

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Química - Câmpus de Araraquara

KAROLINA EDUARDA RUIZ GOMES

**ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO VISANDO A DESCOBERTA DE
COMPOSTOS CANABIMIMÉTICOS ATRAVÉS DA METABOLÔMICA
BASEADA EM ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Ian Castro-Gamboa

Araraquara

2024

G633e Gomes, Karolina Eduarda Ruiz
Estudo etnofarmacológico visando a descoberta de compostos canabimiméticos através da metabolômica baseada em espectrometria de massas / Karolina Eduarda Ruiz Gomes.
-- Araraquara, 2024
101 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara
Orientador: Ian Castro Gamboa

1. Química orgânica. 2. Etnofarmacologia. 3. Metabolômica. 4. Canabinóides. 5. Espectrômetria de massas. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Os principais impactos potenciais incluem: A identificação de compostos com propriedades farmacológicas significativas, como anti-inflamatórias, antioxidantes e neuroprotetoras, abre novas perspectivas para o desenvolvimento de medicamentos mais eficazes e seguros. Esses compostos podem servir como protótipos ou moléculas líderes para a criação de novos tratamentos para diversas doenças, incluindo inflamações crônicas, distúrbios neurodegenerativos e condições relacionadas ao estresse oxidativo.

A integração de práticas etnofarmacológicas com a pesquisa científica moderna contribui para a valorização e preservação do conhecimento tradicional das comunidades quilombolas. Este reconhecimento pode incentivar a documentação e conservação dessas práticas, promovendo o respeito pela cultura e sabedoria ancestral. Além disso, pode proporcionar benefícios econômicos às comunidades locais através do biocomércio e da propriedade intelectual.

O uso de técnicas avançadas de metabolômica, como a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (LC-HRMS), demonstra a eficácia dessas abordagens na identificação de compostos bioativos. Isso pode incentivar mais pesquisas na área de produtos naturais, levando a avanços tecnológicos e metodológicos na análise química de plantas medicinais e outros produtos naturais.

Os compostos identificados com propriedades bioativas podem encontrar aplicação não apenas na indústria farmacêutica, mas também na indústria cosmética. Ingredientes naturais com atividades antioxidantes e anti-inflamatórias são altamente valorizados para o desenvolvimento de produtos cosméticos, incluindo cremes anti-envelhecimento, protetores solares e produtos para cuidados com a pele.

Além do mais, a pesquisa identificou diversos compostos bioativos que, embora ainda não tenham sido descritos como interagindo diretamente com o SEC, possuem estruturas químicas que podem ser exploradas para potencial atividade canabimimética. A caracterização desses compostos pode levar à descoberta de novos canabimiméticos naturais que possam atuar nos receptores canabinoides CB1 e CB2, oferecendo alternativas naturais aos canabinoides sintéticos.

Em suma, a pesquisa sobre os compostos bioativos das plantas utilizadas no cigarro "tira-capeta" tem o potencial de gerar impactos significativos em diversas áreas. Ao valorizar o conhecimento tradicional e utilizar técnicas avançadas de análise, este estudo contribui para o desenvolvimento de novos medicamentos, a preservação cultural e avanços científicos e tecnológicos. A continuidade dessa linha de pesquisa pode abrir novos caminhos para a saúde pública e a indústria, beneficiando tanto as comunidades locais quanto a sociedade em geral.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The main potential impacts include: The identification of compounds with significant pharmacological properties, such as anti-inflammatory, antioxidant, and neuroprotective effects, opens new perspectives for the development of more effective and safer medications. These compounds can serve as prototypes or lead molecules for the creation of new treatments for various diseases, including chronic inflammations, neurodegenerative disorders, and conditions related to oxidative stress.

The integration of ethnopharmacological practices with modern scientific research contributes to the valorization and preservation of the traditional knowledge of quilombola communities. This recognition can encourage the documentation and conservation of these practices, promoting respect for culture and ancestral wisdom. Additionally, it can provide economic benefits to local communities through biotrade and intellectual property.

The use of advanced metabolomics techniques, such as liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry (LC-HRMS), demonstrates the effectiveness of these approaches in identifying bioactive compounds. This can encourage more research in the field of natural products, leading to technological and methodological advances in the chemical analysis of medicinal plants and other natural products.

The identified compounds with bioactive properties can find applications not only in the pharmaceutical industry but also in the cosmetic industry. Natural ingredients with antioxidant and anti-inflammatory activities are highly valued for the development of cosmetic products, including anti-aging creams, sunscreens, and skin care products.

Furthermore, the research identified various bioactive compounds that, although not yet described as directly interacting with the endocannabinoid system (SEC), have chemical structures that can be explored for potential cannabimimetic activity. Characterizing these compounds can lead to the discovery of new natural cannabimimetics that can act on the CB1 and CB2 cannabinoid receptors, offering natural alternatives to synthetic cannabinoids.

In summary, the research on the bioactive compounds of the plants used in the "tira-capeta" cigarette has the potential to generate significant impacts in various

areas. By valuing traditional knowledge and utilizing advanced analytical techniques, this study contributes to the development of new medications, cultural preservation, and scientific and technological advancements. The continuation of this research line can open new pathways for public health and industry, benefiting both local communities and society at large.


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Estudo etnofarmacológico visando a descoberta de compostos canabimiméticos através da metabolômica baseada em espectrometria de massas"

AUTORA: KAROLINA EDUARDA RUIZ GOMES

ORIENTADOR: IAN CASTRO GAMBOA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Biotecnologia, pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 IAN CASTRO GAMBOA
Data: 05/08/2024 11:28:12-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. IAN CASTRO GAMBOA (Participação Virtual)
Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química – UNESP – Araraquara

Profa. Dra. DEBORA CRISTINA BALDOQUI (Participação Virtual)
Departamento de Química / Universidade Estadual de Maringá - UEM - Maringá

Profa. Dra. MARILIA VALLI (Participação Virtual)
Ciências Farmacêuticas / Universidade de São Paulo

Araraquara, 05 de agosto de 2024

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Karolina Eduarda Ruiz Gomes

Nacionalidade: Brasileira

ENDREÇO PROFISSIONAL: Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Campus de Araraquara. Departamento: NuBBE - Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica e Química Orgânica (DBQO), Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Rua Prof. Francisco Degni, 55 - Araraquara - SP, CEP: 14081-970, SP - Brasil.

Telefone: (16) 3301-9500

Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6615934916233505>

Endereço Eletrônico: karolina.ruiz@unesp.br

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2017 – 2022

Graduação: Licenciada em Ciências Biológicas.

