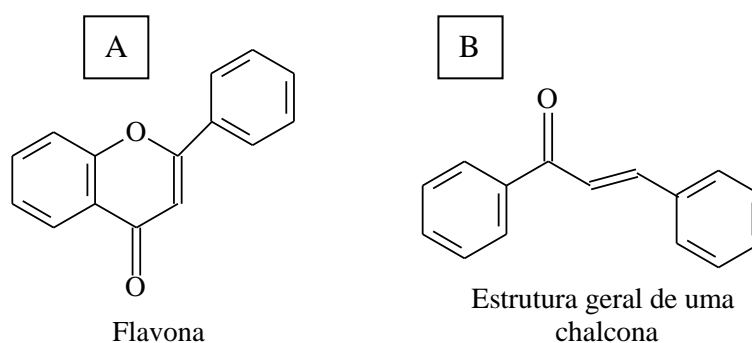


Figura 4 – Estruturas básicas de compostos flavônicos. A – flavona; B – chalcona.

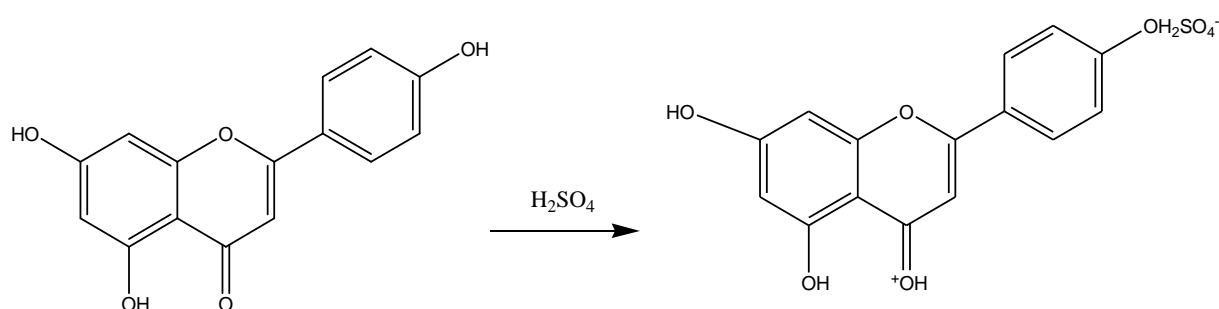


Figura 5 – Íons oxônio gerados pela reação de compostos flavônicos com ácido sulfúrico concentrado.

Reações específicas para compostos fenólicos em geral – Caracterização de Hidroxilas fenólicas:

- *Reação com Hidróxidos Alcalinos:* Foram transferidos 3 mL da solução extrativa para um tubo de ensaio. Adicionou-se 1 mL de hidróxido de sódio a 20% (p/v) e agitou-se o tubo. O desenvolvimento de coloração amarela indica reação positiva para heterosídeos flavonoides. Em meio alcalino, alguns grupos de flavonoides apresentam cor amarela. As chalconas podem desenvolver coloração vermelho-amarelada.
- *Reação com Cloreto de Alumínio:* Foram transferidos cerca de 5 mL da solução extrativa para uma cápsula de porcelana. Concentrou-se à metade e transferiu-se para um pedaço de papel de filtro espalhando sobre toda a superfície. A seguir, uma das regiões do papel foi umedecida com solução de cloreto de alumínio a 5% (p/v). O cloreto de alumínio forma complexos com hidroxilas vizinhas ou hidroxilas e carbonilas vizinhas nos derivados flavonoides, tais complexos (Figura 6) apresentam

fluorescência que vai do amarelo ao azul-esverdeado quando observados sob luz ultravioleta 365 nm (COSTA, 2001).

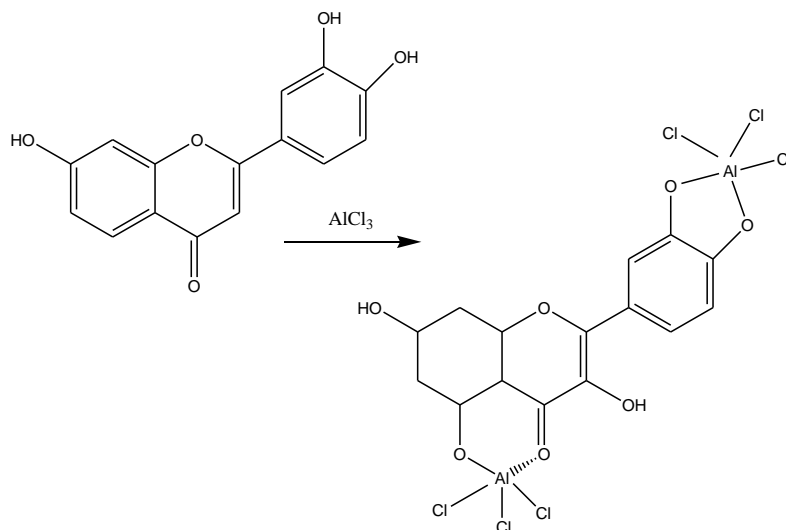


Figura 6 – Complexos formados pela reação do cloreto de alumínio com hidroxilas vizinhas ou hidroxilas e carbonilas vizinhas nos derivados flavonoides.

- *Reação com Cloreto Férrico:* Foram transferidos 3 mL da solução extrativa para um tubo de ensaio. Foram acrescentadas 2 gotas de cloreto férrico a 4,5% (p/v) e observar o aparecimento de coloração (negra, azul, amarela, verde, marrom ou vermelha). Segundo Zuanazzi, Montanha e Zucolotto (2017), muitos compostos fenólicos na presença de cloreto férrico desenvolvem coloração azul, verde, marrom ou vermelho.

Reação de caracterização de Heterosídeos Antraquinônicos:

- *Reação com Bornträger Indireta:* Foram transferidos 10 mL do filtrado para um béquer de 40 mL que foi designado béquer (I) e 10 mL para outro béquer que foi designado (II). Ao conteúdo do béquer I foi acidificado 0,5 mL de ácido clorídrico a 10% (v/v) e levado à fervura por 2 minutos em chapa aquecedora, sendo que com o conteúdo do béquer (II) fez-se o mesmo procedimento, exceto a acidificação. Os líquidos foram transferidos para tubos de ensaio designados de (I) e (II), respectivamente, e após o resfriamento, foram adicionados, a cada tubo, 10 mL de éter etílico P. A., agitando-os levemente. Em seguida, separou-se 5 mL da fase etérea dos tubos (I) e (II), e foram acrescentados 4 mL de amônia 50% (v/v) em cada um, deixando-os em repouso por 5 minutos para verificação da coloração da fase amoniacal (COSTA, 2001). De acordo com Reginatto (2017), a coloração rósea a

vermelha na fase amoniacal indica reação positiva para heterosídeos antraquinônicos, isto ocorre porque em meio alcalino as quinonas hidroxiladas transformam-se nos ânions fenolatos (Figura 7) correspondentes, os quais apresentam coloração rósea a vermelha, após a extração das agliconas e liberadas por hidrólise ácida. A cor desenvolvida, no máximo em 5 minutos, intensifica-se progressivamente pela oxidação das formas livres reduzidas – antrona e antranol – em antraquinona – Figura 8.

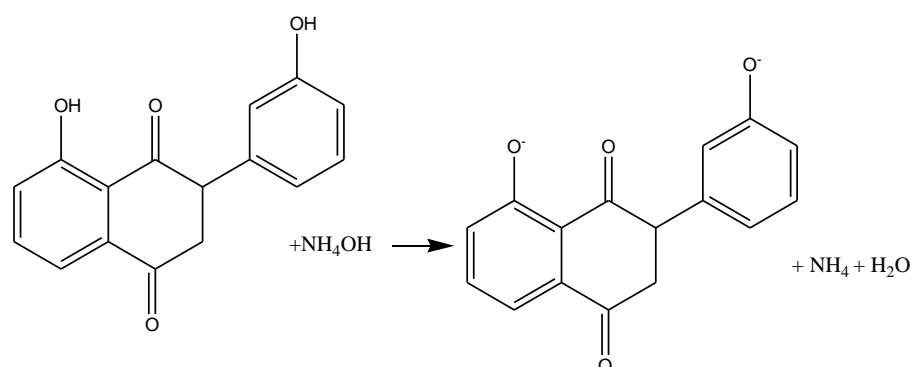
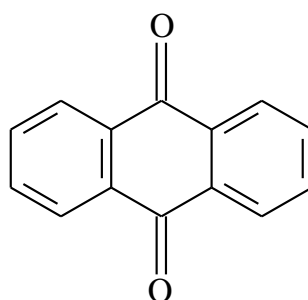


Figura 7 – Ânions fenolatos gerados pela reação de quinonas hidroxiladas com hidróxido de amônio.



Estrutura básica de
uma antraquinona

Figura 8 – Estrutura básica de uma antraquinona (9,10-antraquinona).

2.3.1.2 Cumarinas:

As cumarinas puras são fluorescentes (sob a ação da radiação ultravioleta possuem em geral fluorescência azul e alguns derivados já à luz natural), mas em meio alcalino, forma-se o ácido *cis-o*-hidroxicinâmico que sob a ação da radiação ultravioleta origina o isômero *trans* (figura 9), que é fluorescente (em meio alcalino torna-se verde ou desaparece).

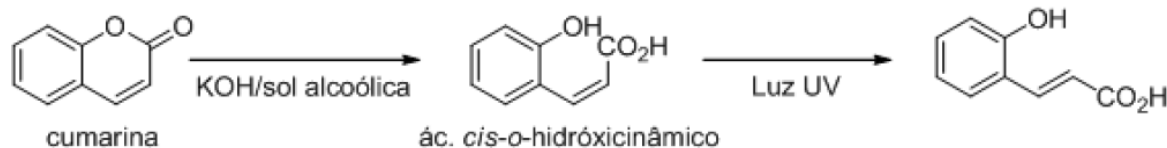


Figura 9 – Estrutura básica de uma cumarina e seus subprodutos em meio alcalino.

Extração:

Foram pesados 2 g da amostra pulverizada em balança de precisão e adicionados a 30 mL de água quente. Essa mistura foi filtrada, e ao filtrado adicionou-se 1 mL de ácido clorídrico 1 mol L⁻¹ (até pH 1) para promover a hidrólise do heterosídeo e obter o metabólito (cumarina) livre sem estar conjugado com açúcar. Em seguida, extraiu-se com 10 mL de éter etílico P.A. A fase etérea foi concentrada até a metade de seu volume.

Reação de Caracterização:

Para caracterização de cumarinas foram aplicadas gotas da fase etérea sobre duas regiões de um papel de filtro. Em uma das manchas formadas adicionou-se 1 gota de NaOH 1 mol L⁻¹. O papel foi observado sob luz ultravioleta 365 nm. Segundo Simões et al. (2017), as cumarinas, desenvolvem fluorescência azul-brilhante ou verde quando observadas sob luz ultravioleta 365 nm e em solução alcalina, sofrem rompimento do anel lactônico, desenvolvendo cor amarelada.

2.3.1.3 Taninos:

Extração:

Foram pesados em balança de precisão, 2g da amostra pulverizada e adicionados 50 mL de água destilada, a mistura foi levada à fervura durante 5 minutos. Em seguida, procedeu-se a filtração da mistura ainda quente, utilizando papel de filtro. Completou-se o volume do filtrado obtido para 100 ml e procedeu-se a pesquisa de taninos (MATOS, 1988).

Foram organizados em uma estante 12 tubos de ensaio. Em 6 dos 12 tubos foram adicionados 5 mL da solução extrativa. Nos 6 tubos restantes foram adicionados 5 mL de ácido tânico 0,5% (p/v) como controle positivo.

Reações de Caracterização:

- *Reação com gelatina:* Foram adicionadas ao primeiro tubo, 5 gotas de solução de gelatina a 2,5% (p/v) em solução de cloreto de sódio a 5% (p/v). A presença de precipitado branco indica reação positiva. Segundo Mello e Santos (2017), taninos reagindo com a gelatina formam-se pontes de hidrogênio entre as hidroxilas fenólicas dos taninos e os grupamentos amins dos aminoácidos (principalmente prolina) das proteínas, além de interações hidrofóbicas e algumas ligações covalentes, responsáveis pelo aparecimento de um precipitado.
- *Reação com sais de alcaloides:* Foram adicionadas ao segundo tubo, 5 gotas de solução de sulfato de quinino a 1% (p/v) em ácido sulfúrico a 5% (p/v). Ao terceiro tubo, foram adicionadas 5 gotas de solução de brucina a 1% (p/v) em ácido sulfúrico 5% (p/v). 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).
- *Reação com sais metálicos:* Ao quarto tubo foram adicionadas 5 gotas de acetato de cobre a 4% (p/v). Ao quinto tubo acrescentou-se 2 gotas de cloreto férrico a 2% (p/v). A presença de taninos é evidenciada pela formação de precipitado na amostra. O aparecimento de precipitado indica presença de taninos, pois eles reagem com sais de metais pesados como cobre, ferro, zinco, dentre outros, formando fenatos insolúveis. Os fenatos férricos apresentam coloração enegrecida (COSTA, 2001).
- *Reação com Hidróxidos Alcalinos:* Ao sexto tubo foram adicionadas 5 gotas de solução de hidróxido de sódio ou potássio a 20% (p/v). A presença de taninos na amostra é observada pelo escurecimento da solução. Os taninos não precipitam pelos hidróxidos alcalinos, pois os grupos fenólicos reagem formando fenatos solúveis. 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).

2.3.2 Compostos nitrogenados (Alcaloides):

Extração ácida:

Foram pesados em balança de precisão, 2g da amostra pulverizada e adicionados 20 mL de ácido sulfúrico a 5% (V/V), a mistura foi levada à fervura durante 3 minutos. Em seguida, procedeu-se a filtração da mistura ainda quente, utilizando papel de filtro. Após a filtração a solução foi resfriada e o filtrado transferido para funil de separação. A solução foi alcalinizada com NH_4OH a 10% até pH básico com monitoramento por fita de pH.

Foram realizadas extrações com 2 porções de 10 mL de clorofórmio e à fração orgânica foram acrescentados 20 mL de HCl diluído.

Pesquisa de alcaloides:

A fração ácida foi separada e submetida à pesquisa de alcaloides utilizando os reagentes gerais para alcaloides de acordo com metodologia adaptada de Costa (2001). Abaixo estão descritos os reagentes e suas respectivas técnicas de preparo:

Reagentes iodados:

Precipitam os alcaloides das soluções ácidas, sob a forma de poliiodetos complexos.

- Reativo de Mayer: Dissolver em água 2,71g de cloreto de mercúrio e 10g de iodeto de potássio e, em seguida, completar o volume para 200 mL com água destilada. Agitar e filtrar.

- Reativo de Dragendorff: Dissolver 8g de subnitrato de bismuto em 20mL de ácido nítrico a 30% (p/V). Dissolver, em separado, 22,8g de iodeto de potássio em um volume mínimo de água destilada. Despejar a primeira solução, pouco a pouco, sobre a segunda. Deixar em repouso durante algumas horas e filtrar. Completar o volume com água destilada para 100mL.

- Reativo de Bouchardat: Dissolver 4g de iodeto de potássio e 2g de iodo em 100ml de água destilada.

Reagente com poliácidos minerais complexos:

Precipitam os alcaloides em meios ácidos ou neutros na forma de compostos amorfos ou cristalinos.

- Reativo de Bertrand: Dissolver 1g de ácido sílico-túngstico em 100mL de água destilada.

Reagentes à base de ácidos orgânicos:

Precipitam alcaloides de soluções ácidas ou neutras formando compostos cristalinos que se dissolvem na presença de álcalis.

- Reativo de Hager: Dissolver 2g de ácido pícrico em 100mL de água destilada.

- Ácido Tânico: Dissolver 1g de ácido tânico em 100mL de água destilada.

A fração ácida foi distribuída igualmente, em 6 tubos de ensaio e em cada tubo, respectivamente e adicionadas 3 gotas dos reativos gerais para alcaloides citados acima.

Em paralelo, foi montada uma outra bateria de 6 tubos de ensaio (bateria controle), contendo 3mL de solução padrão de sulfato de quinina 1% (p/v). Em cada um destes tubos foram adicionadas 3 gotas dos respectivos reativos gerais para alcaloides a fim de servirem de padrão para comparação com a primeira bateria de tubos.

A presença de alcaloides é demonstrada pelo aparecimento de precipitados nos tubos:

Reativo de Mayer – precipitado branco.

Reativo de Dragendorff – precipitado vermelho tijolo.

Reativo de Bouchardat – precipitado marron-avermelhado.

Reativo de Bertrand – precipitado branco.

Reativo de Hager – precipitado amarelo.

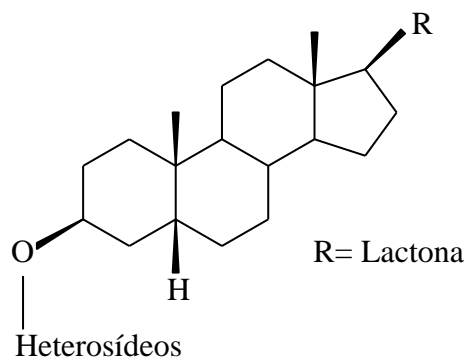
Ácido tânico – precipitado bege.

2.3.3 Compostos terpênicos

2.3.3.1 Heterosídeos Cardioativos:

Extração

Para a extração dos possíveis heterosídeos cardioativos (Figura 10) presentes na amostra pulverizada pesou-se, em balança semi-analítica, 2,5 g da amostra, acrescentou-se 25 mL de etanol a 50% (v/v) e 10 mL de solução de acetato de chumbo a 10% (p/v). A mistura foi levada a fervura por 4 minutos. Após a fervura a amostra foi resfriada, filtrada e o volume completado para 25mL com etanol a 50% (v/v). O filtrado foi transferido para um funil de separação e extraído por 2 vezes com 15 mL de clorofórmio P.A. (MATOS, 1988). A fração clorofórmica foi utilizada nas reações de pesquisa de heterosídeos cardioativos descritas abaixo:



Estrutura básica de um
heterosídeo
cardioativo

Figura 10 - Estrutura básica dos heterosídeos cardioativos.

Para a caracterização laboratorial destes princípios ativos, empregam-se reações que evidenciam isoladamente partes das moléculas dos heterosídeos, como por exemplo: reações de caracterização do núcleo esteróide (Liebermann-Burchard, Pesez); reações relacionadas com o anel lactônico pentacíclico (Kedde, Baljet, Raymond, Legal); reações relacionadas com os desoxiaçúcares (Keller-Kiliani, Xantidrol).

Reações de caracterização:

- *Reação de Liebermann-Burchard* (reação de caracterização do núcleo esteróide): Foram transferidos 3 mL da fração clorofórmica para um tubo de ensaio e levados à secura em banho-maria. Ao resíduo do tubo, foi adicionado 1 mL do reagente de Liebermann-Burchard, recém preparado (1 mL de clorofórmio P. A., 1 mL de anidrido acético P. A. e 3 - 4 gotas de ácido sulfúrico concentrado). Deixou-se o tubo em repouso por 5 minutos. O desenvolvimento de coloração acastanhada a esverdeada indica reação positiva para esteróides/ triterpenos.
Fundamento: O reagente de Liebermann-Burchard (anidrido acético + ácido sulfúrico) promoverá desidratações e desidrogenações no núcleo fundamental esteróide resultando derivados com ligações duplas conjugadas, portanto corados, tal coloração poderá ir do acastanhado ao esverdeado (COSTA, 2001).

- *Reação de caracterização do núcleo esteroide (Reação de Pesez)*: Foram evaporados 3 mL da fração clorofórmica até a secura numa cápsula de porcelana em chapa aquecedora. Foram acrescentadas, ao conteúdo da cápsula, após o resfriamento, 3 - 6 gotas de ácido fosfórico concentrado e misturados com auxílio de bastão de vidro para observação na luz U.V. A presença de fluorescência amarela ou verde, sob luz ultravioleta (365nm), indica reação positiva (MATOS; MATOS, 1989).

- *Reação de Keller-Kiliani* (reação que detecta desoxi-açúcares): Foram evaporados, até a secura, 5 mL da fração clorofórmica num tubo de ensaio em banho-maria. Ao resíduo do tubo, foi adicionado um reagente recém-preparado que contém ácido acético glacial P. A. e cloreto férrico 9% (p/v) na proporção de 3: 0,1. Homogeneizou-se o conteúdo do tubo e foi lentamente vertido para outro tubo de ensaio contendo 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. O desenvolvimento de um anel de coloração castanho-avermelhada na zona de contato, assim como o aparecimento de coloração azul-esverdeada na camada acética, indica reação positiva para desoxi-açúcares (COSTA, 2001). Obs.: Esta reação somente é positiva se o desoxi-açúcar estiver na extremidade glicídica. Se houver glucose ou outro açúcar, a reação será negativa, mesmo havendo desoxi-açúcares na molécula.

- *Reação de Kedde* (reação específica para o anel lactônico): Foram transferidos 6 mL da fração clorofórmica para um tubo de ensaio e levados à secura em banho-maria. Ao resíduo do tubo foram acrescentados 2 mL de etanol 50% (v/v), 2 mL de água, 2 mL de reagente ácido 3 - 5 dinitrobenzóico a 1% (p/v) recém-preparado em etanol a 96% (v/v) e 2 mL de hidróxido de potássio 1 mol.L⁻¹. Deixar em repouso por 5 minutos. O desenvolvimento de coloração castanho-avermelhada a vermelho-violeta indica reação positiva para heterosídeos cardioativos (COSTA, 2001).
Fundamento: Esta reação é atribuída à dissociação do anel lactônico pentacíclico insaturado (cardenólido) em meio alcalino, que se une ionicamente com um reagente nitrado (Figura 11), como o ácido dinitrobenzoico, pícrico etc., resultando em compostos fortemente coloridos. Obs.: Em substituição ao ácido 3,5-dinitrobenzóico pode-se utilizar *m*-dinitrobenzeno em meio alcalino (coloração desenvolvida será laranja ou violeta fugaz) ou ácido pícrico em meio alcalino (coloração desenvolvida será laranja estável).