Instituição: Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – Campus de Três Lagoas.

Título da Monografia: Importância das análises cromatográficas e moleculares para o diagnóstico das hemoglobinas Hb “D-like”.

Orientador: Prof. Dr. Edis Belini Junior.

2022 -2024

Mestrado: Biotecnologia.

Instituição: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara - SP.

Título da dissertação: Estudo etnofarmacológico visando a descoberta de

compostos canabimiméticos através da metabolômica baseada em Espectrometria de Massas.

Orientador: Prof. Dr. Ian Castro-Gamboa.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Trabalhos ou resumos em eventos científicos

Karolina Eduarda Ruiz Gomes; Ian Castro-Gamboa. Molecular network reveals the chemical profile of Brazilian plants used in “fumo Tira-Capeta”. In: PROCEEDINGS OF THE 9TH BRAZILIAN CONFERENCE ON NATURAL PRODUCT/ XXXV RESEM, 2023, Salvador. Anais eletrônicos... Campinas, Galoá, 2023. Disponível em: <<https://proceedings.science/bcnp-series/bcnp-2023/trabalhos/molecular-network-reveals-the-chemical-profile-of-brazilian-plants-used-in-fumo?lang=en>> Acesso em: 19 Jul. 2024.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

- 9TH BCNP Brazilian Conference On Natural Products XXXV RESEM – Salvador – BA, 2023.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Alessandra, cuja dedicação, amor e suporte incondicionais foram essenciais para que eu pudesse chegar até aqui. Ao meu pai Ozias, que sempre acreditou em mim e me incentivou a seguir meus sonhos. Aos meus irmãos, André, Bruno e Gabriel, por serem minha base e inspiração constante. À minha sobrinha Alice, que traz alegria e luz aos meus dias. À minha avó Aparecida, por sua sabedoria e amor que sempre me guiaram.

Ao meu namorado Guilherme, pelo amor, paciência e apoio inabaláveis durante toda essa jornada. A todos os meus amigos do NuBBE, em especial, Ana Letícia, Lucas e Marcelino, por compartilharem conhecimento, risadas e desafios, tornando esta experiência mais rica e gratificante.

Aos funcionários e técnicos do Instituto de Química da UNESP de Araraquara, cujo trabalho dedicado e incansável foi fundamental para a realização deste estudo. Às minhas amigas da República Aperitivos, com quem morei por dois anos e compartilhei momentos inesquecíveis de companheirismo e diversão. Em especial, Hillary e Aline, por todos os momentos juntas.

E, principalmente, ao meu orientador Ian Castro-Gamboa, por sua orientação sábia, paciência e apoio crucial, sem os quais esta dissertação não seria possível.

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

Nos caminhos ocultos,
Encontramos a nós mesmos,
Perdidos no desconhecido,
Descobrimos novos céus.
(Pablo Neruda)

RESUMO

As plantas têm sido utilizadas para diversos propósitos desde o início da história humana. Nesse contexto, a etnofarmacologia surge como uma disciplina essencial para entender e validar o uso de plantas em tratamentos modernos, pois descobre novos compostos bioativos baseados no conhecimento empírico de populações locais, inspirando o desenvolvimento de novos medicamentos. Muitas plantas possuem compostos canabimiméticos que imitam os canabinoides da *Cannabis sativa*, uma planta utilizada há milênios de forma tradicional desde os primórdios da humanidade para tratar diversas enfermidades. Essa longa história de uso ressalta a importância dos canabinoides para a saúde humana. Este estudo teve como objetivo demonstrar o perfil químico de cinco plantas componentes do fumo "Tira-Capeta": *Syzygium aromaticum*, *Petiveria alliacea*, *Ruta graveolens*, *Allium sativum* e *Eucalyptus globulus*, a fim de encontrar candidatos para serem moduladores do sistema endocanabinoide. Para tal, utilizou-se a metabolômica, especificamente redes moleculares, através da plataforma Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS) a partir de dados obtidos por UPLC-ESI-QqTOF-MS/MS para triar o metaboloma dessas plantas. O software MZmine 2.53 e o modo de análise Feature-Based Molecular Networking (FBMN) foram essenciais para a aplicação da técnica de redes moleculares. Foi identificada uma variedade de compostos bioativos pertencentes a diferentes classes químicas, como alcaloides, cumarinas, flavonoides e ácidos fenólicos. Entre os compostos anotados estão skimmianina, γ -fagarine, xantotoxina, isopscilina, arborinina, rutamarina, quinonlactacina A, chalepensina, feoforbide A, ácido neoclorogênico, isorhamnetina-3-O-glicosídeo, 3,7-di-O-metilquercetina, luteolina, 3',6-disinapoilsacarose e ácido 3-p-cumaroilquínico. A continuação desta pesquisa, incluindo estudos de caracterização e bioatividade, será essencial para validar a eficácia dos compostos identificados, ampliando assim o potencial terapêutico dos canabimiméticos. Este trabalho reforça a importância da interface entre a ciência moderna e o conhecimento tradicional, promovendo a descoberta de novos medicamentos que podem beneficiar a saúde global.

Palavras-chave: molecular networking; metabolômica; canabimiméticos; GNPS.

ABSTRACT

Plants have been used for various purposes since the beginning of human history. In this context, ethnopharmacology emerges as an essential discipline to understand and validate the use of plants in modern treatments, discovering new bioactive compounds based on the empirical knowledge of local populations, inspiring the development of new drugs. Many plants contain cannabimimetic compounds that mimic the cannabinoids of *Cannabis sativa*, a plant traditionally used for millennia since the dawn of humanity to treat various ailments. This long history of use highlights the importance of cannabinoids for human health. This study aimed to demonstrate the chemical profile of five plants that are components of the "Tira-Capeta" smoke: *Syzygium aromaticum*, *Petiveria alliacea*, *Ruta graveolens*, *Allium sativum*, and *Eucalyptus globulus*, in order to find candidates to be modulators of the endocannabinoid system. To this end, metabolomics was used, specifically molecular networks through the platform Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS) from data obtained by UPLC-ESI-QqTOF-MS/MS to screen the metabolome of these plants. The software MZmine 2.53 and the Feature-Based Molecular Networking (FBMN) analysis mode were essential for the application of the molecular networking technique. A variety of bioactive compounds belonging to different chemical classes, such as alkaloids, coumarins, flavonoids, and phenolic acids, were annotated. Among the annotated compounds are skimmianine, γ -fagarine, xanthotoxin, isopsciline, arborinine, rutamarin alcohol, quinonlactacin A, chalepensis, pheophorbide A, neochlorogenic acid, isorhamnetin-3-O-glycoside, 3,7-di-O-methylquercetin, luteolin, 3',6-disinapoylsucrose, and 3-p-coumaroylquinic acid. The continuation of this research, including characterization and bioactivity studies, will be essential to validate the efficacy of the identified compounds, thus expanding the therapeutic potential of cannabimimetics. This work reinforces the importance of the interface between modern science and traditional knowledge, promoting the discovery of new drugs that can benefit global health.

Keywords: molecular networking; metabolomics; cannabimimetics, GNPS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química de fármacos de origem natural: estricnina (1), quinina (2), colchicina (3), atropina (4), papaverina (5) e salicina (6).	22
Figura 2. Pai de santo Cezário, do quilombo de Sesmaria/Mata-Cavalo no município mato-grossense de Nossa Senhora do Livramento macerando e preparando o cigarro aromático (“tira-capeta”).	24
Figura 3. Estrutura química dos compostos cineol (1), cânfora (2) e alfa-pineno (3).	24
Figura 4. Compostos encontrados na <i>C. sativa</i> : 1. Delta9 - Tetrahydrocannabinol, 2. Canabidiol, 3. Canabivarina, 4. Canabigerol e 5. Canabinol.....	25
Figura 5. Esquema apresentando o fluxo de trabalho em estudos metabólicos.....	26
Figura 6. Sistema endocanabinoide.....	28
Figura 7. Estrutura dos endocanabinoides naturais clássicos: araquidonoiletanolamina (anandamida ou AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG)	29
Figura 8. Estrutura do 18 β -Ácido-glicirrhético.	31
Figura 9. Estrutura do ácido betulínico.....	31
Figura 10. Estrutura da α -amirina (1) e β -amirina (2).....	32
Figura 11. Estrutura dos compostos curcumina (1), quercetina (2), N-benziloleamidas (3) e Epigallocatequina galato(4).	33
Figura 12. Ramos de <i>E. globulus</i> Labill.....	35
Figura 13. Estrutura dos compostos α -pineno (1), β -pineno (2), β -cariofileno (3) e 1,8-cineol (4).....	36
Figura 14. Folhas e flores de <i>Ruta graveolens</i>	37
Figura 15. Estrutura dos compostos psoraleno (1) e 8-O-metoxipsoraleno (2).	40
Figura 16. Estrutura do composto Rutina.....	41
Figura 17. Folhas e botões florais de <i>S. aromaticum</i>	44
Figura 18. Botões florais secos, também chamados de cravo.....	44
Figura 19. Estrutura dos compostos eugenol (1) ácido ferúlico (2), ácido cafeico (3), ácido elágico (4) e ácido salicílico (5).....	47
Figura 20. Folhas e inflorescência de <i>P. alliaceae</i>	49

Figura 21. Estrutura dos compostos dibenzil sulfeto (1), benzil hidroximetil sulfeto (2), dibenzil dissulfeto (3), di-n-propil dissulfeto (4) e DTS (5).	50
Figura 22. Bulbos de <i>A. sativum</i>	55
Figura 23. Estrutura química dos compostos alicina (1), sulfetos dissulfeto de dialil (2), E-ajoeno (3), Z-ajoeno (4), e trissulfeto de dialil (5).	56
Figura 24. Esquema ilustrativo da estrutura da plataforma GNPS.....	60
Figura 25. Esquema do processo de Clean-up dos extratos etanólicos utilizando um cartucho C18.	64
Figura 26. Esquema do processo de Clean-up dos extratos etanólicos utilizando um cartucho C18.	70
Figura 27. Molecular networking gerado a partir de dados de MS/MS seguindo o fluxo de trabalho de Feature Based Molecular Networking na plataforma GNPS em modo positivo e organizados utilizando o software Cytoscape.....	71
Figura 28. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 260,0918 pode ser o composto Skimianina e sua estrutura.	74
Figura 29. Proposta de fragmentação do íon m/z 260,0918.	75
Figura 30. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 230,0814 pode ser o composto gama-fagarina, e sua estrutura.....	76
Figura 31. Proposta de fragmentação do íon m/z 230,0814.	76
Figura 32. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 217,0498 pode ser o composto xantotoxina e sua estrutura.	77
Figura 33. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 247,0600 pode ser o composto isopiscilina e sua estrutura.	78
Figura 34. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 286,1075 pode ser o composto arborinina e sua estrutura.	79
Figura 35. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 315,1591 pode ser o composto Rutamarin álcool e sua estrutura.....	80
Figura 36. Proposta de fragmentação do íon m/z 315,1591.	80

Figura 37. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 255,1017 pode ser o composto chalepentina e sua estrutura.	81
Figura 38. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 271,1442 pode ser o composto quinolactain A e sua estrutura.	82
Figura 39. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 593,2770 pode ser o composto feoforbide A e sua estrutura.	83
Figura 40. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 353,0863 pode ser composto ácido neoclorogênico e sua estrutura.....	84
Figura 41. Proposta de fragmentação do íon m/z 353,0863.	84
Figura 42. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 477,1034 pode ser composto Isorhainetina-3-O- glicosídeo e sua estrutura.....	85
Figura 43. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 329,0654 pode ser composto 3,7-Di-O-metilquercetina e sua estrutura.....	86
Figura 44. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 285,0392 pode ser composto luteolina e sua estrutura.....	86
Figura 45. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 753,2247 pode ser composto 3,6'-Disinapóilsacarose e sua estrutura.....	87
Figura 46. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 337,0913 pode ser composto ácido 3-p-cumaroilquínico e sua estrutura.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Materiais e solventes.....	62
Tabela 2. Peso dos extratos após a extração com EtOH.....	63
Tabela 3. Resultado das análises de dados MS/MS (modo positivo e negativo) dos extratos brutos das plantas <i>Syzygium aromaticum</i> , <i>Petiveria alliaceae</i> L., <i>Ruta graveolens</i> L., <i>Eucalyptus globulus</i> e <i>Allium sativum</i> L., na plataforma GNPS modo Feature Based Molecular Network.....	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