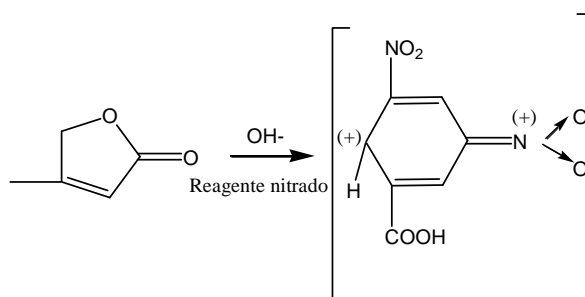


Figura 11 – Dissociação do anel lactônico pentacíclico insaturado (cardenólido) em meio alcalino.

2.3.3.2 Saponinas

Extração e determinação do índice de espuma:

Para a extração de possíveis saponinas (Figura 12), foram pesados 1 g da droga vegetal e transferidos para erlenmeyer contendo 50 mL de água fervente. A mistura foi mantida sob fervura moderada por 30 min. Após fervura, a solução foi resfriada, filtrada e transferida para um balão volumétrico de 100 mL. Foi completado o volume, através do filtro, até 100 mL. O decocto obtido foi distribuído em 3 tubos de ensaio com tampa (tubos de mesmo diâmetro e mesma altura), em série sucessiva de 1, 2 e 3, e o volume do líquido ajustado em cada tubo a 10 mL com água destilada. Os tubos foram tampados e agitados com movimentos verticais por 15 segundos, com duas agitações por segundo. Os tubos foram deixados em repouso por 15 minutos e a altura da espuma medida após o intervalo (Brasil, 2010). Segundo Athayde et al. (2017), a presença de saponinas na amostra é constatada pela formação de espuma persistente com altura de, pelo menos, 1 cm.

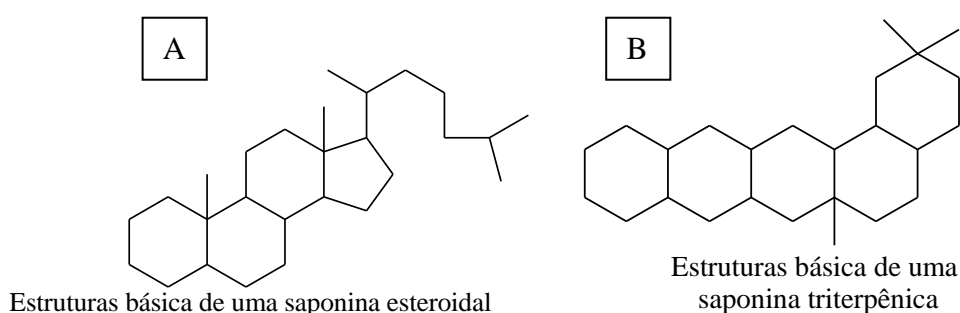


Figura 12 – Estruturas básicas das saponinas. A - saponina esteroidal; B - saponina triterpênica.

Para avaliação da presença de saponinas deve-se verificar:

- Se a altura da espuma de todos os tubos for inferior a 1 cm, o índice de espuma é menor do que 100;

- Se, em qualquer um dos tubos, a altura da espuma medida for 1 cm, a diluição do material vegetal nesse tubo (A) é o índice observado. Se esse tubo for o primeiro ou o segundo na série, é necessário fazer uma diluição intermediária, pelo mesmo método descrito anteriormente, para obter um resultado mais preciso;

- Se a altura da espuma for maior do que 1 cm em todos os tubos, o índice de espuma é maior que 1000. Nesse caso, a determinação precisa ser feita com uma nova série de diluições do decocto para se obter um resultado preciso;

- O Índice de Espuma (IE) é calculado segundo a equação:

$$IE = 1000/A$$

- Sendo A o volume, em mL, do decocto usado para preparação da diluição no tubo onde a espuma foi observada.

3. Resultados:

A tabela 1 demonstra os resultados, a partir das análises da prospecção fitoquímica, para flavonoides, compostos fenólicos em geral e heterosídeos antraquinônicos, cumarinas, taninos, alcaloides, heterosídeos cardioativos e saponinas das partes aéreas de *Justicia pectoralis*.

O resultado positivo na prospecção fitoquímica para as reações de cianidina ou Shinoda, Oxalo-Bórica e com ácido sulfúrico concentrado evidenciam a presença de flavonoides nas partes aéreas de *J. pectoralis*, assim como a presença de compostos fenólicos em virtude de positividade obtida nas reações com hidróxidos alcalinos, cloreto de alumínio e cloreto férrico.

Tabela 1: Prospecção fitoquímica das partes aéreas de *Justicia pectoralis* Jacq., cultivada no Horto Medicinal do centro universitário de Anápolis-Go, UniEvangélica.

<i>Reação de Caracterização para Flavonoides e Compostos Fenólicos em geral</i>	RESULTADO
1- Reação de Shinoda (cianidina)	Positiva
2- Reação Oxalo-Bórica	Positiva
3- Reação com H ₂ SO ₄ conc.	Positiva
4- Reação com Hidróxidos Alcalinos	Positiva
5- Reação com AlCl ₃	Positiva
6- Reação com FeCl ₃	Positiva
<i>Reação de Caracterização para Heterosídeos Antraquinônicos</i>	RESULTADO
1- Reação de Bornträger Indireta	Negativa
<i>Reação de Caracterização para Cumarinas</i>	Positiva
<i>Reação de Caracterização para Taninos</i>	RESULTADO
1- Reação com gelatina	Negativa
2- Reação com sulfato de quinino 1% (v/v)	Negativa
3- Reação com solução de brucina 1% (p/v)	Negativa
4- Reação acetato de cobre 4% (p/v)	Negativa
5- Reação com cloreto férrico 2% (p/v)	Negativa
6- Reação hidróxido de sódio 20% (p/v)	Negativa
<i>Reação de Caracterização para Alcaloides</i>	RESULTADO
1- Reativo de Mayer	Negativo
2- Reativo Dragendorff	Negativo
3- Reativo de Bouchardat	Negativo
4- Reativo de Bertrand	Negativo
5- Reativo de Hager	Negativo
6- Ácido Tânico	Negativo
<i>Reação de Caracterização para Heterosídeos Cardioativos</i>	RESULTADO
1- Reação de Liebermann-Burchard	Positiva
2- Reação de Pesez	Positiva
3- Reação de Keller-Kiliani	Positiva
4- Reativo de Kedde	Negativo
<i>Reação de Caracterização para Saponinas</i>	RESULTADO
1- Formação de espuma com altura de 1,0 cm	Negativa

As figuras 13 e 14 demonstram os resultados para algumas das reações de caracterização de flavonoides.



Figura 13 – Resultado das reações para caracterização de flavonoides: coloração verde enegrecida na reação com cloreto férrico (tubo da esquerda) e coloração marrom escura na reação da cianidina ou shinoda (tubo da direita).

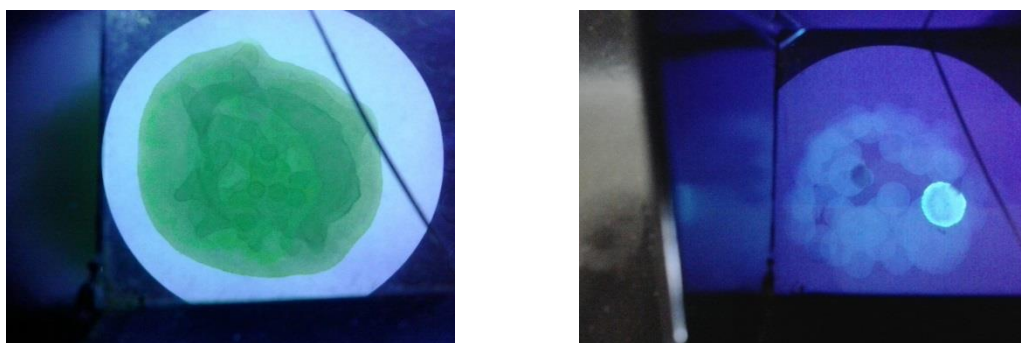


Figura 14 – Resultado das reações para caracterização de flavonoides: fluorescência observada na reação com cloreto de alumínio sob luz U.V. (figura da direita).

O resultado negativo na reação de Bornträger Indireta e desenvolvimento de forte fluorescência azulada (figura 15), sob luz ultravioleta na fração etérea do extrato de *J. pectoralis* com NaOH 1 mol L⁻¹ indicam, respectivamente, ausência de antraquinonas e presença de cumarinas na planta.



Figura 15 – Fluorescência observada sobre o papel de filtro na fase etérea da solução extrativa em que adicionou-se a gota de NaOH 1 N.

A não ocorrência de precipitação ou mesmo turvação no extrato aquoso de *J. pectoralis* nas reações com gelatina, sais de alcaloides (sulfato de quinino e solução de brucina) e reação com sais metálicos (acetato de cobre e cloreto férrico), para caracterização de taninos, indicam a ausência deste metabólito secundário na planta.

As figuras 16, 17, 18 e 19 demonstram os resultados para pesquisa de taninos.

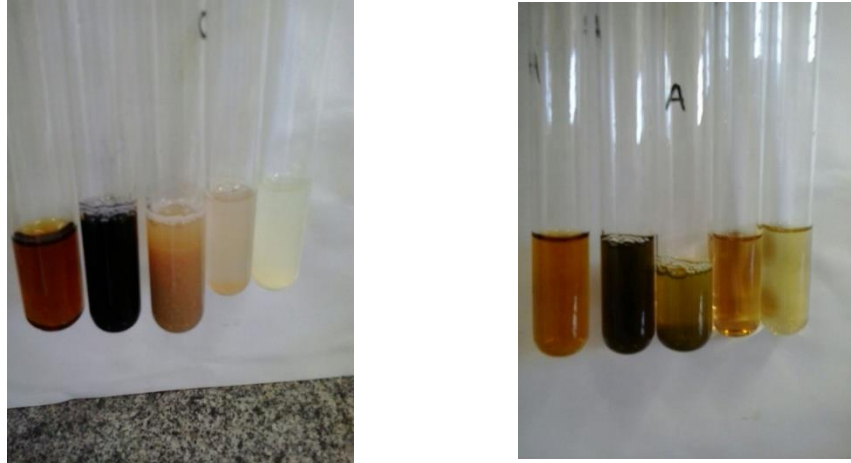


Figura 16 – Reações de caracterização de Taninos: controle positivo (à esquerda) e resultados para a amostra (a direita). Os reagentes utilizados em cada bateria, tanto para controle positivo como para amostra, da direita para esquerda foram: sulfato de quinino 1% (v/v); solução de brucina 1% (p/v); acetato de cobre 4% (p/v); cloreto férrico 2% (p/v); hidróxido de sódio 20% (p/v).

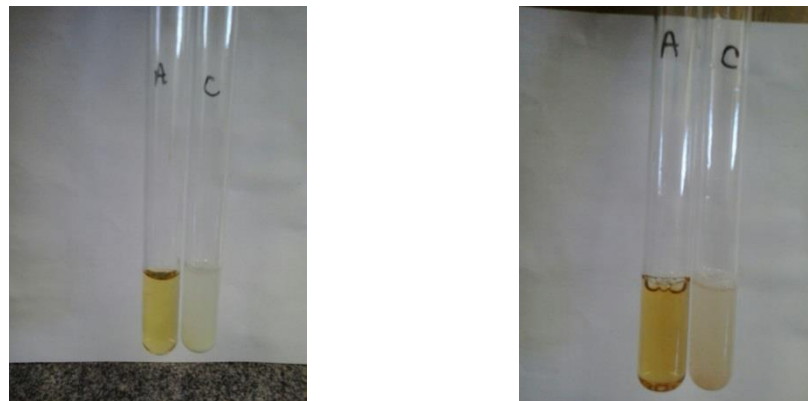


Figura 17 – Reações de caracterização de Taninos com alcaloides: sulfato de quinino 1% (v/v) – (à esquerda); solução de brucina 1% (p/v) (à direita).
Legenda: A – amostra; C – controle positivo.

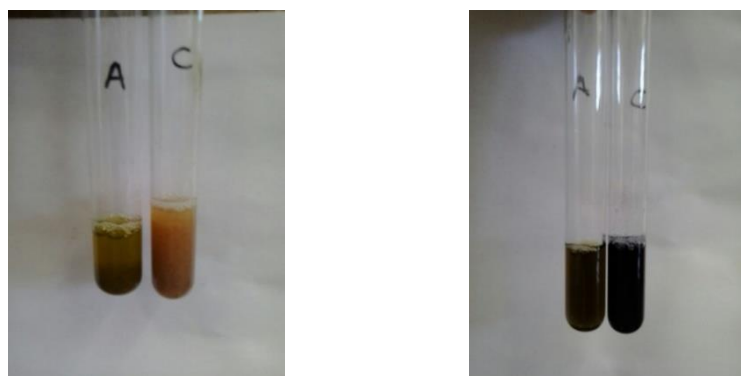


Figura 18 – Reações de caracterização de Taninos com sais metálicos: acetato de cobre 4% (p/v) – (à esquerda); cloreto férrico 2% (p/v) – (à direita).
 Legenda: A – amostra; C – controle positivo.

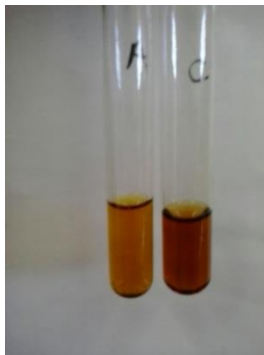


Figura 19 – Reação de caracterização de Taninos com Hidróxido de sódio 20% (p/v).
 Legenda: A – amostra; C – controle positivo.

A não ocorrência de precipitação no extrato ácido de *J. pectoralis*, com os reativos gerais para caracterização de alcaloides, indicam a ausência deste metabólito secundário na planta.

As figuras 20 e 21 demonstram, respectivamente, os resultados para pesquisa de alcaloides da bateria de tubos controle (padrão positivo) e tubos teste (com a fração ácida do extrato de *J. pectoralis*).



Figura 20 – Reações de caracterização de Alcaloides: controle positivo. Uso dos reativos gerais de Alcaloides, da esquerda para a direita: Reativo de Mayer (precipitado branco), Reativo de Dragendorff (precipitado vermelho tijolo), Reativo de Bouchardat (precipitado marrom-avermelhado), Reativo de Bertrand (precipitado branco), Reativo de Hager (precipitado amarelo) e Ácido tânico (precipitado bege).

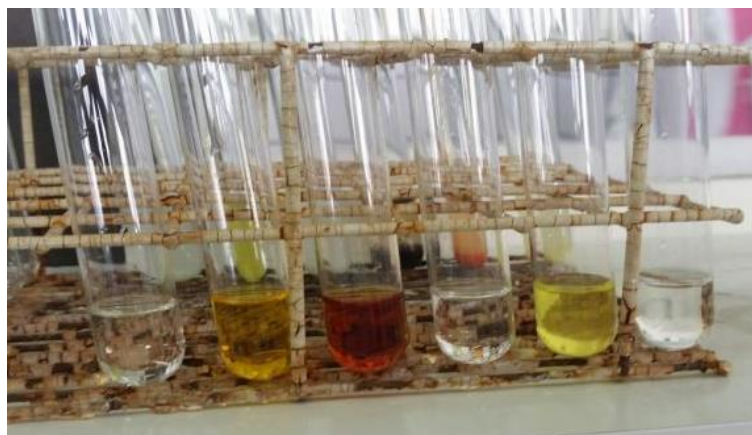


Figura 21 – Reações de caracterização de Alcaloides: tubos teste, com a fração ácida do extrato de *J. pectoralis*., da esquerda para a direita, Reativo de Mayer, Reativo de Dragendorff, Reativo de Bouchardat, Reativo de Bertrand, Reativo de Hager e Ácido tânico. Nos tubos teste não houve formação de precipitado.

O desenvolvimento de coloração acastanhada na fração clorofórmica do extrato de *J. pectoralis* na reação de Liebermann-Burchard (figura 22) e a presença de fluorescência esverdeada na reação de Pesez (figura 23), demonstram a presença de compostos com núcleo esteroide na planta, assim como o desenvolvimento de um anel de coloração castanho-avermelhada na reação de Keller-Kiliani, na zona de contato entre a fração clorofórmica do extrato da espécie em estudo e a camada acética (figura 22), indicam a presença de desoxi-açúcares na planta. Entretanto, o não desenvolvimento de coloração laranja na reação de Kedde (figura 22), para a fração clorofórmica de *J. pectoralis*, evidencia a não ocorrência de heterosídeos cardioativos na espécie.



Figura 22 – Reações de caracterização de heterosídeos cardioativos: tubos teste, com a fração clorofórmica do extrato de *J. pectoralis*., da esquerda para a direita, Reação de Liebermann-Burchard, Reação de Keller-Kiliani, Reativo de Kedde.

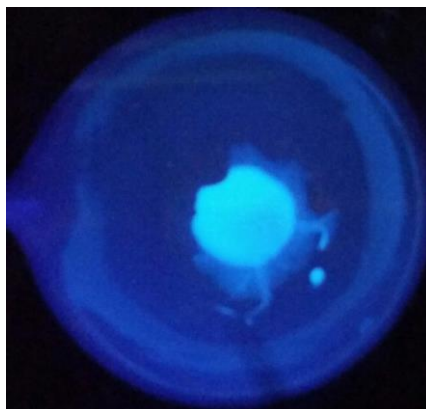


Figura 23 – Reações de caracterização de heterosídeos cardioativos: Reação de Pesez da fração clorofórmica do extrato de *J. pectoralis*.

Para o decocto extraído das partes aéreas de *J. pectoralis*, na pesquisa de saponinas, a altura da espuma foi de 0,5 cm (Figura 24), portanto, inferior a 1,0 cm o que indica índice de espuma menor que 100, ou seja, negativo para a presença deste grupo de metabólitos secundários. Após a adição de 2 gotas de ácido clorídrico diluído, a espuma presente na amostra se desfez rapidamente, confirmando não ser resultante da presença de saponinas.



Figura 24 – Formação de espuma observada na reação de caracterização de saponinas no decocto das partes aéreas de *J. pectoralis*.

4. Discussão:

Na prospecção fitoquímica realizada com as partes aéreas de *J. pectoralis* Jacq. pôde-se constatar a presença dos seguintes metabólitos secundários: flavonoides, compostos fenólicos, presença de núcleo esteroide e desoxiaçúcares, além da presença de cumarinas. Segundo trabalho realizado por Lima (2017) e Oliveira et al. (2000), houve resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, sugerindo que as propriedades farmacológicas atribuídas à planta devem ser induzidas por diferentes princípios ativos, possivelmente as cumarinas.

A presença destas cumarinas são importantes. Excetuando-se a 1,2-benzopirona, todas as cumarinas são substituídas por um grupo hidroxila na posição 7. A 7-hidróxi-cumarina, também conhecida como umbeliferona (figura 25), é a precursora das cumarinas di e tri hidroxiladas. A pesquisa sobre a atividade das cumarinas foi, em alguns casos, o ponto de partida para a descoberta de novos medicamentos. O dicumarol, por exemplo, ainda hoje utilizado como raticida devido sua atividade sobre a inibição da coagulação do sangue, foi descoberto durante a investigação sobre uma doença hemorrágica no gado alimentado com melioto [*Melilotus officinalis* (L.) Pallas] (trevo-de-cheiro-amarelo) fermentado. Esta atividade guiou a pesquisa que desenvolveu a varfarina, um anticoagulante oral (CAMPOS; CUNHA, 2005; VENÂNCIO, 2009; LEAL; SILVA; FONSECA, 2010).

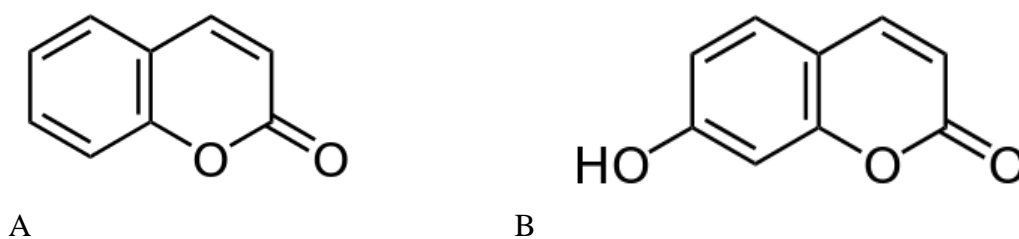


Figura 25 – Estrutura das cumarinas presentes em *J. pectoralis*. A – 1,2-benzopirona; B – umbeliferona.

Outros estudos sobre ensaios fitoquímicos realizados com o extrato metanólico de *J. pectoralis*, por meio de testes gerais de identificação e cromatografia em camada delgada (CCD), mostraram-se positivos com relação à presença de cumarinas, flavonoides, esteroides e triterpenoides, e negativos para alcaloides (CORRÊA, 2013). Estudos cromatográficos e métodos espectrofotométricos realizados com *J. pectoralis* var. *stenophylla* Leonard isolaram e caracterizaram derivados cumarínicos [1,2-benzopirona (cumarina), 7-hidroxi-cumarina (umbeliferona)] – figura 25, assim como derivados do ácido fenilpropionico (CORRÊA,

2013; FONSECA, 2009). Essas duas cumarinas são amplamente referidas na literatura, e são citadas como dois dos possíveis constituintes bioativos desta espécie (MOURA, 2016), sendo sugeridas como as principais responsáveis pela bioatividade da *J. pectoralis* (DE VRIES; TAUCHER; JOSHI, 1988; LINO et al., 1997; MACRAE; TOWERS, 1984; MILLS; PASCOE; CHAMBERS, 1986).

A concentração de cumarinas nas partes aéreas da planta é proporcional à intensidade de radiação solar incidente durante seu cultivo, e folhas vermelho-vináceas possuem maior teor de cumarinas totais comparadas às verdes. No entanto, uma maior incidência de radiação solar durante o primeiro mês de desenvolvimento da planta afeta de forma negativa seu crescimento, ocasionando menor rendimento da biomassa. Portanto, para fins farmacêuticos, é indicado o cultivo das mudas de *J. pectoralis* sob a sombra até o final do primeiro mês e então transferência para área de radiação total até a coleta (BARROS; ANDRADE; SILVA, 1997).

As cumarinas atualmente são estudadas para suas atividades antibacteriana (FERREIRA et al., 2015), antiviral (NEYTS et al., 2009), antifúngica (KHAN et al., 2004), antiparasitária (MISRA et al., 2015), anticâncer (SASHIDHARA et al., 2010a), anti-inflamatória (KONTOGIORGIS; HADJIPAVLOU-LITINA, 2015), antidislipidêmica (SASHIDHARA et al., 2010b), anticolinesterásica (KURT et al., 2015) e vasodilatadora (BERTIN et al., 2014). Algumas exercem também efeito central, como as diidropiranicumarinas, que exercem efeito neuroprotetor e furanocumarinas que mostram possuir efeito antidepressivo (VENÂNCIO, 2009).

Os resultados da prospecção fitoquímica também demonstraram a presença de heterosídeos flavonoides nas partes aéreas de *J. pectoralis* Jacq. Os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais relevantes e diversificados entre os produtos de origem natural. São responsáveis pelo aroma dos alimentos e pela coloração das flores, atuando também na defesa química das plantas contra fungos e bactérias. Estão presentes em todas as plantas vasculares, distribuídos principalmente nas partes aéreas dos vegetais, como flores e folhas (HARBORNE, 1984). Nas folhas, são considerados os principais pigmentos que absorvem luz U.V. além de serem os mais comuns (PIETTA et al., 1989).

As atividades medicinais dos heterosídeos flavonoides são muito variadas, entretanto, alguns resultados apontam para o tratamento de doenças circulatórias, hipertensão, agindo como co-fator de vitamina C. Além disso, esses compostos possuem também importância farmacológica, com propriedades atribuídas a alguns representantes da classe dos flavonoides, como: antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante, antiviral, atividade hormonal

e anti-hemorrágicas (ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017). Ainda com relação à presença destes metabólitos nos resultados apresentados na amostra analisada, estes foram similares ao encontrado em outras pesquisas para *J. pectoralis* Jacq. e *J. gendarussa*, o que explicaria seu uso na medicina popular para o tratamento de doenças do aparelho respiratório, pois são capazes de quebrar íons de ferro e evitar peroxidação lipídica (OLIVEIRA et al., 2000; ANDRIAMIHAJA et al., 2001). Estudos de análise fitoquímica das folhas de *J. pectoralis* conduzidos por Araújo, Faria e Safadi (2014) e Vargem (2015) e triagem fitoquímica com as partes aéreas, realizada por Lima (2017), também evidenciaram a presença de heterosídeos flavonoides para a espécie.

Os resultados da prospecção fitoquímica não evidenciaram a presença de antraquinonas nas partes aéreas de *J. pectoralis* Jacq. assim como na análise fitoquímica de Araújo, Faria e Safadi (2014) com as folhas da mesma espécie. Entretanto, estudo da constituição química para o mesmo órgão, desenvolvido por Vargem (2015), e o trabalho de Lima (2017) com as partes aéreas da planta, evidenciaram a presença deste grupo de metabólitos secundários. Segundo Simões et al. (2017), 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. Em diversos gêneros da família Acanthaceae, como em *Anisacanthus*, *Mendoncia* e *Ruelia* encontram-se quinonas, sendo essa ocorrência considerada uma característica quimiotaxonômica (KANCHANAPOOM et al., 2002).

Os resultados da prospecção fitoquímica deste estudo coincidem com os trabalhos de Araújo, Faria e Safadi (2014), Lima (2017) e Vargem (2015) quanto a ausência de taninos nas folhas e partes aéreas de *J. pectoralis* Jacq. Plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional no tratamento de diversas moléstias, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais (azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica), problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (DUFRESNE; FARNWORTH, 2001).

Testes *in vitro* realizados com extratos ricos em taninos ou com taninos puros têm identificado diversas atividades biológicas dessa classe de substâncias. Dentre essas, podemos citar: ação bactericida e fungicida, antiviral, inibição de enzimas como glicosiltransferases de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*, inibição da peroxidação de lipídeos e sequestrador de radicais livres e ação antitumoral (MELLO; SANTOS, 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 (DUFRESNE; FARNWORTH, 2001).

A presença de alcaloides nas partes aéreas de *J. pectoralis* Jacq. não foi observada nos resultados da triagem fitoquímica assim como no estudo de Lima (2017), Oliveira et al. (2000) e Vargem (2015). Duke (1987) menciona a presença de alcaloides (triptaminas) em baixas concentrações em *J. pectoralis*, assim como verificado na análise fitoquímica de Araújo, Faria e Safadi (2014) com as folhas da referida espécie medicinal, o que possivelmente justificaria o potencial alucinógeno da espécie e o seu emprego em “rapés” por tribos indígenas da América do Sul. Contudo, outros autores (MACRAE; TOWERS, 1984; MELO; ANDRADE, 1989) afirmam a ausência de alcaloides, como evidenciado neste estudo, sendo o uso de chambá, nessas preparações ritualísticas, apenas como aromatizante devido ao odor agradável das cumarinas.

As atividades biológicas apresentadas por alcaloides são: amebicida e emético, anticolinérgicos, anti-hipertensivos, antimalárico, antitumorais, antitussígenos, hipnoanalgésico, depressor cardíaco, estimulante do Sistema Nervoso Central (SNC), diurético, tratamento da gota, miorelaxante, simpatomimético, antiviral, tratamento do mal de Alzheimer entre outros (KLEIN-JÚNIOR; HENRIQUES, 2017).

Através da prospecção fitoquímica da amostra em questão de *J. pectoralis*, verificou-se ainda a presença de núcleo esteroide e desoxi-açúcares, entretanto, ausência de heterosídeos cardioativos e de saponinas em conformidade com os trabalhos de Lima (2017) e Oliveira et al. (2000). Estudos fitoquímicos realizados por Vargem (2015), com a *J. pectoralis*, demonstraram a presença de traços de heterosídeos cardioativos e também presença de saponinas e, trabalhos com variedades de *Justicia pectoralis* Jacq., coletadas no Peru e em Cuba, também verificaram a presença de saponinas em seus extratos (CHANFRAU; RODRÍGUEZ, 2014), assim como na análise fitoquímica de Araújo, Faria e Safadi (2014), indicando a necessidade da continuação dos estudos referentes a presença deste metabólito na espécie.

As saponinas consistem em metabólitos de elevada massa molecular (600 a 2000), ocorrendo em misturas complexas devido à presença simultânea de estruturas com variações de açúcares ou devido à presença de diversas agliconas. São de interesse farmacêutico para a

síntese de esteroides e como componentes essenciais para a ação de muitas drogas vegetais. As plantas que contêm saponinas são utilizadas por sua ação mucolítica, diurética e depurativa. Entretanto, ainda não estão comprovados os mecanismos dessas atividades. Lembrando que, as saponinas favorecem a ação dos demais princípios ativos da planta e em excesso podem ser irritantes da mucosa intestinal (ATHAYDE et al., 2017).

Outros empregos farmacêuticos das saponinas são como auxiliares para favorecer o aumento da absorção de outros medicamentos através do aumento da solubilidade ou interferência nos mecanismos de absorção e, como promovedor do aumento da resposta imunológica. A atividade hemolítica das saponinas, que faz parte do sistema de proteção do vegetal contra ataques de predadores (insetos, vírus, fungos e bactérias), está ligada a muitas das atividades antibacteriana, antifúngica e espermicida apresentada por uma variedade de plantas (ARAÚJO; FARIA; SAFADI, 2014).

5. Considerações finais:

Estudos fitoquímicos são importantes para obtenção de matéria-prima farmacêutica e na descoberta de substâncias ativas de plantas como protótipos de fármacos para a obtenção e desenvolvimento de fitoterápicos. Desta forma, a identificação de compostos provenientes do metabolismo secundário de plantas medicinais, através de estudos de prospecção fitoquímica, constituem testes de grande importância na análise de drogas vegetais de interesse medicinal e são parâmetros de controle de qualidade.

Considerando o bioma Cerrado e especialmente suas Acanthaceae, é de responsabilidade dos pesquisadores ligados à farmacognosia contribuir com o conhecimento do potencial terapêutico, bem como de possíveis riscos oriundos da utilização para fins medicinais, já que a literatura apresenta escassez de estudos farmacognósticos direcionados a esta família botânica.

Baseando-se nos constituintes químicos encontrados na amostra das partes aéreas 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 flavonoides, taninos, esteroides, bem como cumarinas, a presente pesquisa está em conformidade com os estudos já realizados para a espécie, indicando-os como potenciais marcadores quimiotaxonômicos. Entretanto, os resultados desta pesquisa para heterosídeos antraquinônicos e cardioativos, alcaloides e saponinas, 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.

Assim, sugere-se a realização de procedimentos fitoquímicos mais específicos para que os compostos de interesse sejam elucidados, bem como análises de cunho farmacológico que muito contribuirão para a validação da utilização destes na terapêutica.

Referências Bibliográficas:

ABIFISA. Associação Brasileira das Empresas do Setor de Fitoterápicos, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde. **Fitoterápicos: uma tendência natural**. Disponível em: <http://www.abifisa.org.br/noticia_ver.asp?news=50>. Acesso em: 07 set. 2016.

AGYARE, C.; BEMPAH, S. B.; BOAKYE, Y. D.; AYANDE, P. G.; ADARKWA-YIADOM, M.; MENSAH, K. B. Evaluation of Antimicrobial and Wound Healing Potential of *Justicia flava* and *Lannea welwitschii*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 10 p., 2013. Article ID 632927. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/632927>. Acesso em: 21 dez. 2016.

ANDRIAMIHAJA, B.; MARTIN, M. T.; RASOANAIVO, P.; FRAPPIER, F. J. A New Diterpene from *Hypoestes serpens*. **J. Nat. Prod.** v. 64, n. 2, p. 217-218, 2001.

ARAÚJO, L. L. N.; FARIA, M. J. M.; SAFADI, G. M. V. V. Prospecção fitoquímica da espécie *Justicia pectoralis* Jacq. var. *Stenophylla* Leonard pertencente à família Acanthaceae. **Revista Eletrônica de Ciências Humanas, Saúde e Tecnologia**, v. 6, n. 2, p. 1-11, 2014.

ATASANOV, A. G.; WALTENBERGER, B.; PFERSCHY-WENZIG, E-M; LINDER, T.; WAWROSCHE, C.; UHRIN, P.; TEMML, V.; WANG, L.; SCHWAIGER, S.; HEISS, E. H.; ROLLINGER, J. M.; SCHUSTER, D.; BREUSS, J. M.; BOCHKOV, V.; MIHOVILOVIC, M. D.; KOPP, B.; BAUER, R.; DIRSCH, V. M.; STUPPNER, H. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review, **Biotechnology Advances** (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>.

ATHAIDE, M. L.; TAKETA; A. T. C.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 285-304.

BADKE, M. R.; SOMAVILLA, C. A.; HEISLER, E. V.; ANDRADE, A. de; BUDÓ, M. L. D.; GARLET, T. M. B. Saber popular: uso de plantas medicinais como forma terapêutica no cuidado à saúde. **Rev Enferm UFSM**, v. 6, n. 2, p. 225-234, 2016.

BARROS, R. F. M.; ANDRADE, L. H. C.; SILVA, N. H. Concentração de cumarinas em folhas de *Justicia pectoralis* var. *stenophylla* Leonard com diferentes colorações. **Phyton**, v. 60, n.1/2, p. 141-145, 1997.

BERTIN, R.; CHEN, Z.; MARTINEZ-VÁZQUEZ, M.; GARCIA-ARGAÉZ, A.; FROLDI, G. Vasodilation and radical-scavenging activity of imperatorin and selected coumarinic and flavonoid compounds from genus *Casimiroa*. **Phytomedicine**, v. 21, n. 5, p. 586-594, 2014.

BESSA, N. G. F. de; BORGES, J. C. M.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M. A. B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S. L.; RIBEIRO, L. U.; QUIRINO, M. S.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.15, n. 4, supl. I, p. 692-707, 2013.

BRASIL. **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. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, 5.ed., v.1, p. 192. Brasília, DF: ANVISA, 2010.

BRUM, T. F.; ZADRA, M.; FROEDER, A. L. F.; BOLIGON; A. A.; FROHLICH, J. K.; ATHAYDE, M. L. Análise fitoquímica preliminar das folhas de *Vitex megapotamica* (Sprengel) Moldenke. **Saúde (Santa Maria). Ahead of print**, v. 37, n. 2, p. 57-62, 2011.

CABRAL, A. G. S., TENÓRIO-SOUZA, F. H., MOURA, M. D., MOTA, S. G. R., LINS, A. C. S., DIAS, C. S., BARBOSA-FILHO J. M. B, GIULIETTI, A. M., SILVA, T. M. S.; SANTOS, C. F. Phaephytins from *Thyrsacanthus ramosissimus* Moric. with inhibitory activity in human DNA topoisomerase II α . **Química Nova**, v. 35, p. 2222-2225, 2012.

CAMPOS, M. G.; CUNHA, A. P. **Farmacognosia e Fitoquímica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2005.

CHANFRAU. R. J. E.; RODRÍGUEZ C. Harvest time influences on coumarin and umbelliferone contents in extracts of *Justicia pectoralis* Jacq. (Tilo). **Revista Cubana de Farmácia**. v. 48, n. 2, p. 477-485; 2014.

CORDELL, G. A. Biodiversidade and drug discovery – a symbiotic relationship. **Phytochemistry**, v. 55, p. 463-480, 2000.

CORRÊA, G. M. **Estudo fitoquímico de *Justicia acuminatissima* (Acanthaceae): caracterização química, avaliação biológica, contaminação fúngica e detecção de produtos radiolíticos**. 2013. 160 f. Tese (Doutorado em Ciências-Química), Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

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

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

DE VRIES, J. X.; TAUCHER, B.; JOSHI, B. S. Constituents of *Justicia pectoralis* Jacq. gas chromatography/mass spectrometry of simple coumarins, 3-phenylpropionic acid and their hydroxyl and methoxy derivatives. **Biomed Environ Mass Spectrom**, v. 15, p. 413-417, 1988.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **The plant cell**, v. 7, p. 1085-1097, 1995.

DUFRESNE, C. J.; FARNWORTH, E. R. A review of latest research findings on health promotion properties of tea. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 12, n. 7, p. 404-421, 2001.

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

FERREIRA, S. Z.; CARNEIRO, H. C.; LARA, H. A.; ALVES, R. B.; RESENDE, J. M. Synthesis of a new peptide-coumarin conjugate: a potential agent against *Cryptococcus*. **ACS Med Chem Lett**, v. 6, p. 271-275, 2015.

FONSECA, F. N. **Desenvolvimento tecnológico de fitoproduto a partir de *Justicia pectoralis* – cambá: obtenção do extrato seco padronizado (CLAE-DAD) e avaliação farmacológica**. 2009. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

HARBORNE, J. B. **The plant and its biochemical adaptation to the environment, introduction to ecological biochemistry**. London Academic Press, p. 1-27, 1984.

KANCHANAPOOM, T.; TAKANOSU, M.; KASAI, R.; YAMAKAKI, K. Chemical constituents of *Beaumontia grandiflora*. **Natural Medicines**, v. 56, n. 19, 2002.

KHAN, K. M.; SAIFY, Z. S.; KHAN, M. Z.; ZIA-ULLAH; CHOUDHARY, M. I.; ATTA-UR-RAHMAN; PERVEEN, S.; CHOHAN, Z. H.; SUPURAN, C. T. Synthesis of coumarin derivatives with cytotoxic, antibacterial and antifungal activity. **J Enzyme Inhib Med Chem**, v. 19, n. 4, p. 372-379, 2004.

KLEIN-JÚNIOR, L. C.; HENRIQUES, A. T. Alcaloides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 305-316.

KONTOGIORGIS, C. A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D. J. Synthesis and anti-inflammatory activity of coumarin derivatives. **J Med Chem**, v. 48, n. 20, p. 6400-6408, 2005.

KURT, B. Z.; GAZIOGLU, I.; SONMEZ, F.; KUCUKISLAMOGLU, M. Synthesis, antioxidant and anticholinesterase activities of novel coumarylthiazole derivatives. **Bioorg Chem**, v. 59, p.80-90, 2015.

LEAL, L. K. A. M.; SILVA, A. H.; FONSECA, F. N. *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.

LIMA, A. R. S. **Desenvolvimento tecnológico de extratos padronizados em cumarinas das partes aéreas de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE)**, 2017. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Curso de Pós-graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde (CAPS), Universidade Estadual de Goiás, Unidade de Ciências Exatas e Tecnológicas, Anápolis, GO, 2017.

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

MACRAE, W. D.; TOWERS, G. H. N. *Justicia pectoralis*: a study of the basis for its use as hallucinogenic snuff ingredient. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 12, n. 1, p. 93-111, 1984.

MANN, J. **Secondary metabolism**. 2.ed. New York: Oxford University, 1987. 374 p.

MARTÍN-VIAÑA, N. P.; CHANFRAU, J. R.; HERNÁNDEZ, O. D. L.; SANABIA, M. L. G.; APAN, J. M. G.; MORENO, V. M. F.; MENDOZAI, A. N. Technological development of a sedative medicine of natural origin from *Justicia pectoralis* Jacq. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.16, p. 227-235; 2011.

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

MATOS, J. M. D.; MATOS, M. E. **Farmacognosia**. Fortaleza: Editora da UFC, 1989.

MELO, R. F.; ANDRADE, L. H. C. Contribuição ao estudo farmacognóstico do chambá – *Justicia pectoralis* Jacq. (Acanthaceae). **Biologica Brasilica**, v. 1, n. 2, p. 195-207, 1989.

MELLO, J. C. P.; SANTOS, S. da C. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 235-248.

MILLS, J.; PASCOE, K. O.; CHAMBERS, J. Preliminary investigations of the wound-healing properties of a Jamaica folk medicinal plant (*Justicia pectoralis*). **West Indian Medical Journal**. Kingston, v. 35, p. 190-193, 1986.

MISRA, S.; SINGH, L. K.; PRIYANKA; GUPTA, J.; MISRA-BHATTACHARYA, S.; KATIYAR, D. Synthesis and biological evaluation of 4-oxycoumarin derivatives as a new class of antifilarial agents. **Eur J Med Chem**, v. 94, p. 211-217, 2015.

MOURA, C. T. M. **Envolvimento de vias capacitativas de cálcio nos efeitos inibitórios do extrato padronizado de *Justicia pectoralis* na hiperreatividade traqueal induzida por desafio antigênico**. 2016. 169 f. Tese (Doutorado em Farmacologia), Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

MURRAY, R. D. H.; MÉNDEZ, J.; BROWN, S. A. **The natural coumarins: occurrence, chemistry and biochemistry**. Chinchester: John Wiley & Sons, 1982.

NEYTS, J.; CLEUCQ, E.; SINGHA, R.; CHANG, Y. H.; DAS, A. R.; CHAKRABORTY, S. K.; HONG, S. C.; TSAY, S. C.; HSU, M. H.; HWU, J. R. Structure-activity relationship of new anti-hepatitis C virus agents: heterobicyclic-coumarin conjugates. **J Med Chem**, v. 52, p. 1486-1490, 2009.

OLIVEIRA, A. F. M.; XAVIER, H. S.; SILVA, H. N.; ANDRADE, L. H. C. Screening cromatográfico de Acanthaceae medicinais: *Justicia pectoralis* e *J. gendarussa* Burm. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 3, n. 1, p. 37-41, 2000.

OLIVEIRA, C.; FERREIRA, J. A. F.; TOMA, M. A. Análise fitoquímica preliminar do extrato etanólico obtido a partir do rizoma da *Typha domingensis* Pers. **Revista Cecília Dez.** v. 2, n. 2, p. 17-19, 2010.

PIETTA, P. G.; MAURI, P. L.; MANERA, E.; CEVA, P. L.; RAVA, A. An improved HPLC determination of flavonoids in medicinal plant extracts. **Chromatography**, v. 27, p. 509-512, 1989.

REGINATTO, F. H. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 69-82.

SASHIDHARA, K. V.; KUMAR, A.; KUMAR, M.; SARKAR, J.; SINHA, S. Synthesis and in vitro evaluation of novel coumarin-chalcone hybrids as potential anticancer agents. **Bioorg Med Chem Lett**, v. 20, n. 24, p. 7205-7211, 2010a.

SASHIDHARA, K. V.; KUMAR, A.; KUMAR, M.; SRIVASTAVA, A.; PURI, A. Synthesis and antihyperlipidemic activity of novel coumarinbisindole derivatives. **Bioorg Med Chem Lett**, v. 20, p. 6504-6507, 2010b.

SCANNELL, J. W.; BLANCKLEY, A.; BOLDON, H.; WARRINGTON, B. Diagnosing the decline in pharmaceutical R&D efficiency. **Nat. Rev. Drug Discov**, v. 11, p. 191-200, 2012.

SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem fitoquímica de plantas de Cerrado, da área de proteção ambiental municipal de Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n. 2, p. 1-17, 2010.

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

VARGEM, D. S. **Morfoanatomia, prospecção fitoquímica e caracterização do óleo essencial das folhas de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE) ocorrente em Brasília, DF**, 2015. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais), Curso de Pós-graduação em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente da Faculdade UniEVANGÉLICA, Anápolis, GO, 2015.

VENÂNCIO, E. T. **Estudo dos efeitos comportamentais e neuroquímicos do extrato padronizado de *Justicia pectoralis* (chambá) em camundongos**. 2009. 132 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A.; ZUCOLOTTO, S. M. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 209-234.

Capítulo 3 – Composição química do óleo essencial obtido das partes aéreas de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE) – ocorrente no Cerrado Goiano.