18 β -AG	18 β -Ácido-glicirrhético
(E)-BCP	(E)- β -cariofileno
2-AG	2-araquidonoilglicerol
i.p.	Administração intraperitoneal
AEA	Anandamida
TRPV1	Canais do potencial receptor transitório vaniloide-1
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
AMPc	Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
MS	Espectrometria de massas
eCBs	Endocanabinoides
NGF	Fator de Crescimento Nervoso
Ft	Fatores de transcrição
FA	Fração acetato
FH	Fração hexânica
FHA	Fração hidroalcoólica
FHAppt	Fração hidroalcoólica precipitada
DAG	Fosfolipase C que gera diacilglicerol
NAPE-PLD	Fosfolipase D específica de N-acilfosfatidiletanolamina
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
FAAH	Hidrolase de amida de ácidos graxos
NF κ B	Kappa B
DAGL	Lipase sn-1-DAG
MTC	Medicina Tradicional Chinesa
miR-27	MicroRNA-27a
MAGL	Monoacilglicerol lipase específica
anandamida ou AEA	N-araquidonoiletanolamina
PKC	Proteína quinase C
MAPK	Proteínoquinasas ativadas por mitógenos
RCBs	Receptores canabinoides
CB1	Receptor canabinoide tipo 1
CB2	Receptor canabinoide tipo 2
GNPS	Redes moleculares geradas

SEC	Sistema endocanabinóide
DTS	Trissulfeto de dibenzila
<i>m/z</i>	Razão massa/carga

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	27
2.1 Sistema endocanabinoide.....	27
2.2 Canabimiméticos	29
2.3 <i>Eucalyptus globulus</i> Labil	34
2.4 <i>Ruta graveolens</i> L.....	37
2.5 <i>Syzygium aromaticum</i> (L.)	43
2.6 <i>Petiveria alliacea</i> L.....	48
2.7 <i>Allium sativum</i> L.....	54
2.8 Ferramentas utilizadas.....	58
2.8.1 Cromatografia líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS) ..	58
2.8.2 Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS)	59
3. OBJETIVOS.....	61
3.1 Objetivo geral.....	61
3.2 Objetivos específicos	61
4. METODOLOGIA	62
4.1 Obtenção do material vegetal	62
4.2 Extração de metabólitos dos materiais vegetais.....	62
4.4 <i>Clean-up</i> dos extratos etanólicos.....	63
4.5 Técnicas para análise do perfil químico.....	64
4.5.1 Cromatografia Líquida acoplada a um Espectrômetro de Massas de alta resolução (UPLC-ESI-QqTOF-MS/MS)	64
4.6 Pré-processamento dos dados utilizando MZmine 2.53	66
4.7 Feature Based Molecular Networking (FBMN).....	67
4.8 Redes Moleculares (GNPS).....	68
5. RESULTADOS.....	68
5.1. Resultado das redes moleculares (GNPS) geradas a partir dos dados de MS/MS obtidos por UPLC-ESI-QqTOF-MS/MS seguindo o fluxo de trabalho de FBMN.....	68
6. CONCLUSÃO	88
REFERÊNCIAS	89

1. INTRODUÇÃO

As plantas têm sido utilizadas para diversos propósitos desde o início da história humana. A evidência escrita mais antiga sobre o uso de plantas para fins medicinais foi encontrada em uma tábua de argila suméria de Nagpur, datada de aproximadamente 5000 anos atrás. Outros registros históricos significativos foram encontrados na Mesopotâmia, Egito, e nas civilizações gregas e islâmicas (Petrovska, 2012). Esses primeiros documentos relataram o uso de cerca de 1000 plantas, incluindo espécies como *Cedrus Duham*, *Commiphora myrrha* Engl., *Cupressus sempervirens* L., *Glycyrrhiza glabra* L., e *Papaver somniferum* L. (Borchardt, 2002). Inicialmente, esses medicamentos eram usados em formas brutas, como pós, chás, tinturas e cataplasmas.

Com o avanço tecnológico, especialmente na primeira parte do século XIX, deu-se início ao isolamento dos componentes ativos das plantas medicinais. A química de produtos naturais teve seu desenvolvimento com o trabalho de Serturmer, que isolou a morfina do ópio em 1803. Posteriormente, ocorreram outros trabalhos similares, resultando no isolamento de substâncias como estricnina (*Strychnos nux vomica*), quinina (*Cinchona officinalis*), colchicina (*Colchicum autumnale*), atropina (*Atropa belladonna*), papaverina (*Papaver somniferum*) e salicina (*Salix* spp.) (Der Marderosian e Beutler 2002; Allen e Hatfield 2004; Siddiqui *et al.*, 2014) (**Figura 1**). O isolamento de compostos, especialmente alcaloides, no século XIX, permitiu o uso de substâncias puras em medicamentos prescritos, proporcionando dosagens mais seguras e eficazes, o que representou uma grande melhoria em comparação com o uso de materiais fitoterápicos brutos.

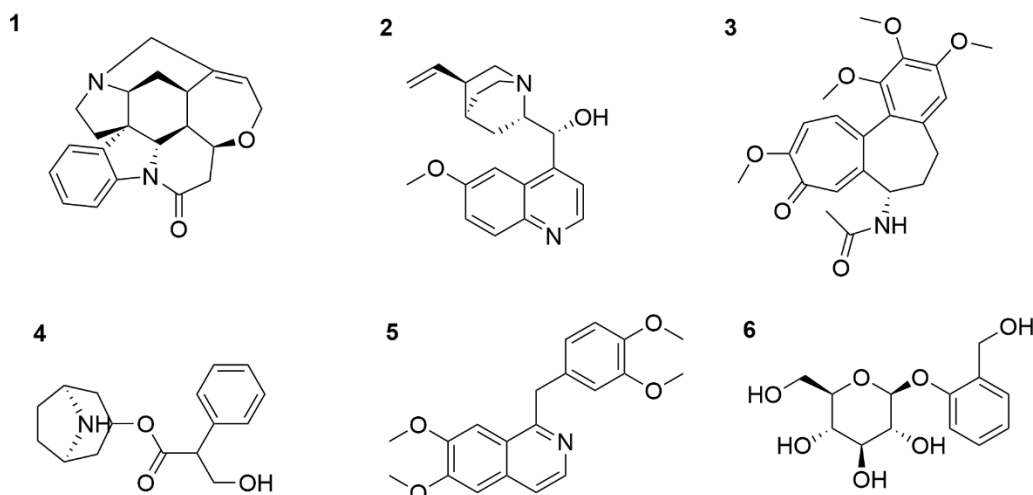


Figura 1. Estrutura química de fármacos de origem natural: estricnina (1), quinina (2), colchicina (3), atropina (4), papaverina (5) e salicina (6).
Fonte: Própria autora (2024).