RESUMO: Estudos sobre óleos essenciais são importantes para o conhecimento da biodiversidade odorífera brasileira e contribuem para o bem estar e a saúde da população. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi realizar a análise quali-quantitativa, por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM), do óleo essencial das partes aéreas de *Justicia pectoralis* do cerrado goiano e investigar a variabilidade na composição química desta espécie medicinal em relação a outros trabalhos descritos na literatura. O rendimento do óleo para os espécimes investigados variou de 0,03 % a 0,19 %. A (CG/EM) permitiu detectar 22 componentes comuns, sendo que cinco destes não foram identificados e quatro deles (beta-bourboneno, E-cariofileno, isopulegol e iso-isopulegol) configuraram entre os majoritários. A elucidação dos compostos identificados está em conformidade com outros estudos envolvendo a mesma espécie e com a composição química dos óleos de outras espécies de *Justicia*. Entretanto, trabalho de Borges (2012) verificou variação nos constituintes do óleo essencial de *J. pectoralis*, inclusive os majoritários, discordante com o presente estudo. Estes achados indicam a necessidade da realização de novos estudos que investiguem a composição do óleo essencial desta planta, sob condições controladas, para verificar, inclusive, a possibilidade da ocorrência de quimiotipos na espécie.

Palavras-chave: Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de Massas. Óleo essencial. *Justicia pectoralis* Jacq.

ABSTRACT: Studies on essential oils are important for the knowledge of Brazilian odoriferous biodiversity and contribute to the well being and health of the population. In this context, the objective of the work was to carry out the qualitative and quantitative analysis of the essential oil of the aerial parts of *Justicia pectoralis* of the cerrado of Goiás by means of Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (CG / MS) and to investigate the variability in the chemical composition of this species medicinal products in relation to other works described in the literature. The oil yield for the investigated specimens ranged from 0.03% to 0.19%. A (CG / EM) allowed to detect 22 common components, five of which were not identified and four of them (beta-bourbonene, E-caryophyllene, isopulegol and iso-isopulegol) were among the most common. The elucidation of the identified compounds is in agreement with other studies involving the same species and with the chemical composition of the oils of other species of *Justicia*. However, work by Borges (2012) verified variation in the essential oil constituents of *J. pectoralis*, including the majority, discordant with the present study. These findings indicate the need to carry out

new studies investigating the composition of the essential oil of this plant, under controlled conditions, to verify, even, the possibility of the occurrence of chemotypes in the species.

Keywords: Gas chromatography coupled to mass spectrometry. Essential oil. *Justicia pectoralis* Jacq.

1. Introdução:

Produtos naturais têm sido uma fonte de inspiração para a maioria dos ingredientes ativos utilizados na descoberta de novos fármacos e no desenvolvimento de medicamentos ao longo da história. A natureza ainda hoje é um importante reservatório de novas substâncias com potencial interesse terapêutico (ATASANOV et al., 2015; QUEIROZ et al., 2014). A análise feita por Newman e Cragg (2016), relaciona o registro de novos medicamentos junto ao *Food and Drug Administration* (FDA) entre os anos de 1981 e 2014 e demonstrou que 65% dos registros neste período, foram de produtos naturais ou derivados deles.

No contexto dos produtos naturais e provenientes do metabolismo secundário das plantas, os óleos essenciais constituem um grupo variável e complexo, com necessidade de se compreender e conhecer os mecanismos que regulam a sua produção e sua expressão na natureza. São substâncias integrantes das engrenagens que constituem os ecossistemas, e estudos sobre esses óleos poderão aprofundar o conhecimento da biodiversidade odorífera brasileira e contribuir para o bem estar e a saúde da população (YOKOMIZO; NAKAOKA-SAKITA, 2014).

A produção de óleos essenciais no Brasil é destacada por Bizzo, Hovell e Rezende et al. (2009), que, ao lado da Índia, China e Indonésia são considerados os quatro grandes produtores mundiais. No período de 2005 a 2008, a exportação de óleos essenciais cítricos pelo Brasil foi de 287.799 toneladas. O Brasil se posiciona como o 3º maior exportador de óleos essenciais do mundo, com aproximadamente US\$ 147 milhões, perdendo apenas para os EUA e França, tendo ultrapassado o Reino Unido em 2007 (SOUZA et al., 2010).

As substâncias voláteis produzidas pelo metabolismo secundário, os fenilpropanoides e, especialmente, os terpenoides (do tipo mono e sesquiterpenos) são os principais constituintes dos óleos essenciais (YOKOMIZO; NAKAOKA-SAKITA, 2014).

São, portanto, misturas complexas, naturais, voláteis, caracterizados por intenso e agradável aroma, de constituição, na sua maioria, lipofílica, e que se apresentam à temperatura ambiente como líquidos oleosos, o que os diferenciam dos óleos fixos. De uma maneira geral, os óleos essenciais são instáveis, especialmente na presença de luz, calor, umidade, ar, substâncias oxidantes ou redutoras e metais. São, na maioria das vezes, caracterizados por dois ou três componentes majoritários (20 a 70%), podendo conter em sua constituição cerca de 20 a 60 componentes em concentrações muito diferentes (SIMÕES et al. 2017; BAKKALI et al., 2008).

De acordo com Russo et al. (2012), a produção de óleos essenciais pode ser influenciada por fatores intrínsecos, como espécie, cultivar, clone, habitat; por diversos fatores ambientais e ecológicos, tais como índice pluviométrico, temperatura, ritmo circadiano, sazonalidade, tipo de solo, altitude e ciclo vegetativo da planta, origem geográfica, condições climáticas, solo e biotipo; e isso ocorre por essas substâncias representarem uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante. Além disso, fatores tecnológicos, como técnicas de cultivo, tipos de processos de coleta, condições de armazenamento de matérias-primas e tecnologias de processamento, como secagem, época de colheita e tipo de adubação, também contribuem para variação da produção e na composição química dos óleos essenciais. Assim, plantas silvestres da mesma espécie, mas de diferentes origens, podem expressar diferentes compostos na constituição química de seus óleos essenciais (BANDONI; CZEPAK, 2008; GOMES, 2014).

Estes compostos são normalmente sintetizados nas folhas em tricomas glandulares e armazenados em espaços extracelulares, entre a cutícula e a parede celular. Entretanto, podem estar presentes nas mais diversas partes das plantas, como nas flores, folhas, cascas, troncos, galhos, raízes, rizomas, frutos ou sementes. Embora apresentem cor e aspecto semelhante, a composição química destes óleos, características físico-químicas e odores podem ser diferentes e variar significativamente de acordo com esta localização (BORGES, 2012; HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017).

Aos óleos voláteis têm sido atribuídas diferentes funções biológicas/ecológicas. Entre as mais importantes podem ser citadas a proteção contra herbívoros, a defesa contra patógenos, a atração de polinizadores, a proteção contra perda de água/aumento de temperatura, a proteção contra o estresse oxidativo, a sinalização entre órgãos vegetais distintos, a comunicação entre indivíduos da mesma espécie e o efeito alelopático (GLINWOOD; NINKOVIC; PETTERSON, 2011; UNSICKER; KUNERT; GERSHENZON, 2009).

Gottlieb e Salatino (1987) relacionaram a produção dos óleos essenciais às suas características evolutivas nas plantas. Desta forma, demonstraram as tendências biossintéticas destes metabólitos em várias famílias botânicas e evidenciaram que estes óleos vêm apresentando uma importância crescente nas indústrias de alimentos, cosméticos e medicamentos. A importância dos óleos essenciais para a indústria farmacêutica reside nas atividades farmacológicas já bem estabelecidas que estes compostos podem apresentar, tais como: carminativa, antiespasmódica, estimulante do apetite, revulsiva, secretolítica, estimulante ou depressora do Sistema Nervoso Central, anestésica local, anti-inflamatória e antimicrobiana. Entretanto, ressalta-se que estas atividades podem ser atribuídas ao óleo essencial isolado do vegetal e não necessariamente à droga vegetal, rica em óleos essenciais, na qual outros compostos podem estar contribuindo para a predominância de uma determinada ação farmacológica (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017; PAULA, 2011).

A família Acanthaceae possui importância medicinal devido ao teor de óleos essenciais que apresentam. Muitos gêneros são importantes fontes destes óleos, tais como *Acanthus*, *Barleria*, *Blepharis*, *Brillantaisia*, *Clinacanthus*, *Hypoestes* e *Thunbergia* (LEAL et al., 2000; OLIVEIRA, 1995; OLIVEIRA et al., 2000; OKOLI et al., 2008). A presença destes óleos confere importância medicinal às espécies desta família, graças à sua credibilidade junto a diversas comunidades que os usam por suas propriedades terapêuticas já comprovadas (CÔRTEZ; RAPINI, 2013; VILAR, 2009). Entretanto, o gênero *Justicia* merece atenção pela escassez de estudos relacionados à extração de seus óleos essenciais, visto que estes são ainda incipientes para a Região Centro-Oeste (AQUINO et al., 2012).

Portanto, o objetivo desta etapa do trabalho foi realizar a análise qualitativa e quantitativa, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), do óleo essencial obtido das partes aéreas de *Justicia pectoralis* de ocorrência no cerrado goiano, e investigar a variabilidade na composição química do óleo essencial desta espécie medicinal em relação a outros trabalhos que também tenham analisado a composição química destes compostos para o mesmo gênero e/ou espécie vegetal.

2. Materiais e Métodos:

2.1 COLETA E PROCESSAMENTO DO MATERIAL BOTÂNICO:

A droga vegetal utilizada para extração dos óleos essenciais foi obtida e processada conforme procedimentos descritos nos itens 2.1 e 2.2 do capítulo 2 desta dissertação.

2.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL:

O processo de extração do óleo essencial foi realizado no Laboratório de Estudos botânicos, químicos e biológicos de Plantas Medicinais da Universidade Estadual de Goiás, campus Anápolis-Go. Foram pesados 40 g do material botânico submetido à extração por hidrodestilação pelo método de Clevenger, modificado por Wasick (1963). A droga vegetal foi transferida para um balão volumétrico de 500 mL de fundo chato, adicionou-se ao balão aproximadamente 300 mL de água destilada que foi acoplado ao aparelho de Clevenger modificado (figura 1-A), utilizando manta aquecedora como fonte de calor. O sistema foi coberto com papel alumínio, para ficar ao abrigo da luz, e monitorado a cada 30 minutos até um total de 3 horas. O volume do óleo essencial foi medido no tubo graduado do próprio aparelho (figura 1-B) e o rendimento, em porcentagem, foi calculado em relação à quantidade inicial de material botânico empregado na extração. O óleo essencial assim obtido foi dessecado com Na_2SO_4 anidro, submetido à atmosfera de nitrogênio e acondicionado em frasco de vidro âmbar, livre de impurezas e hermeticamente fechado. O material obtido foi armazenado sob refrigeração (a -20°C) até a sua utilização.

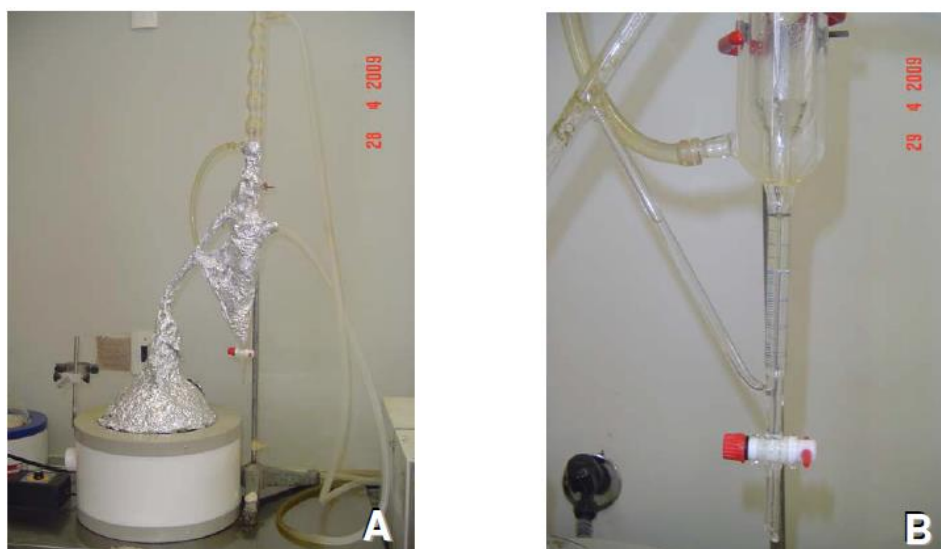


Figura 1 – Aparelho tipo Clevenger modificado para extração de óleos essenciais. A - aspecto geral do aparelho durante o processo de extração; B - detalhe do tubo graduado onde o óleo extraído é reunido e medido.

Fonte: Paula (2011).

2.3 TEOR DO ÓLEO ESSENCIAL:

O rendimento do óleo obtido das amostras coletadas foi calculado por regra de três simples levando em consideração que 40 g da amostra pulverizada, submetida à hidrodestilação, equivale a 100%. Portanto, a porcentagem do teor do óleo foi obtida em relação à quantidade de óleo extraída:

40 g amostra pulverizada ----- 100 %
* Quantidade de óleo extraída ----- Teor do óleo (%)

* Quantidade de óleo extraída = Peso do frasco âmbar com óleo – peso do frasco âmbar vazio.

2.4 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL:

A análise da composição química do óleo essencial foi realizada no laboratório de Química Instrumental da Universidade Estadual de Goiás (campus Anápolis-Go). O óleo essencial extraído foi submetido à análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM). O equipamento utilizado foi o cromatógrafo gasoso SHIMADZU, Kyoto, Japão - acoplado a um espectrômetro de massa modelo GCMS-QP5050A equipado com detector FID e uma coluna capilar de sílica fundida CBP-5 (30m x 0,25mm x 0,25µm; filme de 5% de fenilmetilpolisiloxano). A programação utilizada para injeção e corrida das amostras foi a seguinte: vazão de 1ml.min⁻¹ de hélio, como gás de arraste, e aquecimento com temperatura programada (60°C com uma isoterma de 2 min; seguido de um gradiente de 3°C.min⁻¹ até 240°C, e em seguida, com um gradiente de 10°C.min⁻¹ até 280°C, mantendo-se uma isoterma de 10 min, com um tempo total de corrida de 70 min). A energia de ionização do detector foi medida em 70 eV, sendo o volume de injeção da amostra de 0,5µl diluídas em CH₂Cl₂ (~10%). A análise foi conduzida no modo varredura, com um intervalo de massas de 40-400 m/z e uma razão de split de 1:5. A análise quantitativa foi obtida pela integração do Cromatograma de Íons Totais (TIC).

A identificação dos constituintes do óleo essencial foi realizada por comparação (automática e manual) dos espectros de massas com os das bibliotecas *National Institute of Standards and Technology* - NIST/EPA/NIH (1998), além da comparação dos espectros de massas de amostras e Índices de Retenção (IR) calculados com os da literatura (ADAMS, 2007). Os Índices de Retenção foram calculados através da co-injeção com uma mistura de

hidrocarbonetos, C8 – C32 (Sigma, USA), e com aplicação da equação de Van den Dool e Kratz (1963):

$$IR = 100N [(t_x - t_{n-1}) / (t_n - t_{n-1})] + 100 \cdot C_{n-1}$$

Onde:

$$N = C_n - C_{n-1}$$

C_n = número de carbonos do n-alcano que elui após a substância analisada

C_{n-1} = número de carbonos do n-alcano que elui antes da substância analisada

t_x = tempo de retenção da substância analisada

t_n = tempo de retenção do n-alcano que elui após a substância analisada

t_{n-1} = tempo de retenção do n-alcano que elui antes da substância analisada.

3. Resultados:

Quanto às características organolépticas do óleo obtido das partes aéreas de *Justicia pectoralis*, o mesmo apresentou-se translúcido, ligeiramente amarelado e com média viscosidade.

Os rendimentos dos óleos essenciais, em porcentagem (V/p), calculados a partir das amostras coletadas na área de cultivo e empregadas na extração, encontram-se expressos na Tabela 1.

Tabela 1: Teor de óleo essencial, em porcentagem (V/p), das amostras de *Justicia pectoralis* Jacq., cultivadas no Horto Medicinal do centro universitário de Anápolis-Go, UniEvangélica.

<i>Componentes</i>	Teor de óleo essencial % (V/p)
Amostra I	0,05
Amostra II	0,03
Amostra III	0,09
Amostra IV	0,19
Amostra V	0,05

Os resultados das análises por CG/EM dos óleos essenciais extraídos dos espécimes de *Justicia pectoralis* Jacq. encontram-se descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Componentes do óleo essencial das partes aéreas de *Justicia pectoralis* Jacq., cultivadas no Horto Medicinal do centro universitário de Anápolis-Go, UniEvangélica.

<i>Componentes</i>	<i>IR^a</i>	<i>IR / (LIT.)^b</i>
Sabineno	974	975
1-octen-3-ol	977	979
Beta-pineno	978	979
o-cimeno	1024	1022
Beta-felandreno	1029	1029
Não identificado	–	–
Não identificado	–	–
Não identificado	–	–
1,3,8-p-mentatrieno	1121	1110
Isopulegol	1145	1145
Não-identificado	–	–
Não-identificado	–	–
Iso-isopulegol	1157	1155
Formato de nerila	1270	1280
Alfa-copaeno	1378	1376
Beta-bourboneno	1387	1387
Beta-elemeno	1392	1390
Geosmina	1404	1399
Dodecanal	1407	1408
Alfa-cedreno	1410	1410
(E)-cariofileno	1420	1419
Alfa-trans-bergamoteno	1439	1432

Legenda: ^aÍndice de retenção obtido nas análises; ^bÍndice de retenção obtido na literatura: Adams (2007).

Nota: Em negrito, componentes com maior teor de óleo na espécie *J. pectoralis* Jacq.

Os componentes principais, com os respectivos teores: mínimos e máximos, expressos em porcentagem, encontram-se listados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3: Teor, expresso em porcentagem, dos componentes principais do óleo essencial das partes aéreas dos espécimes (I-V) de *Justicia pectoralis* Jacq., coletados na área de cultivo do Horto Medicinal do centro universitário de Anápolis-Go, UniEvangélica.

<i>Componente químico óleo essencial</i>	Teor (%)				
	I	II	III	IV	V
Isopulegol	1,29	9,3	1,23	0	1,7
Iso-isopulegol	0,71	0	3,96	0	3,3
Beta-bourboneno	1,93	3,6	18,6	2,7	6,2
(E)-cariofileno	8,09	6	5,47	6,9	5,20

Legenda: I – V: Espécimes de *J. pectoralis*.

Tabela 4: Teores mínimos e máximos, expressos em porcentagem, dos componentes principais do óleo essencial das partes aéreas dos espécimes de *Justicia pectoralis* Jacq., coletados na área de cultivo do Horto Medicinal do centro universitário de Anápolis-Go, UniEvangélica.

<i>Componentes principais</i>	<i>IR^a</i>	<i>IR / (LIT.)^b</i>	<i>Teor (%) mínimo</i>	<i>Teor (%) máximo</i>
Isopulegol	1145	1145	0.00	9.3
Iso-isopulegol	1157	1155	0.00	3.96
Beta-bourboneno	1387	1387	1.93	18.6
(E)-cariofileno	1420	1419	5.20	8.09

Legenda: ^aÍndice de retenção obtido nas análises; ^bÍndice de retenção obtido na literatura: Adams (2007).

4. Discussão:

Os estudos de rendimento e composição de óleos essenciais são escassos para o gênero *Justicia*. Um desses estudos, conduzido por Joseph, Gleye e Moulis (1988), sobre a constituição química dos óleos essenciais de *J. pectoralis*, o rendimento encontrado para a espécie, coletada na Guiana Francesa, variou entre 0,3 e 0,4%. Neste sentido, os rendimentos encontrados referentes aos teores de óleo essencial (0,03% - 0,19%) para os espécimes de *J. pectoralis* analisados neste estudo foram inferiores ao da literatura consultada.

Castro (2002), em estudo sobre a influência de preparados homeopáticos sobre espécies medicinais, encontrou rendimento de 2,9% para o óleo essencial de *J. pectoralis*. Portanto, os espécimes avaliados neste trabalho apresentaram também rendimento de óleo essencial abaixo do relatado na literatura citada. Este fato pode ser atribuído a fatores, tais como: época do ano em que foi feita a coleta, estágio de desenvolvimento do vegetal, localidade geográfica (altitude), dentre outros fatores ambientais (OLIVEIRA; AKISUE;

AKISUE, 1998). Paula (2011) ressalta que o ciclo vegetativo da planta e fatores extrínsecos, como tipo de cultivo e o ambiente de desenvolvimento do vegetal, são preponderantes para o teor de óleo essencial na planta.

Neste sentido, o trabalho de Bezerra et al. (2006) corrobora essa importante influência dos fatores ambientais sobre o rendimento dos óleos. Os autores verificaram que incrementos nas doses das adubações minerais e orgânicas (com esterco bovino) diminuem o rendimento do óleo essencial de *Justicia pectoralis*. O presente estudo também reforça este achado uma vez que, conforme descrito no item 2.1 do capítulo 1 desta dissertação, os espécimes investigados receberam adubação orgânica o que, em parte, pode ter influenciado na obtenção de rendimento do óleo, neste trabalho, inferior em comparação com os rendimentos do óleo para a planta encontrados na literatura.

A Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM) permitiu detectar 22 componentes comuns nos óleos essenciais das amostras de *J. pectoralis*, em estágio vegetativo, sendo que cinco destes componentes não foram identificados (Tabela 2). Dentre os componentes identificados, 47,06% são monoterpenos, 35,30% são sesquiterpenos e 17,64% correspondem a outros compostos orgânicos, tais como álcoois alifáticos, hidrocarbonetos cíclicos e aldeído láurico.

Os terpenos constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, cuja estrutura deriva do 2-metilbutadieno, também denominado isopreno. Essa molécula, após a ligação com radicais fosfato, origina as duas unidades de C5 básicas, o difosfato de isopentenila (IPP) e o difosfato de dimetilalila (DMAPP), a partir das quais os terpenoides são biossintetizados. Esses dois precursores ativados irão sofrer condensação, originando inicialmente hidrocarbonetos acíclicos, que podem dobrar-se de diferentes maneiras sobre a superfície das enzimas, de forma a preencher os pré-requisitos espaciais para sua ciclização (figura 2). Dessa forma, originam-se as diferentes classes de terpenoides, que costumam apresentar um número de carbonos múltiplo de 5 (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017).