Nos dias de hoje, o sistema tradicional de medicina baseado no uso de fitoterápicos ainda desempenha um papel importante no sistema de saúde. Nas últimas décadas, as plantas medicinais têm ganhado maior aceitação devido à percepção de que produtos naturais têm menos efeitos colaterais e maior eficácia do que seus equivalentes sintéticos (Abushouk *et al.*, 2017 (a); Abushouk *et al.*, 2017 (b)). Estima-se que cerca de 25% de todos os medicamentos modernos são derivados de plantas superiores de forma direta ou indiretamente (Who, 2005).

Farmacologicamente, muitas plantas possuem atividades bactericidas, virucidas e fungicidas; elas são usadas no embalsamamento, na preservação de alimentos e possuem atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas, espasmolíticas, sedativas, analgésicas e anestésicas locais (Batiha *et al.*, 2018; Beshbishy *et al.*, 2019). Muitas espécies de plantas têm sido relatadas por suas atividades farmacológicas atribuídas aos seus fitoquímicos, como glicosídeos, saponinas, flavonoides, esteróides, taninos, alcaloides e terpenos. Até o momento, os remédios herbais têm sido documentados como uma fonte indispensável para a descoberta de novas moléculas farmacêuticas utilizadas no tratamento de doenças graves. Esses fitoquímicos identificados têm sido considerados compostos líderes notáveis na busca por medicamentos eficazes e novos (Beshbishy *et al.*, 2019).

A etnofarmacologia, que estuda as práticas medicinais tradicionais e o uso de plantas por diferentes culturas, é fundamental para compreender e validar o uso dessas plantas em tratamentos modernos. Esta disciplina integra conhecimentos antropológicos e farmacológicos para investigar como comunidades tradicionais

utilizam plantas para tratar diversas condições de saúde (Cordell e Colvard, 2005; Patwardhan, 2005). A importância da etnofarmacologia reside em sua capacidade de descobrir novos compostos bioativos a partir do conhecimento empírico de populações locais, oferecendo uma rica fonte de inspiração para o desenvolvimento de novos medicamentos.

No contexto das investigações etnofarmacológicas, conduzidas especificamente entre os Quilombolas (descendentes de escravos afro-brasileiros fugitivos) no Brasil, há poucos relatos, apesar da presença de 3614 comunidades quilombolas em todo o país (Fundação Cultural Palmares, 2022). A utilização de muitas plantas em uma única prescrição é uma prática comum na terapia dos quilombolas, assim como entre os ribeirinhos da Amazônia brasileira (Rodrigues *et al.*, 2003). Esta abordagem também é observada na medicina ayurvédica e na terapêutica chinesa (Patwardhan *et al.*, 2005). A combinação de múltiplas plantas pode gerar efeitos sinérgicos ou antagônicos (Rodrigues *et al.*, 2003).

Um estudo conduzido por Rodrigues *et al.*, (2003) em um quilombo no Município de Sesmaria Mata-Cavalo, Mato Grosso, Brasil, demonstrou a utilização das plantas de forma medicinal pela comunidade. Eles agruparam as plantas utilizadas em categorias, de acordo com as doenças tratadas. Na categoria de tônico para o cérebro, das 13 plantas citadas, nove são utilizadas no preparo do cigarro “tira-capeta” (**Figura 2**). Este cigarro é recomendado para pessoas que sofrem de esgotamento nervoso devido ao excesso de trabalho, sendo também utilizado por adolescentes para melhorar o desempenho nas habilidades de aprendizagem (Rodrigues *et al.*, 2008).

As partes das plantas que compõem o cigarro “tira-capeta” são folhas de ‘guiné’ – *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae), folhas de ‘eucalipto’ – *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae), folhas de ‘alecrim-do-norte’ – *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellfeld ex de Souza (Bignoniaceae), ‘negramina’ – *Siparuna guianensis* Aubl. (Monimiaceae), folhas de ‘arruda’ – *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) e ‘hortelã-da-várzea’ – *Hyptis cana* Pohl ex Benth (Lamiaceae). Além disso, são utilizados os rizomas de ‘caiá-piá’ – *Dorstenia asaroides* Hook. (Moraceae), as flores de ‘cravo-da-Índia’ – *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry (Myrtaceae) e, finalmente, a casca de um bulbo de alho – *Allium sativum* L. (Liliaceae) (Rodrigues *et al.*, 2008).



Figura 2. Pai de santo Cezário, do quilombo de Sesmaria/Mata-Cavalo no município mato-grossense de Nossa Senhora do Livramento macerando e preparando o cigarro aromático (“tira-capeta”).

Fonte: Rodrigues e Carlini (2003).

Análises iniciais com óleo essencial das plantas componentes, foi demonstrado que a fumaça desse cigarro é rica em cineol, cânfora e alfa-pineno (**Figura 3**), substâncias conhecidas na literatura científica por aguçar a memória, tratar sinusite e aliviar insônia. Além disso, é indicado para o tratamento de sinusite, distúrbios gastrointestinais, para evitar resfriados, aliviar problemas de sono e para diminuir o uso de Cannabis (Negri e Rodrigues, 2010).

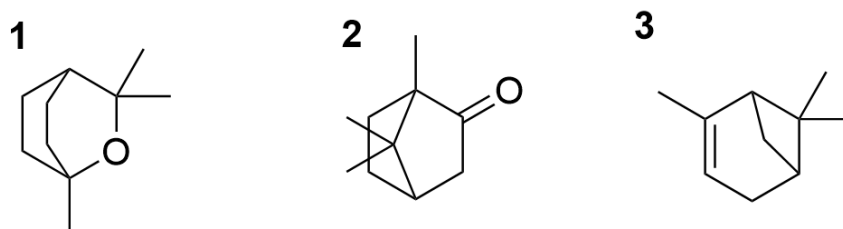


Figura 3. Estrutura química dos compostos cineol (1), cânfora (2) e alfa-pineno (3).

Fonte: Própria autora (2024).

Atualmente sabe-se que muitas plantas que não do gênero *Cannabis*, podem conter compostos com propriedades canabimiméticas. Compostos químicos com propriedades canabimiméticas, por sua vez, imitam os efeitos farmacológicos dos canabinoides (**Figura 4**), as substâncias ativas encontradas na planta *Cannabis sativa* L. (*C. sativa*), interagindo com os receptores canabinoides (RCBs) do tipo 1 (CB1) e tipo 2 (CB2) no sistema endocanabinoide (SEC) dos mamíferos (Gertsch *et*

al., 2010). Esse sistema desempenha um papel crucial na regulação de diversas funções fisiológicas, incluindo dor, humor, apetite e memória. Os canabinoides endógenos, como a anandamida (AEA) e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG), são naturalmente produzidos pelo corpo e ativam esses receptores (Vogel *et al.*, 1993). Além dos canabinoides encontrados na *C. sativa*, hoje sabe-se que outras plantas também contêm substâncias que podem ativar esses receptores, apresentando propriedades canabimiméticas. A pesquisa sobre esses compostos é de grande interesse, pois pode levar à descoberta de novos tratamentos para várias condições médicas, aproveitando os efeitos terapêuticos dos canabinoides sem os efeitos psicoativos associados à *Cannabis*.

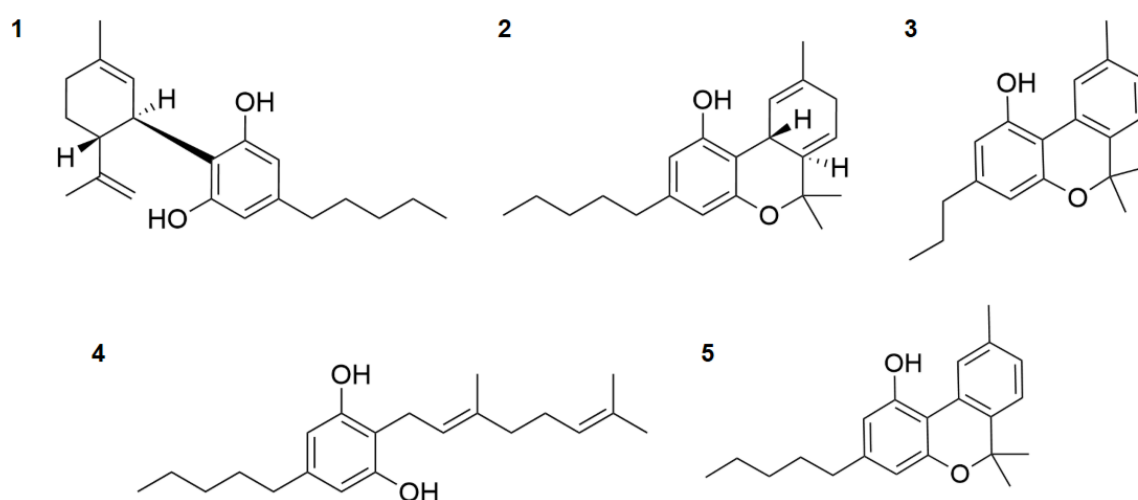


Figura 4. Compostos encontrados na *C sativa*: 1. Delta9 - Tetrahydrocannabinol, 2. Canabidiol, 3. Canabivarina, 4. Canabigerol e 5. Canabinol
Fonte: Própria autora (2024).

Além disso, estudos sugerem que a modulação do SEC pode ter potencial terapêutico em quase todas as doenças que afetam os seres humanos. Há indícios de que a deficiência clínica de canabinoides endógenos está relacionada a muitas doenças que causam dor e distúrbios psiquiátricos (McPartland; Guy; Di Marzo, 2014).

A metabolômica pode ser uma ferramenta poderosa na identificação de novos compostos canabimiméticos. O fluxo de trabalho metabolômico pode ser visualizado na **Figura 5**. Esta abordagem científica envolve a análise global dos metabólitos em amostras biológicas, permitindo a detecção e a quantificação precisa de milhares de pequenas moléculas simultaneamente. Com a aplicação de técnicas avançadas de

espectrometria de massas (MS), a metabolômica pode fornecer uma compreensão detalhada dos perfis metabólicos de diferentes plantas.

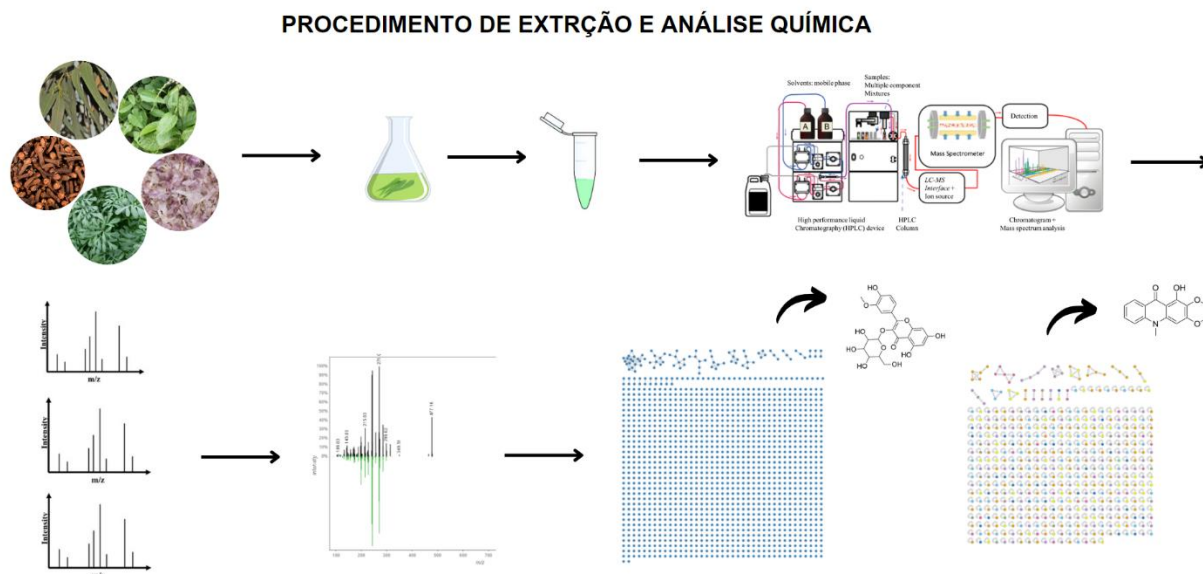


Figura 5. Esquema apresentando o fluxo de trabalho em estudos metabolômicos
Fonte: Própria autora (2024).

Ao estudar as plantas que tradicionalmente são usadas por suas propriedades medicinais, a metabolômica pode revelar novos compostos que interagem com os receptores canabinoides. Esta análise abrangente pode identificar não apenas a presença de conhecidos canabimiméticos, mas também descobrir novos metabólitos que possuam atividade farmacológica semelhante através de redes moleculares, onde os espectros/moléculas gerados por MS, são organizados em redes, e suas conexões com outros espectros/moléculas são referentes ao grau de similaridade estrutural entre as moléculas identificadas (Gaudêncio e Pereira, 2015; Wang *et al.*, 2016; Aron *et al.*, 2020). Portanto, a aplicação da metabolômica na pesquisa de canabimiméticos não só expande nosso conhecimento sobre os compostos bioativos presentes nas plantas, mas também abre novas possibilidades de compostos até então, não identificados.