Ainda de acordo com Heinzmann, Spitzer e Simões (2017), monoterpenoides (10C) e sesquiterpenoides (15C) constituem a maioria dos componentes dos óleos voláteis obtidos por processos de destilação, enquanto diterpenoides (20C), principalmente quando oxigenados, aparecem apenas em óleos obtidos por extração com solventes e por fluido supercrítico. Nos vegetais, existem duas rotas biossintéticas distintas que levam à biossíntese dos terpenoides: uma ocorre no citoplasma (rota do ácido mevalônico), e a outra, nos plastídeos (rota do 2-C-metileritritol-4-fosfato, abreviado como MEP) (figura 3). Nos

Os componentes majoritários (Tabelas 3 e 4) das amostras elucidados pela (CG/EM) foram os monoterpenos isopulegol e iso-isopulegol (figura 4) e os sesquiterpenos beta-bourboneno e (E)-cariofileno (figura 4).

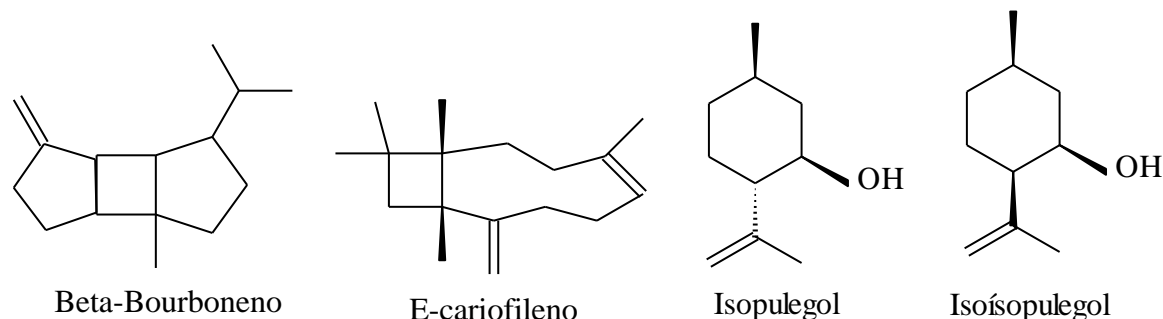


Figura 4 - Estruturas químicas do beta-bourboneno, (E) – cariofileno, isopulegol e iso-isopulegol, compostos majoritários do óleo essencial das partes aéreas de *Justicia pectoralis* cultivada no Horto Medicinal do Centro Universitário de Anápolis-Go, UniEvangélica.

A análise da composição química do óleo essencial, conduzida por Vargem (2015), extraído das folhas da mesma espécie, mas de ocorrência no Distrito Federal, também elucidou estes mesmos quatro compostos majoritários (beta-bourboneno, (E)-cariofileno isopulegol, iso-isopulegol) em adição a mais cinco: 2-metilbutanoato de geranila, epóxido II de humuleno, alfa-cadinol, selin-11-en-4-alfa-ol, eudesma-4(15),7-dien-1-beta-ol. Entretanto, pesquisa de Borges (2012) com amostras de *J. pectoralis*, ocorrentes no nordeste brasileiro, verificou apenas 2 constituintes principais no óleo essencial da referida espécie que não coincidiram com estes resultados. Foram eles: terpinoleno (86,6%) e o α -terpineno (13,7%).

Por outro lado, trabalhos realizados com o objetivo de elucidar a composição química do óleo essencial extraído de outras espécies de *Justicia*: *J. chrysotrichoma* (SOUSA et al., 2012), *J. lanystakii*, (MIRANDA et al., 2012) e *J. nodicaulis* (PINNA et al., 2012), apresentaram resultados coincidentes com o presente estudo uma vez que, nas três espécies, coletadas no parque estadual Serra dos Pirineus, Pirenópolis-Goiás, os componentes mais representativos identificados nas folhas foram: isopulegol, beta-bourboneno e (E)-cariofileno.

Essa diferença na composição química constatada por diferentes autores pode estar relacionada a fatores ambientais, genéticos e fenológicos, evidenciando a necessidade na continuidade de estudos que investiguem os compostos do óleo essencial na espécie de interesse, apesar de Heinzmann, Spitzer e Simões (2017) afirmarem que é comum a ocorrência de variabilidade química nos constituintes dos óleos voláteis de espécies vegetais aromáticas. Diversos fatores podem influenciar na biossíntese de compostos voláteis e fundamentar a existência, no mesmo *taxon*, de óleos essenciais com composições distintas.

Duarte et al. (2009), Santos et al. (2009) e Paula (2011) corroboram com esta premissa ao afirmar que o tipo de cultivo e o ambiente de ocorrência e desenvolvimento do vegetal, no que diz respeito ao nível de incidência solar, a temperatura, a umidade do ar, o tipo de solo e a disponibilidade de água assimilável pelas plantas, são exemplos importantes de fatores edafoclimáticos que contribuem para a produção de óleos essenciais quimicamente diferentes em uma mesma espécie. No que se refere à fisiologia do vegetal, óleos essenciais de composição distinta podem ser verificados nas diferentes fases ontogênicas das plantas e em diferentes órgãos da mesma planta (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017).

Diante de tais informações, sugere-se que, para se entender melhor as variações observadas e obtenção de resultados mais fidedignos no que concerne à composição química dos óleos essenciais de *Justicia pectoralis*, todos os vegetais a serem investigados sejam cultivados, a partir dos espécimes nativos, e analisados em condições iguais e controladas, o que poderia também contribuir para verificar a ocorrência de quimiotipos (vegetais botanicamente idênticos, mas que se diferem em termos químicos) na espécie, independentes da localidade geográfica. Neste contexto, Paula (2011) ressalta que uma das hipóteses para o polimorfismo químico é que, embora pertencendo à mesma espécie, populações naturais de plantas que ocorrem ao longo de um gradiente ambiental podem variar quanto a constituição genética e atividade fisiológica e, desta forma, podem responder de modo diferente às condições ambientais vigentes.

Dentre os compostos majoritários identificados para *J. pectoralis* neste estudo, o monoterpene isopulegol foi observado por Menezes (1994) em algumas famílias da ordem Lamiales, dentre elas Lamiaceae e Acanthaceae e têm alto poder antisséptico. Além da importância medicinal, esses compostos e muitos de seus derivados, como o diastereoisômero iso-isopulegol, devido ao agradável odor floral, são utilizados na perfumaria e em produtos cosméticos, como loções, sabonetes, desodorantes e como aromatizantes em alimentos, tais como bebidas não-alcoólicas, sorvetes e doces (JIROVETZ et al., 2007).

O composto (E)-cariofileno, presente de maneira representativa nas amostras de *J. pectoralis*, são compostos sesquiterpenos hidrocarbonetos bicíclicos amplamente empregados na perfumaria cosmética e em sabonetes (CRAVEIRO; MACHADO, 1986; COSTA, 1994; HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017). Tzakou e Skaltsa (2003) demonstraram atividade anti-inflamatória e citoprotetora dos compostos E – cariofileno e α – humuleno, além de terem verificado que, óleos essenciais que possuem o cariofileno como composto majoritário, exibem moderada atividade contra bactérias gram-positivas e uma alta atividade contra

Helicobacter pylori. Flach et al. (2002) demonstraram, ainda, moderada atividade antifúngica do E-cariofileno contra dermatófitos.

Outro sesquiterpeno, verificado como composto majoritário no óleo essencial de *J. pectoralis*, foi o beta-bourboneno. Alguns trabalhos que avaliaram a composição química do óleo essencial de determinadas espécies vegetais também elucidaram este composto como um dos componentes majoritários, bem como verificaram importantes atividades biológicas destes óleos. Dentre estes trabalhos, convém citar o de Liu et al. (2009) com o óleo essencial de *Phyllanthus emblica*, e os estudos de Ugur et al. (2007) com o óleo de *Centaurea ensiformis*, endêmica da Turquia, e Bougatsos et al. (2004) com o óleo de *Helichrysum fulgidum* da Tanzânia. Nas pesquisas destes autores, o óleo essencial das três espécies investigadas demonstraram amplo espectro de atividade antibacteriana. Além disso, os óleos de *Phyllanthus emblica* e *Helichrysum fulgidum* apresentaram moderada atividade antifúngica e, o óleo de *Centaurea ensiformis*, significativa atividade antioxidante. Diante de tais achados, pode-se concluir que o beta-bourboneno, como composto majoritário presente no óleo essencial das 3 espécies analisadas, pode ter sido parcialmente responsável pelas atividades antimicrobiana e antioxidante verificadas nestes estudos.

5. Considerações finais:

Estudos sobre a composição dos óleos essenciais pode ser importante como subsídio para a quimiotaxonomia, especialmente para o gênero *Justicia*, que apresenta espécies diferentes que se assemelham morfológicamente, tornando difícil a distinção baseada apenas em caracteres morfológicos.

A elucidação dos compostos constituintes do óleo essencial obtido das partes aéreas de *Justicia pectoralis* está em conformidade com outros estudos envolvendo a mesma espécie e com a composição química dos óleos de outras espécies de *Justicia*: em especial *J. chrysotrichoma*, *J. lanystakii* e *J. nodicaulis*. Entretanto, trabalho de Borges (2012) verificou variação nos constituintes do óleo essencial de *J. pectoralis*, inclusive os majoritários, discordante com o presente estudo. Estes achados indicam a necessidade da realização de novos estudos que investiguem a composição do óleo essencial desta planta, sob condições controladas, para verificar, inclusive, a possibilidade da ocorrência de quimiotipos na espécie.

O presente trabalho é incipiente quanto ao possível potencial econômico e terapêutico dos compostos constituintes do óleo essencial das partes aéreas de *J. pectoralis*

encontrada no Cerrado de Goiás. A espécie investigada apresenta relevância para fins medicinais os quais são popularmente utilizados e, devido a este potencial fitoterápico, requer estudos mais aprofundados que envolvam experimentos de isolamento, purificação e determinação estrutural dos constituintes detectados. Além disso, faz-se necessário a realização de ensaios biológicos para avaliar se os componentes identificados apresentam atividades farmacológicas, genotóxica e citotóxica a fim de subsidiar embasamento científico visando o uso seguro dos óleos essenciais desta espécie.

Referências Bibliográficas:

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4.ed. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 2007. 804 p.

AQUINO, G. L. B. de; VILA VERDE, G. M.; PEIXOTO, J. C.; FIGUEREDO, A. S. Método de extração de óleos essenciais por irradiação de micro-ondas – uma perspectiva de estudo para plantas do Cerrado. In: OLIVEIRA, S. S. (Org.). **Ciências Moleculares 2**. Universidade Estadual de Goiás, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, 2012. p. 394-421.

ATASANOV, A. G.; WALTENBERGER, B.; PFERSCHY-WENZIG, E-M; LINDER, T.; WAWROSCHE, C.; UHRIN, P.; TEMML, V.; WANG, L.; SCHWAIGER, S.; HEISS, E. H.; ROLLINGER, J. M.; SCHUSTER, D.; BREUSS, J. M.; BOCHKOV, V.; MIHOVILOVIC, M. D.; KOPP, B.; BAUER, R.; DIRSCH, V. M.; STUPPNER, H. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review, **Biotechnology Advances** (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>.

BANDONI, A. L.; CZEPAK, M. P. **Os recursos vegetais aromáticos no Brasil: seu aproveitamento industrial para a produção de aromas e sabores**. Vitória: EDUFES, 2008. 623 p.

BAKKALI, F; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BEZERRA, A. M. E.; NASCIMENTO JÚNIOR, F. T. do; LEAL, F. R. L.; CARNEIRO, J. G. de M. Rendimento de biomassa, óleo essencial, teores de fósforo e potássio de cambá em resposta à adubação orgânica e mineral. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 2, p. 124-129, 2006.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos Essenciais no Brasil: Aspectos Gerais, Desenvolvimento e Perspectivas. **Química Nova**, Editora: Sociedade Brasileira de Química (SBQ) / Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE) ISSN: 0100-4042, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BORGES, A. R. **Estudo da atividade biológica de óleos essenciais de plantas medicinais do nordeste brasileiro sobre *Trypanosoma cruzi***. 2012. 118 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública), Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2012.

BOUGATSOS, C.; NGASSAPA, O.; RUNYORO, D. K.; CHINOU, I. B. Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oils of two *Helichrysum* species from Tanzania. **Z Naturforsch C.**, v. 59, n. 5-6, p. 368-372, 2004.

CASTRO, D. M. **Preparações homeopáticas em plantas de cenoura, beterraba, capim-limão e chambá**. 2002. 240 f. Tese (Doutorado), Programa de Pós Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2002.

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

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 2.ed. Lisboa: Fundação Calauste Gulbenkian, 1994.

CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. L. L. De Aromas, Insetos e Plantas. **Ciência Hoje**, v. 4, n. 23, p. 54-63, 1986.

DUARTE, A. R.; NAVES, R. R.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal influence on the essential oil variability of *Eugenia dysenterica*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 5, p. 967-974, 2009.

FLACH, A.; GREGEL, B.; SIMIONATTO, E.; DA SILVA, U. F.; ZANATTA, N.; MOREL, A. F.; LINARES, C. E.; ALVES, S. H. Chemical analysis and antifungal activity of the essential oil of *Calea clematidea*. **Planta Medica**, v. 68, n. 6, p. 836-838, 2002.

GLINWOOD, R.; NINKOVIC, V.; PETTERSON, J. Chemical interaction between undamaged plants: effects on herbivores and natural enemies. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1683-1689, 2011.

GOMES, M. de S. **Atividades biológicas dos óleos essenciais de três espécies do gênero *Citrus* e de seus componentes majoritários**. 2014. 126 f. Tese (Doutorado em Agroquímica), Programa de Pós-graduação em Agroquímica, Área de Concentração em Agroquímica e Agrobioquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2014.

GOTTLIEB, O. R.; SALATINO, A. Função e evolução de óleos essências e de suas estruturas secretoras. **Ciência e Cultura**, p. 707-7016, 1987.

HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V.; SIMÕES, C. M. O. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 167 – 184.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; SCHMIDT, E.; STOYANOVA, A. S.; DENKOVA, Z.; NIKOLOVA, R.; GEISLER, M. Purity, Antimicrobial activities and olfatoric evaluations of Geraniol/Nerol and various of their derivatives. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, n. 3, p. 288-291, 2007.

JOSEPH, H.; GLEYE, J.; MOULIS, C. Justicidin B, a Cytotoxic Principle from *Justicia pectoralis* **J. Nat. Prod.**, v. 51, n. 3, p. 599–600, 1988.

LEAL, L. K.; FERREIRA, A. A.; BEZERRA, G. A.; MATOS, F. J.; VIANA, G. S. Antinociceptive antiinflammatory and bronchodilatador activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, n. 2, p. 151-159, 2000.

LIU, X.; ZHAO, M.; LUO, W.; YANG, B.; JIANG, Y. Identification of volatile components in *Phyllanthus emblica* L. and their antimicrobial activity. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 2, p. 423-428, 2009.

MENEZES, F.S. **Base química de tendências filogenéticas em Lamiiflorae**. 1994. 94 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais). Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1994.

MIRANDA, R. M.; PEIXOTO, J. C.; FRANCISCO NETO, J.; CARNEIRO, M. R. B.; PAULA, J. A. M. Identificação de fitoquímicos e óleos essenciais nas folhas da espécie *Justicia lanystakii* Rizz. (Acanthaceae) ocorrente no Parque Estadual dos Pireneus, Pirenópolis, estado de Goiás. In: **63º Congresso Nacional de Botânica**. Botânica frente às mudanças globais, 2012.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Data Base**. Gaithersburg, MD.: U. S. Department of Commerce, 1998.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.

OKOLI, C. O.; AKAH, P. A.; ONUOHA, N. J.; OKOYE, T. C.; NWOYE, A. C.; NWORU, C. S. *Acanthus montanus*: An experimental evaluation of the antimicrobial, anti-inflammatory and immunological properties of a traditional remedy for furuncles. **BMC Complementary. Alternative Med**, v. 8, n. 27, 2008.

OLIVEIRA, A. F. M. **Caracterização de Acanthaceae medicinais conhecidas como anador no nordeste do Brasil**. 1995. 125 f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Departamento de Botânica, Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 1995.

OLIVEIRA, A. F. M.; XAVIER, H. S.; SILVA, H. N.; ANDRADE, L. H. C. Screening cromatográfico de Acanthaceae medicinais: *Justicia pectoralis* e *J. gendarussa* Burm. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 3, n. 1, p. 37-41, 2000.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1998.

PAULA, J. A. M. de. **Fitoquímica e atividades biológicas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L. R. Landrum (Myrtaceae)**. 2011. 247 f. Tese (Doutorado em Biologia), Programa de Pós-graduação em Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2011.

PINNA, P. U. de; PEIXOTO, J. C.; CARNEIRO, M. R. B.; RODRIGUES, J.; MIRANDA, R. M. Identificação de fitoquímicos e óleos essenciais nas folhas da espécie *Justicia nodicaulis* (Nees) Leonard (Acanthaceae) ocorrente no Parque Estadual Serra dos Pireneus, Goiás. In: **63º Congresso Nacional de Botânica**. Botânica frente às mudanças globais, 2012.

QUEIROZ, E. F.; WOLFENDER, J.-L.; HOSTETTMANN, K.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. 2.ed. São Carlos: EdUFSCar, 2014.

RUSSO, M. T.; SERRA, D.; SURACI, F.; POSTORINO, S. Effectiveness of electronic nose system to detect bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) essential oil quality and genuineness. **J Essent Oil**, v. 24, iss. 2, p. 137-151, 2012.

SANTOS, A.; PADUAN, R. H.; GAZIN, Z. C.; JACOMASSI, E.; D'OLIVEIRA, P. S.; CORTEZ, D. A. G.; CORTEZ, L. E. R. Determinação do rendimento e atividade do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2A, p. 436-441, 2009.

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

SOUZA, L. V.; OLIVEIRA, D. R.; PEIXOTO, J. C.; VILA VERDE, G. M.; CARNEIRO, M. R. B. Identificação de fitoquímicos e óleos essenciais nas folhas da espécie *Justicia chrysotrichoma* (Nees) Pohl. (ACANTHACEAE) ocorrente no Parque Estadual dos Pireneus, Pirenópolis, estado de Goiás. In: **XXII Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil**. Bento Gonçalves, RS, 2012.

SOUZA, S. A. M.; MEIRA, M. R.; FIGUEIREDO, L. S. de; MARTINS, E. R. Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v. 6, n. 10, p. 1 – 11, 2010.

TZAKOU, O.; SKAL TSA, H. Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Satureja parnassica* subsp *parnassica*. **Planta Medica**, v. 69, p. 282-284, 2003.

UGUR, A.; DURU, M. E.; CEYLAN, O.; SARAC, N.; VAROL, O.; KIVRAK, I. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Centaurea ensiformis* Hub.-Mor. (Asteraceae), a species endemic to Mugla (Turkey). **Nat Prod Res.**, v. 23, p. 149-167, 2007.

UNSICKER, S. B.; KUNERT, G.; GERSHENZON, J. Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. **Curr Opin Plant Biol.**, v. 12, n. 4, p. 479-485, 2009.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D. Generalization of the Retention Index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, 1963. p. 463-471.

VARGEM, D. S. **Morfoanatomia, prospecção fitoquímica e caracterização do óleo essencial das folhas de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE) ocorrente em Brasília, DF**, 2015. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais), Curso de Pós-

graduação em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente da Faculdade UniEVANGÉLICA, Anápolis, GO, 2015.

VILAR, T. S. **Acanthaceae Juss. no Distrito Federal, Brasil**, 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Programa de Pós-Graduação em Botânica, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, DF, 2009.

YOKOMIZO, N. K. S.; NAKAOKA-SAKITA, M. Atividade antimicrobiana e rendimento do óleo essencial de *Pimenta pseudocaryophyllus* var. *pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum, Myrtaceae. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 513-520, 2014.

WASICKY, R. Uma modificação do aparelho de Clevenger para extração de óleos essenciais. **Revista da Faculdade Farmácia e Bioquímica**, v. 1, n.1, p. 77 – 81, 1963.

Capítulo 4 – Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* do óleo essencial extraído das partes aéreas de *Justicia pectoralis* Jacq. (ACANTHACEAE) – ocorrente no Cerrado Goiano.

RESUMO: Embora tenham sido verificados grandes avanços na descoberta de antimicrobianos de origem vegetal, pesquisas que envolvam a investigação de propriedades farmacêuticas de produtos regionais ainda são muito escassas, em especial, no que concerne ao potencial antibacteriano de *Justicia pectoralis*. Assim, considerando o uso etnofarmacológico desta espécie vegetal para o tratamento de doenças do trato respiratório, tendo em vista que juntamente com os vírus, as bactérias constituem o agente etiológico de muitas patologias respiratórias, é que se procurou investigar a atividade antibacteriana do óleo essencial extraído das partes aéreas desta espécie medicinal por meio de testes de microdiluição em caldo realizados conforme recomendações do *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI), com modificações, frente a microrganismos gram-positivos e gram-negativos de quatro cepas padrões *American Type Culture Collection* (ATCC). Os resultados deste estudo demonstraram que o óleo essencial obtido da *J. pectoralis* apresenta potencial ação antibacteriana, uma vez que, apesar de uma cepa de *Escherichia coli* ter demonstrado resistência, o óleo apresentou fraca ação antibacteriana sobre *Pseudomonas aeruginosa* e moderada atividade antibacteriana sobre as cepas de *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*. Apesar de incipiente, este trabalho pode abrir perspectivas no sentido de desenvolver um fitoterápico eficaz para o tratamento de doenças infecciosas.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana. Óleo essencial. *Justicia pectoralis* Jacq.

ABSTRACT: Although great advances have been made in the discovery of antimicrobials of plant origin, research involving the investigation of pharmaceutical properties of regional products is still very scarce, especially regarding the antibacterial potential of *Justicia pectoralis*. Thus, considering the ethnopharmacological use of this plant species for the treatment of diseases of the respiratory tract, considering that together with the viruses, bacteria constitute the etiological agent of many respiratory pathologies, it was sought to investigate the antibacterial activity of extracted essential oil of aerial parts of this medicinal species by means of microdilution tests in broth carried out according to the recommendations of the *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI), with modifications, against gram-positive and gram-negative microorganisms of four standard strains *American Type Culture Collection* (ATCC). The results of this study demonstrated that the essential oil obtained

from *J. pectoralis* presents a potential antibacterial action, since, although a strain of *Escherichia coli* showed resistance, the oil had a weak antibacterial action on *Pseudomonas aeruginosa* and moderate antibacterial activity on the strains of *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis*. Although incipient, this work may open perspectives towards developing an effective herbal medicine for the treatment of infectious diseases.

Keywords: Antibacterial activity. Essential oil. *Justicia pectoralis* Jacq.

1. Introdução:

Um dos maiores avanços da terapia medicamentosa tem sido representado pela utilização de antimicrobianos, tanto em ambulatorios quanto em hospitais, e têm reduzido drasticamente a incidência de muitas doenças infecciosas. Por outro lado, os sérios efeitos colaterais de muitas dessas substâncias, e a emergência de microrganismos multirresistentes, tem impulsionado pesquisas não somente voltadas ao desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, mas também na elucidação dos mecanismos de resistência (ALVAREDA et al., 2015; CATTOIR; DAUREL, 2010; SAMY; GOPALAKRISHNAKONE, 2010).

O desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos não tem acompanhado a velocidade com que os microrganismos adquirem resistência aos fármacos disponíveis. Neste contexto, o conhecimento acerca dos novos padrões de resistência bacteriana tem causado forte impacto na terapêutica, provocando mudanças nas escolhas de antibacterianos, na dosagem necessária e na utilização de combinações de fármacos. A resistência a antibacterianos está relacionada à expressão de genes, os quais codificam diversos mecanismos bioquímicos ou alteração de sítios alvo, que culminam com a inativação ou impedimento da ação dos fármacos que pode ser natural, adquirida (mutações) ou transferível (processos de recombinação) (BARROS; MACHADO; SPRINZ, 2001; TAVARES, 2001). Há, portanto, uma necessidade premente de endereçar esforços na descoberta de novos fármacos mais específicos, eficazes e seguros (HELFAND; BONOMO, 2005; MEYER, 2005; PAULA, 2011).

Neste sentido, o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos pode encontrar importantes contribuições na pesquisa com produtos naturais. Sabe-se que os produtos naturais possuem alta diversidade estrutural, especificidade bioquímica e outras

propriedades moleculares que fazem deles substâncias favoráveis como compostos líderes para o desenvolvimento de novos fármacos (MARIATH et al., 2009).

A revisão de Newman e Cragg (2016) relata a influência acentuada dos produtos naturais no âmbito do comércio antibacteriano e ressalta que a maioria dos correntes antimicrobianos foram descobertos a partir de fontes naturais. Baseado nesta premissa, estudos de espécies vegetais com propriedades antibacterianas têm sido amplamente desenvolvidos uma vez que apresentam amplo espectro de atividade e inibição comprovada contra bactérias *gram*-positivas e *gram*-negativas (BRESOLIN; CECHINEL FILHO, 2010; CHAIEB et al., 2007; MAGINA et al., 2009; MBOSSO et al., 2010; NAIR; CHANDA, 2007; PALOMBO, 2009; SILVA, 2013).

Isto porque, graças a sua atividade metabólica secundária, as plantas são capazes de produzir substâncias antibióticas, utilizadas como mecanismo de defesa contra predação por microrganismos, insetos e herbívoros. Os compostos isolados de plantas são substâncias cuja estrutura química, com raras exceções, apresentam grandes diferenças estruturais em relação aos antibióticos derivados de microrganismos, além da alta diversidade dos compostos produzidos, o que aumenta a probabilidade da ocorrência de interações sinérgicas, garantindo uma melhor atividade biológica. Esses agentes antibióticos obtidos de plantas podem agir como reguladores do metabolismo intermediário, por meio da ativação ou bloqueio de reações e sínteses enzimáticas, seja a nível nuclear ou ribossomal, ou mesmo alterando estruturas de membranas (CHAUL, 2015; FURTADO et al., 2015; HASSAN, 2012; VASCONCELOS, 2014).

A atividade antibacteriana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais tem sido observada em vários trabalhos na literatura. A título de exemplo, o extrato de *Vitex negundo* apresentou efeito bactericida sobre diversas bactérias patogênicas (KAMRUZZAMAN; BARI; FARUQUE, 2013). Óleos essenciais de *Euphorbia macrorrhiza*, apresentaram um forte efeito inibitório sobre *Staphylococcus aureus* (LIN et al., 2012). Chatterjee, Bhattacharjee e Chandra (2011), relataram atividade antibacteriana de uma fração isolada do extrato das folhas de *Vangueria spinosa* contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. Óleos essenciais de *Eucalyptus camaldulensis* e *Mentha spicata* tiveram ação contra *Streptococcus mutans* e *Streptococcus pyogenes*, interferindo significativamente na formação do biofilme (RASOOLI; SHAYEGH; ASTANEH, 2009).

Entretanto, embora tenham sido verificados grandes avanços na descoberta de antimicrobianos de origem vegetal, pesquisas que envolvam a investigação de propriedades

farmacêuticas de produtos regionais ainda são muito escassas, em especial, no que concerne ao potencial antibacteriano de *Justicia pectoralis*. Assim, considerando o uso etnofarmacológico desta espécie vegetal para o tratamento de doenças do trato respiratório (FONSECA, 2009; LINHARES, 2012), a investigação do possível efeito antimicrobiano da planta torna-se fundamental, tendo em vista que juntamente com os vírus, as bactérias constituem o agente etiológico de muitas patologias respiratórias.

Além disso, levando em consideração a perspectiva de uso das plantas medicinais no tratamento de infecções causadas por diversos microrganismos, para que promissoras evoluções se processem no tratamento farmacológico das doenças infecciosas, é que se procurou investigar a atividade antibacteriana do óleo essencial extraído das partes aéreas de *J. pectoralis* frente a microrganismos gram-positivos e gram-negativos de cepas padrões *American Type Culture Collection* (ATCC), uma vez que muitas espécies vegetais do gênero *Justicia* vêm sendo estudadas no mundo todo, demonstrando diferentes atividades biológicas e constituintes químicos extremamente interessantes (CORRÊA, 2013; CORRÊA; ALCÂNTARA, 2012; VERDAM, 2009).

2. Materiais e Métodos:

2.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO:

A droga vegetal utilizada para os ensaios microbiológicos foi obtida e processada conforme procedimentos descritos nos itens 2.1 e 2.2 do capítulo 2 desta dissertação.

2.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL:

O processo de extração do óleo essencial, utilizado nos testes de atividade antibacteriana, foi realizado de acordo com metodologia descrita no item 2.2 do capítulo 3 desta dissertação.

2.3 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS:

2.3.1 Atividade antibacteriana:

Foi submetido aos testes de atividade antibacteriana o óleo essencial obtido das partes aéreas de *Justicia pectoralis*. Os testes de microdiluição em caldo para o ensaio microbiológico foram realizados conforme recomendações do *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI), com modificações, para testes de susceptibilidade antimicrobiana de bactérias aeróbias (CLSI M7-A6, 2010). As leituras das placas foram feitas com a utilização da resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido) como indicador visual de viabilidade bacteriana (SARKER; NAHAR; KUMARASAMY, 2007) e colorimétrico de óxido-redução (SALVAT; ANTONNACCI; FORTUNATO, 2001). Os ensaios foram realizados em triplicata e em câmara de fluxo laminar (para evitar contaminações).

Foram utilizadas cepas-padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) mantidas no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Goiás (UEG), campus Anápolis, descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Microrganismos utilizados na determinação da concentração mínima inibitória (CMI).

<i>MICROORGANISMOS</i>	<i>ATCC</i>
Bactérias Gram (+)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228
Bactérias Gram (-)	
<i>Escherichia coli</i>	25312
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853

2.3.2 Manutenção e conservação das cepas bacterianas:

Para realização dos ensaios microbiológicos, as cepas padrão foram mantidas e conservadas de acordo com o procedimento descrito por Silva, Costa e Chinarelli (2008) com modificações. Antes da realização do ensaio, a fim de garantir a manutenção das culturas microbianas, as cepas foram descongeladas em estufa a 37° C por até 2 horas. As bactérias foram então repicadas em placas contendo ágar BHI (*Brain Heart Infusion*) e incubadas a 35°C por 24 horas. Em seguida, foram transferidas de três a cinco colônias isoladas e típicas de cada microrganismo para um tubo com 15 mL de caldo BHI mais 20% de glicerol. Os tubos foram homogeneizados com agitador de tubos (vórtex) por 15 segundos e incubados por 12 horas a 35°C. Após a incubação, os tubos foram novamente homogeneizados em vórtex com posterior fracionamento de alíquotas de 1 mL em microtubos do tipo eppendorfs,

previamente esterilizados e identificados. Os eppendorfs foram mantidos em geladeira durante sete dias a 8°C e congelados em freezer a -20°C.

2.3.3 Preparo dos Inóculos:

Para o preparo dos inóculos, os eppendorfs foram retirados do freezer até adquirirem temperatura ambiente. As cepas foram reativadas pela técnica do esgotamento (figura 1). Os microrganismos foram inoculados com auxílio de alça de platina em placas contendo ágar *Muller Hinton* (MH) e em seguida incubados à 35°C por 24 horas.

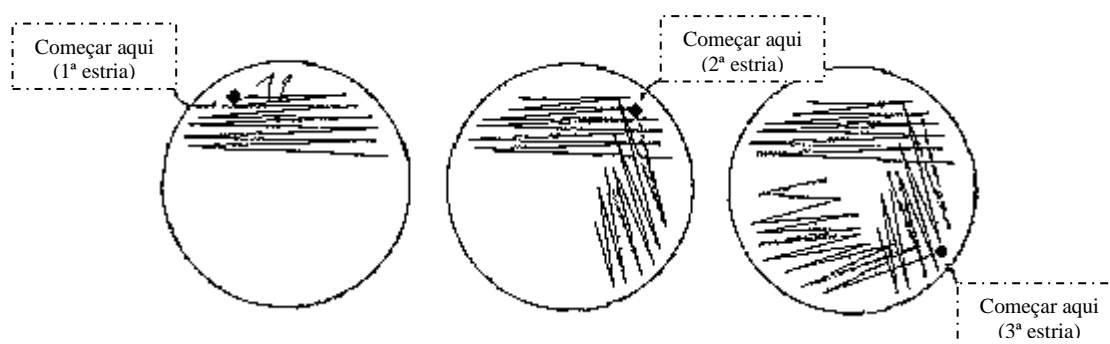


Figura 1 – Representação esquemática da técnica de esgotamento por estrias para isolamento de colônias bacterianas.

Após incubação dos microrganismos em estufa, foram transferidas de três a cinco colônias isoladas e típicas (2ª e 3ª estriação – figura 1) para um tubo com 5 mL de solução fisiológica 0,9%. Obteve-se uma turvação (figura 2) correspondente a 0,5 da escala de McFarland (10^8 UFC mL⁻¹), por leitura no espectrofotômetro a 625nm (79,4% a 83,2% de transmitância). Em microbiologia, os padrões de McFarland são utilizados como uma referência para ajustar a turvação de suspensões bacterianas de modo que o número de bactérias estará dentro de um intervalo dado para padronizar o teste microbiano (BRASIL, 2008). A solução foi então diluída utilizando 0,5 mL da suspensão de microrganismos e 4,5 mL de solução fisiológica 0,9%, atingindo, portanto, a concentração de células de 10^7 UFC mL⁻¹. O procedimento foi realizado 15 minutos antes da inoculação nos poços das placas de CMI.

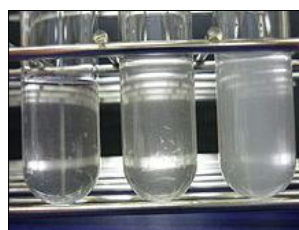
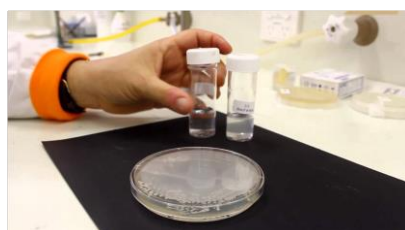


Figura 2 – Turvação obtida corresponde a 0,5 na escala de McFarland na preparação dos inóculos.

2.3.4 Preparo da Amostra (Diluição do Óleo essencial):

A amostra do óleo essencial foi solubilizada acrescentando Tween 80[®] a 0,02% e diluída em caldo MH de modo a obter uma concentração de 2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5 e 31,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ conforme esquema da figura 3.

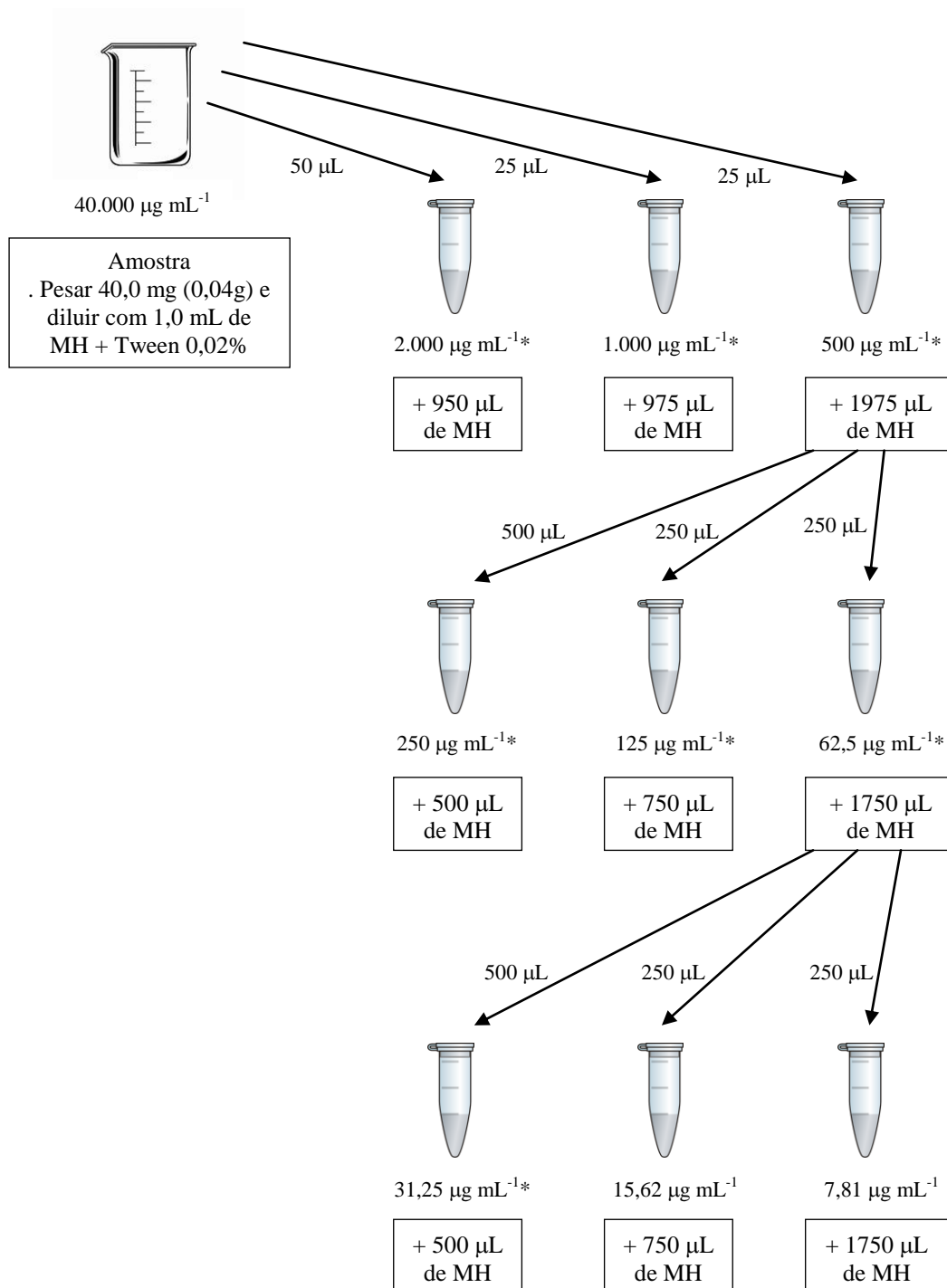


Figura 3 – Esquema para preparo da amostra do óleo e obtenção das diluições utilizadas nos testes de avaliação da atividade antibacteriana.

Nota: as diluições utilizadas, neste trabalho, estão assinaladas com asterisco (*).

2.3.5 Preparo do Antibiótico:

As diluições do antibiótico cloranfenicol foram preparadas conforme recomendado pelo CLSI (2010), e ilustrado nas figuras 4 e 5, nas concentrações de 64, 32, 16, 8, 4, 2 e 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, sendo utilizadas como controle para validação da técnica. Todos os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar para evitar contaminações cruzadas.

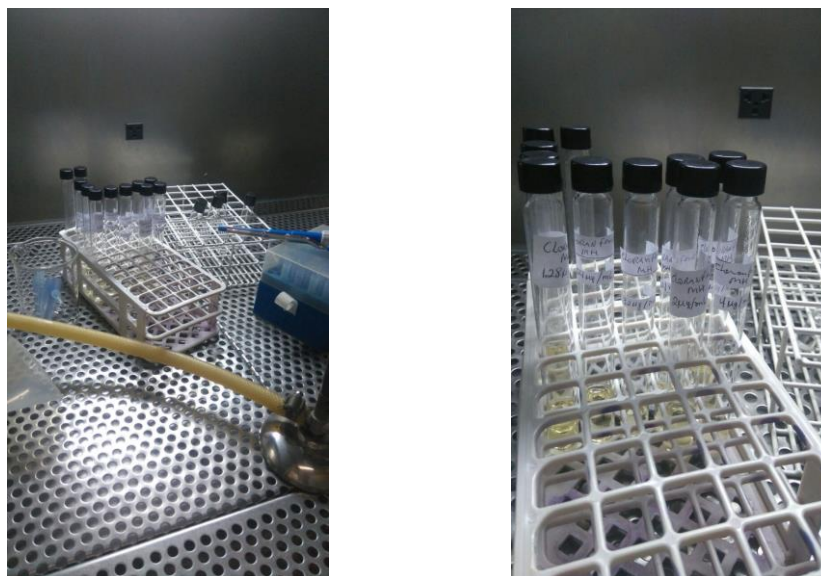


Figura 4 – Preparo das diluições do antibiótico cloranfenicol utilizadas como controle de validação da técnica.

Após o preparo das diluições foram pipetados em microplacas estéreis de 96 poços, providas de tampas, 100 μL de cada concentração do antibiótico da coluna 1 até a coluna 7 e das linhas A a D. Na coluna 9, da linha A até a linha D, foram pipetados 100 μL de caldo *Muller Hinton* (MH) com o inóculo das bactérias a serem testadas, sendo este, portanto, o controle de viabilidade do crescimento bacteriano – controle positivo - CP. Na coluna 11, da linha A até a linha D, foram pipetados 100 μL de MH sem inóculo que foram utilizados como controle da esterilidade do meio – controle negativo - CN. Após o preenchimento das placas, 5 μL de cada inóculo das bactérias a serem testadas foram depositados nos orifícios dos poços das colunas 1 a 7 e das linhas A a D. A microplaca foi tampada, incubada a 35°C por 22 horas e fotografada (figura 9). Após o período de incubação na estufa, foram acrescentados em todos os poços 20 μL de resazurina 0,001% (figura 7) em solução fisiológica 0,9% e a placa foi novamente incubada por 2 horas e fotografada (figura 9).