Sabendo das atividades etnofarmacológicas relatadas do cigarro “tira-capeta”, e reconhecendo a importância dos produtos naturais, como fontes cruciais para o desenvolvimento de novos fármacos e terapias, este trabalho tem o propósito de realizar um estudo metabolômico dos extratos etanólicos de 5 plantas que compõem o cigarro “tira-capeta”. A aplicação da metabolômica, com suas técnicas avançadas

de espectrometria de massas, permitirá a identificação de compostos bioativos, incluindo canabimiméticos conhecidos e novos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Sistema endocanabinoide

Com a descoberta e isolamento do neurotransmissor anandamida (Devane *et al.*, 1992), deu-se início as investigações a respeito do SEC. Diversos estudos sugerem que a modulação do SEC pode ter potencial terapêutico em diversas doenças que afetam os seres humanos, e há indícios de que a deficiência clínica de endocanabinoides (eCBs) está relacionada a muitas doenças que causam dor e distúrbios psiquiátricos (McPartland; Guy; Di Marzo, 2014). Estudos demonstraram que o SEC está envolvido em muitos processos fisiopatológicos do sistema nervoso central e periférico e em vários órgãos periféricos, como coração, estômago, órgão reprodutores e outros (Pacher; Bátkai e Kunos, 2006).

O SEC compreende uma rede de sinalização de eicosanoides, na qual os lipídios derivados do ácido araquidônico (AA) atuam em conjunto com receptores e enzimas específicos, modulando diversos processos fisiológicos e fisiopatológicos centrais e periféricos (Di Marzo, 2008) como pode ser visto na **figura 6**. O SEC é composto por dois endocanabinoides eCBs naturais clássicos: araquidonoiletanolamina (anandamida ou AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG) (**Figura 7**) (Hanus e Mechoulam, 2010). Esses eCBs se ligam aos receptores canabinoides acoplados à proteína G tipo 1 (CB1) e tipo 2 (CB2) (Howlett, Blume e Dalton, 2010). Além disso, a AEA também atua nos canais do potencial receptor transitório vaniloide-1 (TRPV1) (Di Marzo e De Petrocellis, 2010).

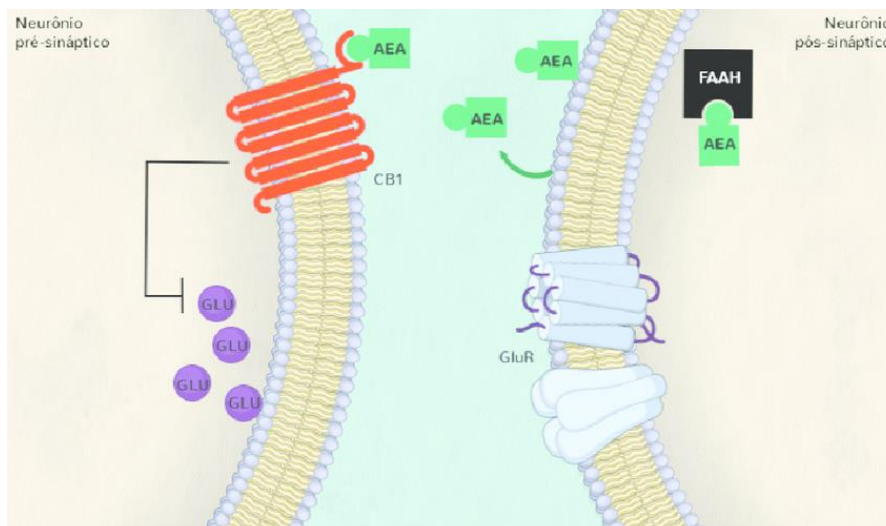


Figura 6. Sistema endocanabinoide
Fonte: Batista *et al.*, 2014

A atividade biológica dos eCBs nos receptores é regulada por processos metabólicos de síntese e degradação. A biossíntese da AEA depende de Ca^{2+} e é catalisada pela fosfolipase D específica de N-acilfosfatidiletanolamina (NAPE-PLD) (Okamoto, Tsuboi e Ueda, 2009), juntamente com uma fosfolipase C que gera diacilglicerol (DAG). O DAG é então convertido em 2-AG por uma lipase sn-1-DAG (DAGL) (Petrosino, Ligresti e Di Marzo, 2009). A degradação da AEA é realizada pela hidrolase de amida de ácidos graxos (FAAH) (McKinney e Cravatt, 2005), enquanto o 2-AG pode ser hidrolisado por uma monoacilglicerol lipase específica (MAGL) (Di Marzo, 2008).

A ativação dos receptores CB1 e CB2 causa muitos efeitos intracelulares através de ligantes específicos que envolvem a inibição de canais de Ca^{2+} e atividade da adenilato ciclase e a ativação de canais de K^{+} , resultando em níveis mais baixos de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPc) e ativando as vias proteínquinases ativadas por mitógenos (MAPK). Os receptores CB1 regulam as atividades da adenilil ciclase, quinases reguladas por sinal extracelular, glicogênio sintase quinase 3 e canais de cálcio e potássio. O receptor CB2 acopla-se a proteína heteromérica G_i (tipo de proteína G) para intermediar seus efeitos celulares via inibição da adenilil ciclase e regulação dos fatores de transcrição (Felder *et al.*, 1995).

Por muito tempo acreditava-se que as substâncias naturais que afetam os receptores CB1 e CB2 limitavam-se ao delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 – THC) e outros fitocannabinoides derivados da *C. sativa*, os cannabinoides sintéticos e os endocannabinoides. Hoje, uma nova classe de moléculas que podem imitar os efeitos

produzidos pelos fitocanabinoides e interagir com SEC estão sendo desenvolvidos e estudados extensivamente, os chamados “canabimiméticos” (Gertsch *et al.*, 2010). Além disso, vários autores indicam que as moléculas presentes nos extratos de muitas plantas canabimiméticas poderiam não apenas se ligar a receptores CB1 e CB2, mas também regular a síntese e degradação de endocanabinoides (Gertsch *et al.*, 2010; Russo, 2016; Chicca *et al.*, 2018; McPartland *et al.*, 2014).