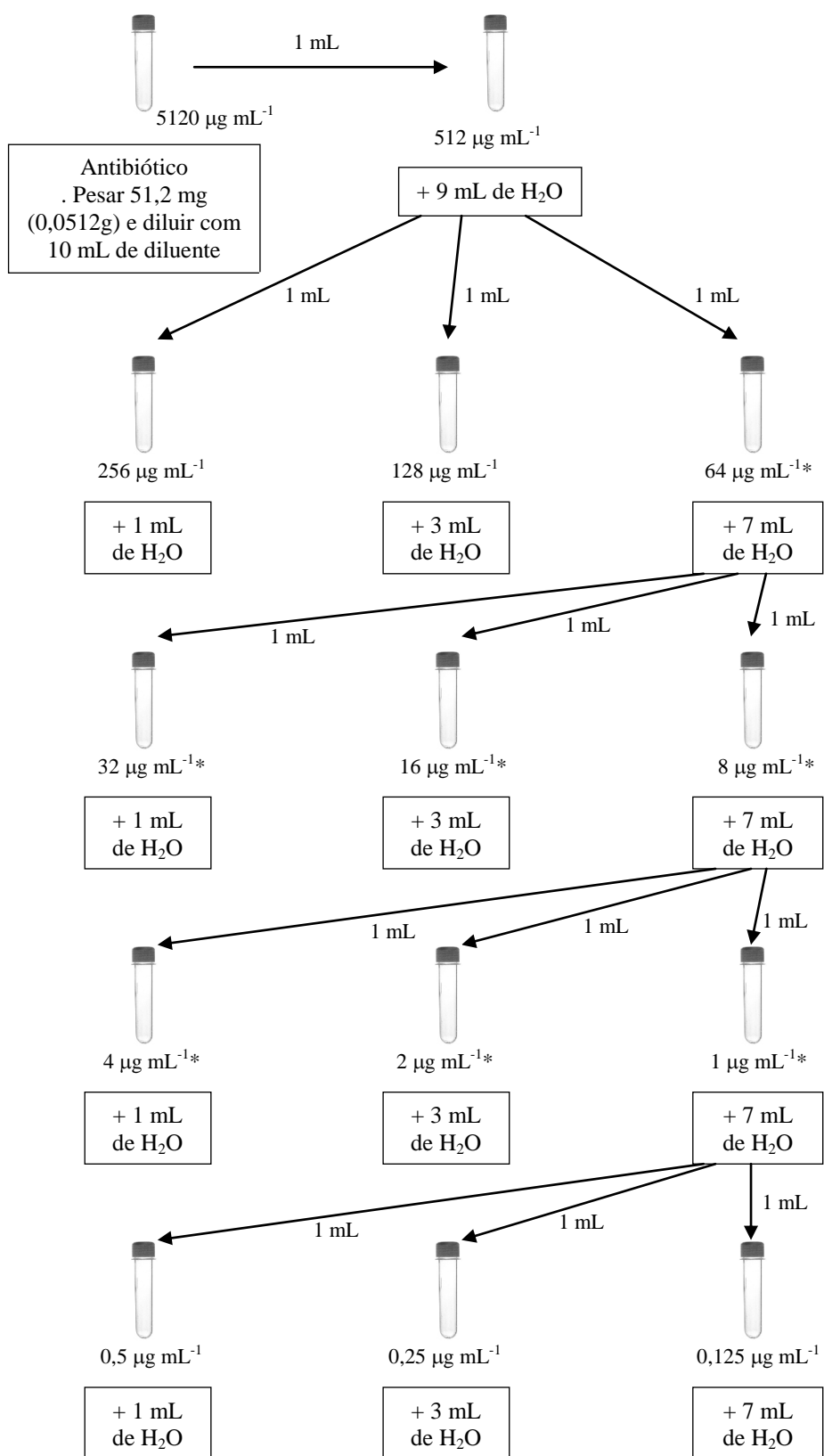


Figura 5 – Esquema para o preparo das diluições do antibiótico cloranfenicol conforme metodologia do CLSI (2010) utilizadas como controle de validação da técnica.

Nota: as diluições utilizadas, neste trabalho, estão assinaladas com asterisco (*).

A figura 6 ilustra esquema geral da microplaca após as diluições e inoculações utilizada como controle para validação da técnica com cloranfenicol.

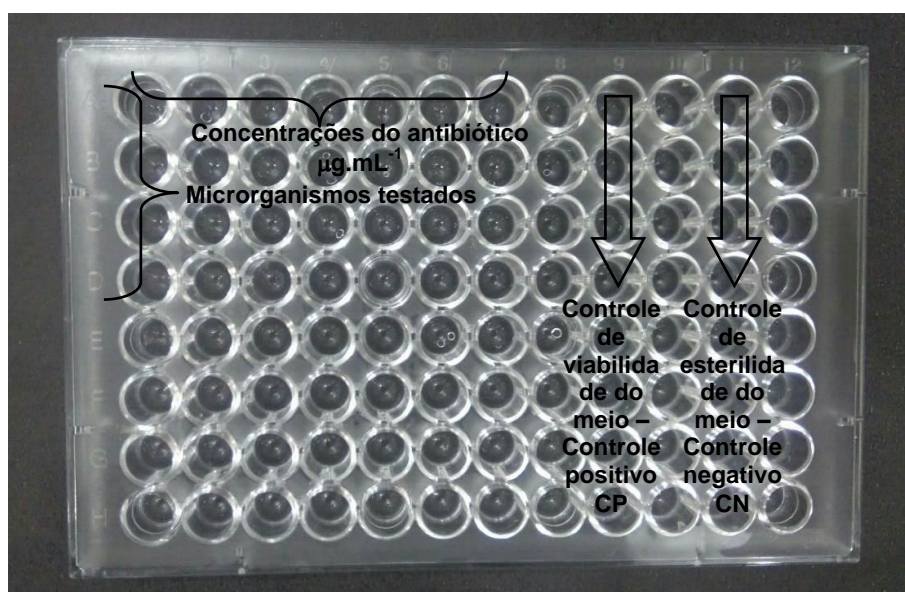


Figura 6 – Esquema de preenchimento da placa de 96 poços conforme metodologia para validação da técnica utilizando o antibiótico cloranfenicol.

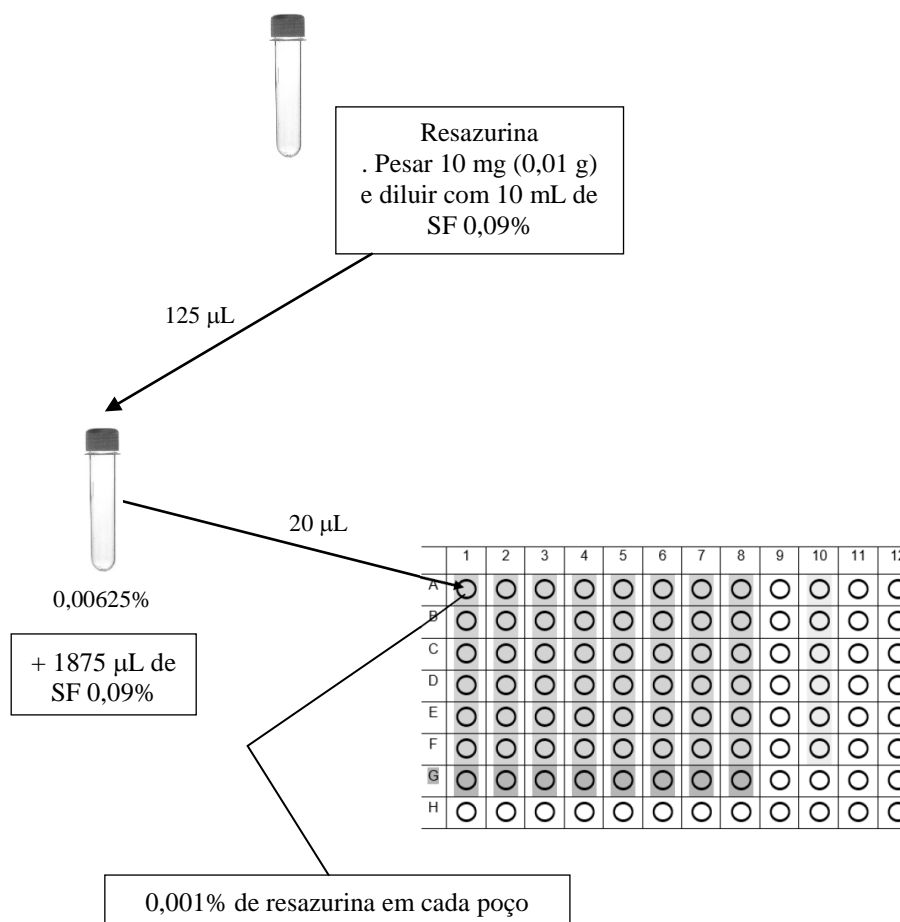


Figura 7 – Preparo e diluição da resazurina a 0,001% em solução fisiológica 0,9% utilizada como revelador visual de viabilidade bacteriana nos ensaios microbiológicos.

2.3.6 Ensaio microbiológico para determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI):

Após o preparo das diluições, foram pipetados em microplacas estéreis de 96 poços, providas de tampas, 100 μL de cada concentração do óleo da coluna 1 até a coluna 7 e das linhas A a D. Na coluna 9, da letra A até a letra D, foram pipetados 100 μL de caldo *Muller Hinton* com o inóculo, sendo este, portanto, o controle de viabilidade de crescimento bacteriano – controle positivo - CP. Na coluna 11, da letra A até a letra D, foram pipetados 100 μL da solução de Tween 80[®] 0,02% em caldo *Muller Hinton*, sem amostra, sendo este, portanto, o controle do referido surfactante. Na linha F, da coluna 1 a 7, foram pipetados 100 μL de MH sem inóculo, com as respectivas concentrações do óleo, sendo este, portanto, o controle da amostra. Na coluna 10, da linha F até a H, foram pipetados 100 μL de MH sem inóculo que foram utilizados como controle da esterilidade do meio – controle negativo – CN. Após o preenchimento das placas, 5 μL de cada inóculo das bactérias a serem testadas foram depositados nos orifícios dos poços das colunas 1 a 7 e 11 e das linhas A a D. A microplaca foi tampada, incubada a 35°C por 22 horas e fotografada (figura 10). Após o período de incubação na estufa, foram acrescentados em todos os poços 20 μL de resazurina 0,001% (figura 7) em solução fisiológica 0,9% e a placa foi novamente incubada por 2 horas e fotografada (figura 10).

A figura 8 ilustra esquema geral da microplaca após as diluições e inoculações utilizada no ensaio microbiológico para determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI).

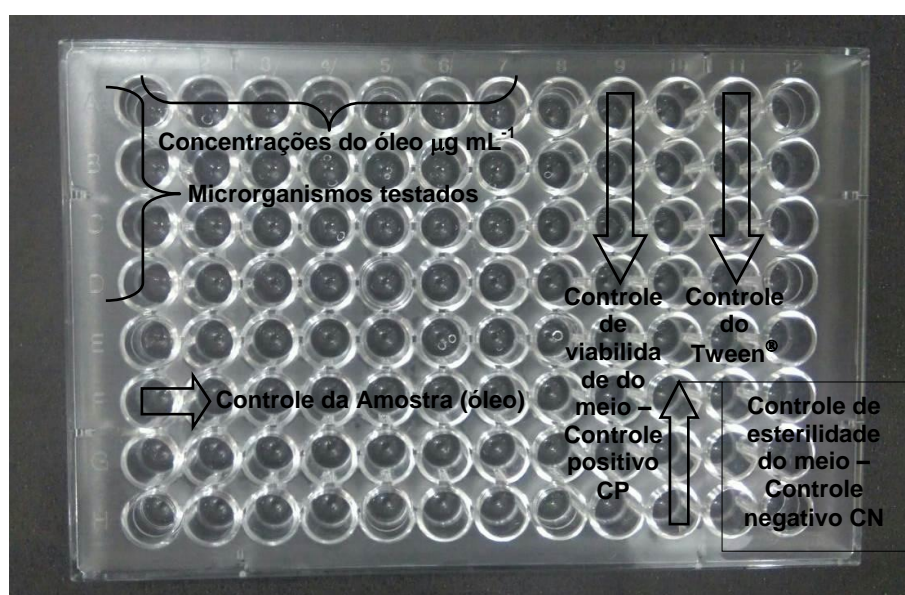


Figura 8 – Esquema de preenchimento da placa de 96 poços conforme metodologia para o ensaio microbiológico para determinação da concentração mínima inibitória (CMI).

A leitura das placas com os microrganismos foi realizada por meio da comparação da turvação das amostras nos poços antes e após acrescentar a resazurina (figuras 9 e 10), sendo que o aumento da turbidez ou opacidade no meio indica o crescimento de microrganismos (LENNETTE et al., 1985). Após acrescentar a resazurina, a permanência da coloração azul indica ausência de microrganismo e a mudança da coloração azul para rosa indica a presença de microrganismo. Portanto, a leitura dos resultados para determinação da concentração mínima inibitória (CMI) foi considerada como positivo para os poços que apresentaram coloração azul e negativa para os que obtiveram coloração rosa intenso. A CMI é definida como a menor concentração capaz de produzir proeminente inibição do crescimento do microrganismo, considerando-se a viabilidade dos microrganismos com o controle positivo. Dessa forma, a (CMI) foi definida como a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento microbiano, nos poços de microdiluição detectada pela cor a olho nu mediante utilização de resazurina como revelador visual (PEREIRA, 2010).

3. Resultados:

Os resultados para o teste de viabilidade como controle da técnica do ensaio microbiológico utilizando cloranfenicol encontram-se destacados na tabela 2.

Tabela 2. Concentração Mínima Inibitória - CMI ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do antibiótico cloranfenicol frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas das cepas ATCC testadas.

<i>BACTÉRIAS TESTADAS</i>	<i>Cloranfenicol ($\mu\text{g mL}^{-1}$)</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	2
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25312	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	2

A figura 9 ilustra esquema geral da placa utilizada como controle da técnica com cloranfenicol após as diluições e inoculações, antes e depois da adição da resazurina como revelador visual de viabilidade bacteriana.

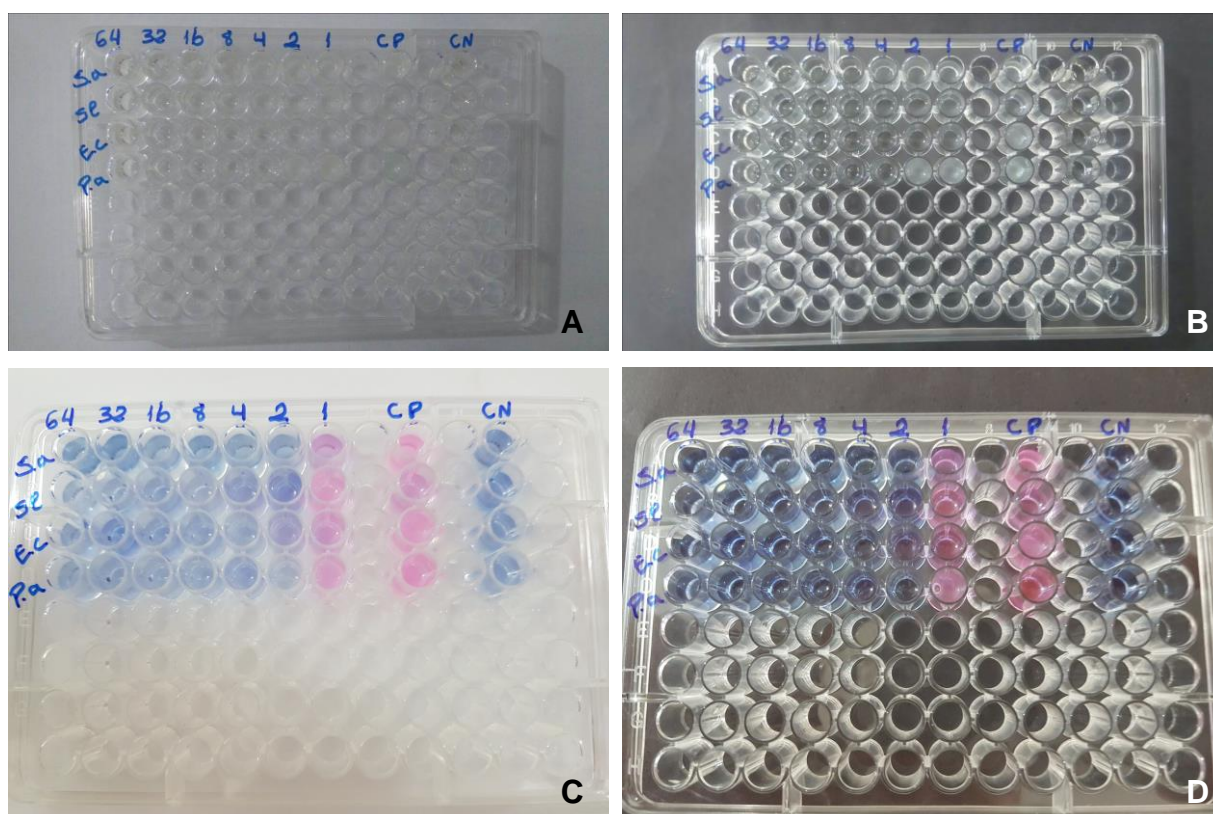


Figura 9 – Esquema da placa de 96 poços após diluições e inoculações conforme metodologia para o controle de viabilidade da técnica utilizando cloranfenicol. A – B: placa antes da adição de resazurina, A – fundo claro, B – fundo escuro; C – D: placa após a adição da resazurina, C – fundo claro, D – fundo escuro.

Os resultados da concentração mínima inibitória (CMI) do ensaio microbiológico para avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* do óleo essencial obtido das partes aéreas de *J. pectoralis* estão elencados na Tabela 3.

Tabela 3. Concentração Mínima Inibitória - CMI ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do óleo essencial de *J. pectoralis* frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas das cepas ATCC testadas.

BACTÉRIAS TESTADAS	OE ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	125
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	125
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25312	> 2000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1000

Legenda: OE = óleo essencial de *J. pectoralis*.

Utilizou-se a classificação de Holetz et. al. (2002) para a determinação da atividade antimicrobiana da amostra do óleo testada. De acordo com esta classificação,

amostras que apresentam CMI menor que $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ possuem boa atividade antimicrobiana, amostras com CMI entre 100 e $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ possuem atividade antimicrobiana moderada, amostras com CMI entre $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ possuem atividade fraca e aqueles que possuem atividade antimicrobiana acima de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ são considerados inativos.

A figura 10 ilustra esquema geral da placa utilizada no ensaio biológico para determinação da concentração mínima inibitória da amostra do óleo testada após as diluições e inoculações, antes e depois da adição da resazurina como revelador visual de viabilidade bacteriana.

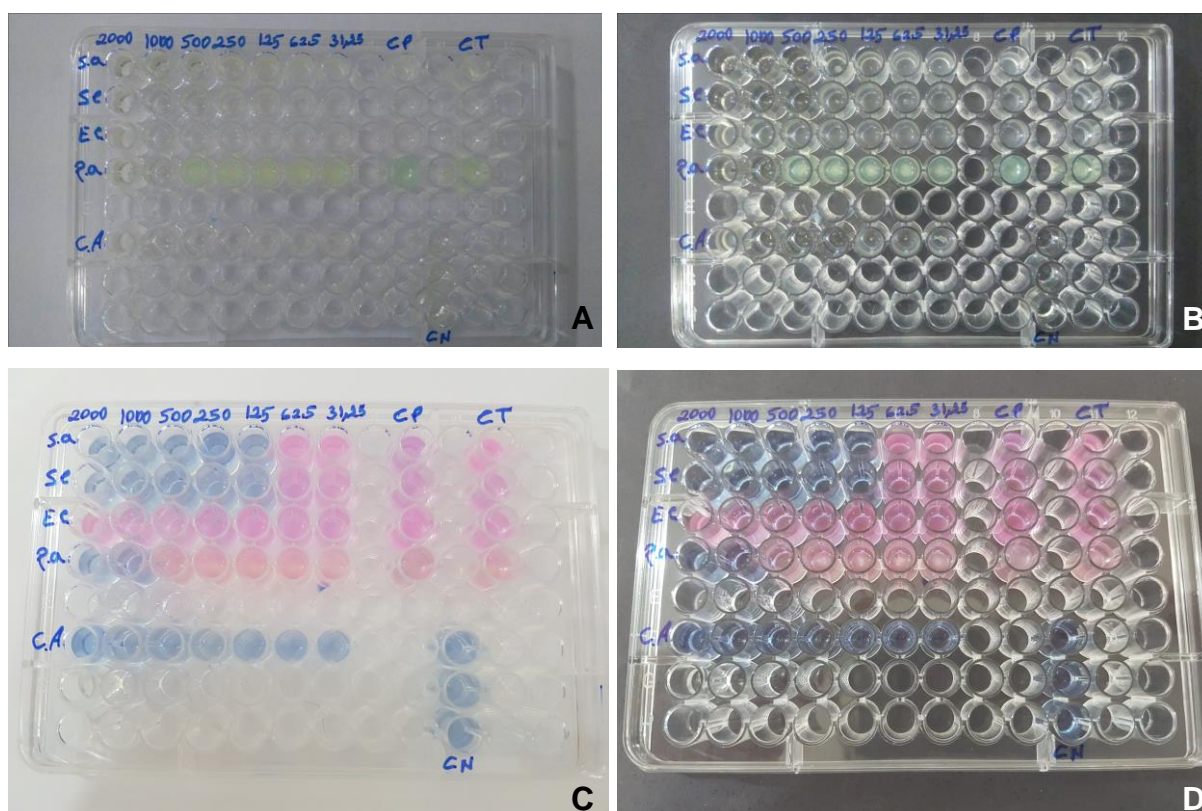


Figura 10 – Esquema da placa de 96 poços após diluições e inoculações conforme metodologia para o ensaio microbiológico para determinação da concentração mínima inibitória (CMI) do óleo de *J. pectoralis*. A – B: placa antes da adição de resazurina, A – fundo claro, B – fundo escuro; C – D: placa após a adição da resazurina, C – fundo claro, D – fundo escuro.

Os resultados da CMI, segundo a classificação de Holetz et al. (2002) e conforme destaca a tabela 3 e ilustra a figura 10 pela leitura visual verificada, demonstram que o óleo de *J. pectoralis* apresentou moderada atividade antibacteriana frente as cepas de bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*) testadas, bem como fraca atividade sobre a cepa de *Pseudomonas aeruginosa* e inatividade frente a outra cepa de gram-negativa (*Escherichia coli*) testada.

4. Discussão:

A maioria dos óleos voláteis, quando empregada em concentrações adequadas, apresenta a propriedade de inibir o crescimento e/ou matar microrganismos, resultando nas atividades antimicótica, antibacteriana e antiviral (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017). Rocha (2013) destaca que, cientificamente, tem sido estabelecido que cerca de 60% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas. A atividade antimicrobiana desses óleos deve-se à solubilidade na bicamada lipídica da membrana celular (VALERIANO et al., 2012). Desta forma, os óleos essenciais exercem papel fundamental na defesa contra microrganismos. Há inúmeros estudos na literatura que analisaram a atividade antibacteriana de óleos essenciais extraídos de diversas espécies vegetais. A título de exemplificação:

Estanislau et al. (2001) testaram a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* (*E. cloeziana*, *E. citriodora*, *E. saligna*, *E. grandis* e *E. microcorys*) cultivadas em Goiás. Verificaram que todos os óleos testados foram ativos contra *Staphylococcus aureus*, bem como para *Escherichia coli*, com exceção do óleo de *E. microcorys* que não apresentou atividade inibitória sobre esta cepa. Os óleos obtidos de *E. citriodora* e *E. grandis* não apresentaram atividade antibacteriana para *Salmonella choleraesuis* mas os óleos das outras três espécies investigadas mostraram resultados satisfatórios na inibição desse microrganismo.

A atividade antibacteriana dos óleos essenciais do alfavacão (*Ocimum gratissimum*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e sálvia (*Salvia officinalis*) foi verificada, em estudo de Pereira et al. (2004), frente a 100 cepas de bactérias isoladas de indivíduos com diagnóstico de infecção urinária. Das 100 amostras analisadas, 79% eram da espécie *Escherichia coli*, e as demais eram de *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella oxytoca* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os autores concluíram que a atividade bactericida dos óleos das ervas medicinais estudadas foi satisfatória, principalmente da *S. officinalis*, que apresentou 79% de inibição sobre as cepas amostradas. *O. gratissimum* e *C. citratus* apresentaram atividade antimicrobiana em 16% das bactérias testadas.

A ação antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) e palmarosa (*Cymbopogon martinii*) foi avaliada para os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella thyphimurium*, *Pseudomonas*

aeruginosa e *Clostridium perfringens* em estudo de Scherer et al. (2009). Os autores concluíram que o óleo obtido das duas espécies investigadas demonstraram moderada a forte ação antimicrobiana frente aos microrganismos testados.

Andrade et al. (2012) verificaram efeito inibitório dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus* (citronela), *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e *Zingiber officinale* (gengibre) sobre o crescimento de bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*) e gram-negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis* e *Pseudomonas aeruginosa*). Os autores inferiram que os óleos obtidos das três espécies apresentaram atividade antibacteriana para todas as cepas avaliadas, com exceção da *Escherichia coli*, cujo crescimento só foi inibido pelo óleo extraído de *C. zeylanicum*.

No que diz respeito à família Acanthaceae, Vasconcelos (2014) avaliou o efeito antibacteriano dos óleos essenciais das partes aéreas de duas espécies do segundo maior gênero da família: *Ruellia*. Os óleos essenciais de *R. asperula* e *R. paniculata* demonstraram atividade in vitro contra duas bactérias relevantes no processo cariogênico: *Streptococcus oralis* e *Streptococcus sobrinus*, e contra *Pseudomonas aeruginosa*, um dos patógenos mais frequentemente relacionados às infecções hospitalares. A autora verificou ainda que o óleo essencial de *R. paniculata* exerceu o melhor efeito entre os óleos testados, ocasionando a inibição do crescimento planctônico, bem como a eliminação de células do biofilme de *S. oralis*.

Conforme apresentado anteriormente, apesar de inúmeros os relatos da atividade antibacteriana de óleos essenciais obtidos de diversas espécies vegetais, inclusive da família Acanthaceae, não foram encontrados trabalhos descritos na literatura que avaliassem a atividade antibacteriana do óleo essencial de *Justicia pectoralis* a fim de gerar dados comparativos com o presente estudo. Por outro lado, a atividade tripanocida do óleo da referida espécie medicinal foi testada por Borges (2012). O autor verificou que o óleo foi capaz de inibir o crescimento de formas epimastigotas e causar perda da viabilidade de formas tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi* de maneira significativa.

Dentre os compostos majoritários do óleo essencial de *J. pectoralis*, estão os sesquiterpenos beta-bourboneno e E-cariofileno (conforme elucidado no capítulo 3 desta dissertação). Óleos essenciais de plantas, que também apresentaram o beta-bourboneno entre os seus majoritários, tiveram sua atividade antimicrobiana investigada:

Bougatsos et al. (2004) testaram o efeito inibitório do óleo essencial obtido das partes aéreas de duas espécies de *Helichrysum* (*H. cymosum* e *H. fulgidum*), coletadas na Tanzânia, sobre seis cepas bacterianas (2 gram-positivas: *Staphylococcus aureus* e *S.*

epidermidis; e 4 gram-negativas: *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*). Os autores verificaram que as bactérias gram-positivas apresentaram maior susceptibilidade e que o óleo de *H. fulgidum* exibia uma atividade antimicrobiana mais significativa que o óleo de *H. cymosum* frente aos microrganismos testados.

O óleo, contendo 8,51% de beta-bourboneno, de *Centaurea ensiformis*, endêmica da Turquia, foi avaliado quanto à sua atividade antimicrobiana por Ugur et al. (2007), apresentando efeito inibitório sobre o crescimento frente às bactérias testadas, assim como no estudo de Liu et al. (2009), com o óleo de *Phyllanthus emblica*, onde o beta-bourboneno também aparece entre os compostos majoritários. A atividade antimicrobiana do óleo da planta foi verificada mostrando amplo espectro de atividade contra todos os microrganismos testados, especialmente para as bactérias Gram-positivas.

Bertini et al. (2005) analisaram a composição química do óleo essencial de cinco plantas (*Campylocentrum zehntneri*, *Croton argyrophyloides*, *Croton sonderianus*, *Cymbopogon citratus*, *Lippia sidoides*) de ocorrência no nordeste brasileiro. O E-cariofileno foi elucidado, assim como em *J. pectoralis*, como um dos compostos majoritários do óleo da espécie *C. sonderianus*, que teve sua atividade antibacteriana avaliada, demonstrando efeito inibitório sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Diante destas informações, pode-se inferir que os compostos beta-bourboneno e E-cariofileno, presentes no óleo essencial de *J. pectoralis*, contribuíram ou foram os responsáveis pela ação antibacteriana do óleo demonstrada neste trabalho uma vez que, segundo Lambert et al. (2001), na composição dos óleos essenciais, existem compostos que apresentam maior atividade antimicrobiana. Porém, a mistura de dois ou mais compostos, em quantidades adequadas, podem apresentar melhor atividade frente a microrganismos mais resistentes. Além disso, o sinergismo entre os constituintes presentes no óleo essencial deve ser considerado (ROCHA, 2013).

Neste sentido, os monoterpenos (isopulegol e iso-isopulegol) também elucidados (no capítulo 3 desta dissertação) como compostos majoritários no óleo essencial de *J. pectoralis*, podem ter contribuído para ação antimicrobiana do óleo desta espécie medicinal verificada neste estudo. Isto porque, de acordo com Valeriano et al. (2012), os monoterpenos apresentam ação antimicrobiana pelo efeito tóxico que promovem na estrutura e função da membrana celular. Como resultado do caráter lipofílico, os monoterpenos irão, preferencialmente, se deslocar da fase aquosa em direção às estruturas da membrana, o que resulta em expansão, aumento da fluidez e permeabilidade da membrana, desordenando as

proteínas embebidas, inibindo a respiração e alterando o processo de transporte de íons. Dessa forma, danos estruturais à membrana citoplasmática levam ao comprometimento das funções, como barreira seletiva, local de ação enzimática e geração de energia (TROMBETTA et al., 2005).

Embora haja exceções, bactérias gram-positivas, geralmente, são mais susceptíveis aos compostos lipofílicos dos óleos essenciais do que bactérias gram-negativas (VALERIANO et al., 2012), como verificado nos trabalhos de Bougatsos et al. (2004) e Liu et al. (2009). Este fato também foi observado neste estudo, uma vez que o óleo de *J. pectoralis* foi capaz de inibir o crescimento das cepas de bactérias gram-positivas (*S. aureus* e *S. epidermidis*) testadas, mas exerceu ação antibacteriana sobre apenas uma cepa de gram-negativa (*P. aeruginosa*), sendo inativo sobre a de *E. coli*. Essa susceptibilidade, segundo Gutierrez, Barry-Ryan e Bourke (2009), deve-se ao fato de que a parede celular de bactérias gram-negativas é rica em polissacarídeos o que dificulta a penetração das substâncias antimicrobianas lipofílicas dos óleos, pois existe uma barreira hidrofílica que impede a passagem de macromoléculas e combinações hidrofóbicas, embora não seja totalmente impermeável. Devido a isso, as bactérias gram-positivas são relativamente mais resistentes a combinações de antibióticos hidrofóbicos e drogas tóxicas (OLIVEIRA et al., 2011).

Convém ressaltar que, apesar de inexistentes na literatura estudos sobre atividade antibacteriana do óleo essencial de *J. pectoralis*, conforme já mencionado neste trabalho, pesquisas que avaliaram a ação antibacteriana dos extratos aquoso e orgânicos, obtidos desta espécie, já foram realizadas a saber:

Foi observado, por Chariandy et al. (1999), em ensaio de triagem de plantas medicinais com propriedades antimicrobianas realizado em Trinidad e Tobago, que a fração éter de petróleo, do extrato de *J. pectoralis*, apresentou atividade antimicrobiana acentuada contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* e *Salmonella typhimurium*, e a fração acetato de etila para *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. typhimurium*.

Vera et al. (2007) avaliaram a atividade antibacteriana do extrato aquoso e orgânico (acetato de etila e etanol) de *J. pectoralis* cultivadas em Tolima, Colômbia. Para os extratos testados, registrou-se um único halo de inibição sobre *S. aureus* correspondente à fração acetato de etila. O extrato aquoso de *J. pectoralis*, cultivada em Sobral no Ceará, também teve sua ação antibacteriana analisada por Furtado et al. (2015) que não apresentou atividade inibitória sobre as cepas bacterianas (*E. coli*, *S. aureus* e *K. pneumoniae*) testadas.

Diante destes resultados, os autores destes estudos concluíram que os metabólitos secundários responsáveis pela atividade antibacteriana de *J. pectoralis* são, em sua maioria, de caráter apolar, de modo que o ineficaz efeito inibitório do extrato aquoso dessa espécie, sobre o crescimento de bactérias, pode indicar que os componentes presentes nestes extratos são de natureza polar e, sugerem ainda, uma possível diferença na composição fitoquímica relacionada com o local de coleta. Portanto, recomenda-se empregar solventes de menor polaridade, para obtenção de extratos a partir de *J. pectoralis*, quando se for avaliar a atividade antimicrobiana.

5. Considerações Finais:

Conclui-se 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 *S. epidermidis*.

Sugere-se a continuidade nos estudos que avaliem a atividade antibacteriana do óleo, extraído dessa espécie medicinal, em outras concentrações, bem como utilizando-se outras formas de extratos e com emprego de microrganismos oriundos de um espectro mais amplo de infecções, que deverão fornecer resultados que indiquem de maneira mais precisa a real aplicabilidade desses extratos. Além disso, faz-se necessário a realização de estudos toxicológicos adequados para verificar a possibilidade do uso seguro dos mesmos no combate a infecções frente a esses microrganismos.

Apesar de incipiente, este trabalho pode abrir perspectivas no sentido de desenvolver um fitoterápico eficaz e de baixo custo, podendo ser usado no tratamento de doenças infecciosas como uma alternativa aos antibióticos sintéticos.

Referências Bibliográficas:

ALVARENDA, F. Q., ROYO, V. A., MOTA, B. F. C., LAURENTIZ, R. S., MENEZES, E.V., MELO JÚNIOR, A. F., OLIVEIRA, D. A. Atividade Antinociceptiva e Antimicrobiana

da Casca do Caule de *Psidium Cattleyanum* Sabine. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 4, supl. III, p.1125-1133, 2015.

ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. das G.; BATISTA, L. R.; MALLET, A. C.; MACHADO, S. M. F. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.

BARROS, E.; MACHADO, A.; SPRINZ, E.; Col. **Antimicrobianos**: consulta rápida. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2001.

BERTINI, L. M.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, C. L. de L.; MENEZES, E. A.; MORAIS, S. M. de; CUNHA, F. A.; CAVALCANTI, E. S. B. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do Nordeste do Brasil. **Infarma**, v. 17, n. 3/4, p. 80-83, 2005.

BORGES, A. R. **Estudo da atividade biológica de óleos essenciais de plantas medicinais do nordeste brasileiro sobre *Trypanosoma cruzi***. 2012. 118 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública), Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2012.

BOUGATSOS, C.; NGASSAPA, O.; RUNYORO, D. K.; CHINOU, I. B. Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oils of two *Helichrysum* species from Tanzania. **Z Naturforsch C.**, v. 59, n. 5-6, p. 368-372, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – **Anvisa**. Teste de sensibilidade aos antimicrobianos – módulo 5 - 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo5/interp_retacao3.htm. Acesso em: 02 jan. 2017.

BRESOLIN, T. M. B.; CECHINEL FILHO, V. **Fármacos e medicamentos: uma abordagem multidisciplinar**. São Paulo -Santos: Santos. 2010. 416 p.

CATTOIR, V.; DAURELL, C. Quelles nouveautés en antibiothérapie? **Médecine et maladies infectieuses**, v. 40, p. 135-154, 2010.

CHAIEB, K.; ZMANTAR, T.; KSOURI, R.; HAJLAOUI, H.; MAHDOUANI, K.; ABDELLY, C.; BAKHROUF, A. Antioxidant properties of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* and its antifungal activity against a large number of clinical *Candida* species. **Mycoses**, v. 50, p. 403-406, 2007.

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.

CHATTERJEE, S. K.; BHATTACHARJEE, I.; CHANDRA, G. Isolation and identification of bioactive antibacterial components in leaf extracts of *Vangueria spinosa* (Rubiaceae). **Asian. Pac. J. Trop. Med.**, v. 4, n. 1, p. 35-40, 2011.

CHAUL, L. T. **Caracterização e determinação da atividade antimicrobiana dos extratos brutos e frações de *Rosmarinus officinalis* Linn. (alecrim), *Origanum vulgare* Linn.**

(orégano), *Capsicum chinense* Jacq. (pimenta habanero). 2015. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard. 6th edn. Document M7-A6, v. 23, n. 2 (ISBN 1-56238-486-4). Wayne, Pensilvânia -USA, 2010.

CORRÊA, G. M. **Estudo fitoquímico de *Justicia acuminatissima* (Acanthaceae): caracterização química, avaliação biológica, contaminação fúngica e detecção de produtos radiolíticos**. 2013. 160 f. Tese (Doutorado em Ciências-Química), Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

CORRÊA, G. M.; ALCÂNTARA, A. F. de C. Chemical constituents and biological activities of species of *Justicia* - a review. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn**, v. 22, n. 1, p. 220-238, jan./feb. 2012.

ESTANISLAU, A. A.; BARROS, F. A. S.; PEÑA, A. P.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 95-100, 2001.

FONSECA, F. N. **Desenvolvimento tecnológico de fitoproduto a partir de *Justicia pectoralis* – chambá: obtenção do extrato seco padronizado (CLAE-DAD) e avaliação farmacológica**. 2009. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

FURTADO, J. M.; AMORIM, Á. da S.; FERNANDES; M. V. de M.; OLIVEIRA, M. A. S. Atividade Antimicrobiana do Extrato Aquoso de *Eucalyptus globulus*, *Justicia pectoralis* e *Cymbopogon citratus* frente a Bactérias de Interesse. **UNOPAR - Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 17, n. 4, p. 233-237, 2015.

GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: efficacy, synergistic potential and interactions with food components. **Food Microbiology**, v. 26, n. 2, p. 142–150, 2009.

HASSAN, B. A. R. Medicinal plants (Importance and uses). **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 3, issue 10, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4172/2153-2435.1000e139>. Acesso em: 28 dez. 2016.

HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V.; SIMÕES, C. M. O. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 167 – 184.

HELFAND, M. S.; BONOMO, R. A. Current challenges in antimicrobial chemotherapy: the impact of extended-spectrum β -lactamases and metallo- β -lactamases on the treatment of

resistant Gram-negative pathogens. **Current Opinion In Pharmacology**, v. 5, p. 452-458, 2005.

HOLETZ, F. B., PESSINI, G. L., SANCHES, N. R., CORTEZ, D. A. G., NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian Folk Medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

KAMRUZZAMAN, M.; BARI, S. M.; FARUQUE, S. M. In vitro and in vivo bactericidal activity of *Vitex negundo* leaf extract against diverse multidrug resistant enteric bacterial pathogens. **Asian. Pac. J. Trop. Med.**, v. 6, n. 5, p. 352-359, 2013.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J.; NYCHAS, G. J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 453-462, 2001.

LENNETTE, E. H.; BALOWS, A.; HAUSLER, W. J.; SHADOMY, H. J. **Manual of Clinical Microbiology**. American Society for Microbiology: Washington, D. C., 1985. 1149 p.

LIN, J.; DOU, J.; XU, J.; AISA, H. A. Chemical composition, antimicrobial and antitumor activities of the essential oils and crude extracts of *Euphorbia macrorrhiza*. **Molecules**, v. 17, n. 5, p. 5030-5039, 2012.

LINHARES, J. H. **Avaliação da eficácia terapêutica do xarope composto por *Justicia pectoralis*, *Plectranthus amboinicus* e *Mentha arvensis* na asma**. 2012. 85 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Departamento de Cirurgia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

LIU, X.; ZHAO, M.; LUO, W.; YANG, B.; JIANG, Y. Identification of volatile components in *Phyllanthus emblica* L. and their antimicrobial activity. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 2, p. 423-428, 2009.

MAGINA, M.D.A.; DALMARCO, E.M.; WISNIEWSKI JR, A.; SIMIONATTO, E.L.; DALMARCO, J.B.; PIZZOLATTI, M.G.; BRIGHENTE, I.M.C. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species. **Journal of Natural Medicines**, v. 63, p. 345-350, 2009.

MARIATH, I. R.; FALCÃO, H. de S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SOUSA, L. C. F.; TOMAZ, A. C. de A.; BATISTA, L. M.; DINIZ, M. de F. M.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; CUNHA, E. V. L. da. Plants of the American continent with antimalarial activity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 1A, p. 158-192, 2009.

MBOSSO, E. J. T.; NOGOUELA, S.; NGUEDIA, J. C. A.; BENG, V. P.; ROHMER, M.; TSAMO, E. In vitro antimicrobial activity of extracts and compounds of some selected medicinal plants from Cameroon. **J Ethnopharmacol.**, v. 128, n. 2, p. 476-481, 2010.

MEYER, A. L. Prospects and challenges of developing new agents for tough Gram-negatives. **Current Opinion In Pharmacology**, v. 5, p. 490-494, 2005.

NAIR, R.; CHANDA, S. *In-vitro* antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. leaf extracts against clinically important pathogenic microbial strains. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 452-458, 2007.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.

OLIVEIRA, T. L. C.; SOARES, R. de A. S.; RAMOS; E. M.; CARDOSO; M. da G.; ALVES, E.; PICCOLI, R. H. Antimicrobial activity of *Satureja montana* L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 3, p. 546-555, 2011.

PALOMBO, E. A. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. **eCAM**, Jul. 2009. DOI:10.1093/ecam/nep067.

PAULA, J. A. M. de. **Fitoquímica e atividades biológicas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L. R. Landrum (Myrtaceae)**. 2011. 247 f. Tese (Doutorado em Biologia), Programa de Pós-graduação em Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2011.

PEREIRA, C. K. B. **Estudo químico e atividades microbiológicas de espécies do gênero *Psidium* (Myrtaceae)**. 2010. 120 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Bioprospeção Molecular. Universidade Regional de Cariri, Cariri, CE, 2010.

PEREIRA, R. S.; SUMITA, T. C.; FURLAN; M. R.; JORGE; A. O. C.; UENO, M. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Rev Saúde Pública**, n. 38, v. 2, p. 326-328, 2004.

RASOOLI, I.; SHAYEGH, S.; ASTANEH, S. D. A. The effect of *Mentha spicata* and *Eucalyptus camaldulensis* essential oils on dental biofilm. **Int. J. Dent. Hygiene**, v. 7, n. 3, p. 96-203, 2009.

ROCHA, B. C. A. da. **Extração e caracterização do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*)**. 2013. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Engenharia Química), Instituto de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Curso de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, RJ, 2013.

SALVAT, A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R. H., et al. Screening of some plants from North Argentin for their antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**, v. 32, n. 5, p. 293-297, 2001.

SAMY, R. P.; GOPALAKRISHNAKONE, P. Therapeutic potential of plants as antimicrobials for drug discovery. **eCAM**, v. 7, n. 3, p. 283-294, 2010.

SARKER, S. D.; NAHAR, L.; KUMARASAMY, Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, v. 42, p. 321– 24, 2007.

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M. C. T.; GODOY, H. T. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de Cravo-da-índia, Citronela e Palmarosa. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 442-449, 2009.

SILVA, J. O.; COSTA, P. P.; CHINARELLI, S. H. R. Manutenção de leveduras por congelamento a -200°C. **RBAC**, v. 40, n. 1, p. 73-74, 2008.

SILVA, S. M. M. da. **Avaliação da atividade antimicrobiana de espécies vegetais do bioma Cerrado**. 2013. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, UnB, Brasília, DF, 2013.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

TROMBETTA, D.; CASTELLI, F.; SARPIETRO, M. G.; VENUTI, V.; CRISTANI, M.; DANIELE, C.; SAIJA, A.; MAZZANTI, G.; BISIGNANO, G. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 6, p. 2474-2478, 2005.

UGUR, A.; DURU, M. E.; CEYLAN, O.; SARAC, N.; VAROL, O.; KIVRAK, I. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Centaurea ensiformis* Hub.-Mor. (Asteraceae), a species endemic to Mugla (Turkey). **Nat Prod Res.**, v. 23, p. 149-167, 2007.

VALERIANO, C.; PICCOLI, R. H.; CARDOSO, M. G.; ALVES, E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Rev. bras. plantas med.**, v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012.

VASCONCELOS, A. A. **Composição química e avaliação do potencial antimicrobiano dos óleos essenciais de *Ruellia asperula* (Mart. ex Ness) Lindau e *Ruellia paniculata* L. (ACANTHACEAE)**. 2014. 90 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, 2014.

VERA, J. R.; PASTRANA, P. F.; FERNÁNDEZ, K.; VIÑA, A. Actividad antimicrobiana in vitro de volátiles y no volátiles de *Lippia alba* y extractos orgánicos y acuoso de *Justicia pectoralis* cultivadas en diferentes pisos termicos del departamento del Tolima. **Scientia et Technica - UTP**. ISSN 0122-1701, Año XIII, n. 33, 2007.

VERDAM, M. C. S. **Estudo farmacognóstico e abordagem farmacológica de *J. acuminatissima* (Miq.) Bremek (Acanthaceae)**, 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Tropical), Universidade Federal do Amazonas, UFMA, Manaus, 2009.