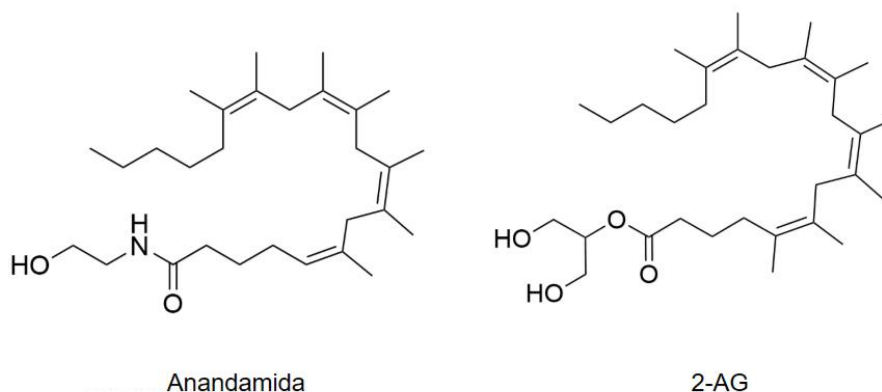


Figura 7. Estrutura dos endocanabinoides naturais clássicos: araquidonoiletanolamina (anandamida ou AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG)
Fonte: Própria autora (2024).

2.2 Canabimiméticos

Nas últimas décadas, tem havido um aumento significativo na descoberta e interesse por metabólitos de plantas que demonstram atividade em diferentes graus sobre os receptores CB1 e CB. Essa crescente exploração revela uma ampla variedade de substâncias naturais com potencial de interação com o SEC, indicando a necessidade de investigações mais aprofundadas sobre a diversidade desses compostos em plantas nativas do Brasil.

Os agonistas do TRPV1 se enquadram em duas classes, as substâncias pungentes ou cáusticas (capsaicina, piperina) e aquelas que não são irritantes (CBD). Embora as primeiras substâncias causem dor na aplicação, a exposição contínua aos agonistas do TRPV1 causa alteração conformacional no receptor e um estado refratário devido à dessensibilização do receptor, tornando-os antagonistas funcionais na aplicação crônica (Kissin e Szallas, 2011). Esta taquifilaxia ou resposta

decrecente após exposição repetitiva representa uma transição de um estado de receptor aberto para fechado (Szallas e Blumberg, 1999). Idealmente, um agente terapêutico desta classe não causaria dor aguda, mas dessensibilizaria o receptor e apresentaria uma relação favorável de dessensibilização/irritação (Palazzo *et al.*, 2010). O CBD parece preencher ambos os critérios, na medida em que, além da sua potência, dessensibiliza o TRPV1 a 10 mM (Bisogno *et al.*, 2001), potencialmente “reduzindo o calor e a dor” (Russo, 2011). Possíveis alvos terapêuticos para CBD ou agentes similares incluiriam: dor neuropática (causalgia, síndrome de dor regional complexa, enxaqueca), queimaduras, bexiga irritável, cistite intersticial, prostatite, dor pélvica crônica, fibromialgia, doença inflamatória intestinal, síndrome do intestino irritável, dor pancreática e várias condições pruriginosas dermatológicas.

Park *et al.* (2014) demonstrou que o extrato de alcaçuz e seus ingredientes ativos, especialmente o 18 β -Ácido-glicirhético (18 β -AG) (**Figura 8**), podem atenuar os efeitos da AEA na sinalização do receptor CB1. O 18 β -AG, identificado como o mais potente entre os compostos testados, exibiu efeitos antiadipogênicos e antiobesidade, sugerindo um potencial terapêutico para induzir perda de peso e melhorar o metabolismo lipídico. Observou-se que o 18 β -AG desempenha um papel inibitório na diferenciação de adipócitos e na acumulação de lipídios, bloqueando a ativação de MAPK e a regulação positiva de C/EBP- α e PPAR- γ induzidas pelo receptor CB1. Além disso, o tratamento com 18 β -AG reduziu significativamente o peso corporal, a adiposidade visceral e a hiperlipidemia em animais obesos induzidos por dieta rica em gordura. Essas descobertas indicam que o 18 β -AG altera a expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico, possivelmente contribuindo para a redução da massa de tecido adiposo e hipertrofia dos adipócitos. O estudo também sugere que o 18 β -AG pode ser uma nova estratégia na prevenção e tratamento da obesidade e distúrbios metabólicos, apresentando um perfil de segurança mais favorável em comparação com drogas sintéticas previamente estudadas (Park *et al.*, 2014).

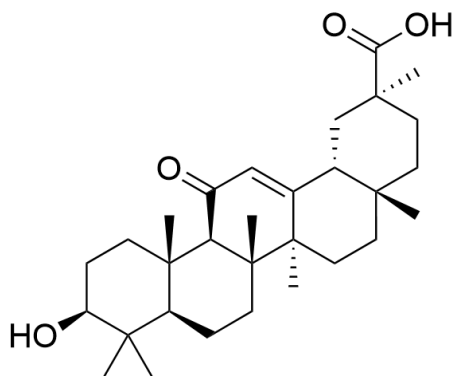


Figura 8. Estrutura do 18β-Ácido-glicirrhético.
Fonte: Própria autora (2024).

Estudos em andamento demonstraram que o ácido betulínico (**Figura 9**) regula negativamente fatores de transcrição (Ft) Ft1, Ft 3 e Ft 4 em linhas celulares de câncer e se liga diretamente aos receptores CB1 e CB2. O ácido betulínico inibe o crescimento de células e tumores de câncer de mama que superexpressam ErbB2, ativando os receptores CB1 e CB2, o que resulta na modulação do eixo de transcrição microRNA-27a (miR-27) e na regulação negativa dos genes YY1 e ErbB2 (Liu *et al.*, 2012). Esses achados indicam que a via dependente do receptor CB é crucial para os efeitos do ácido betulínico como inibidor do crescimento de câncer de mama ErbB2-positivo. Além disso, estudos em andamento com CBs mostram que eles também têm como alvo os fatores de transcrição Sp. Pesquisas atuais estão focadas na ligação mecanicista entre a ativação dos receptores CB e a modulação de miR-27a, bem como na eficácia de outros agentes que reprimem os fatores de transcrição Sp. Além disso, está sendo investigado o efeito do ácido betulínico como indutor do novo repressor de Ft, ZBTB4, regulado pelo cluster miR-17-92, revelando uma nova abordagem terapêutica para tratar pacientes com câncer de mama que superexpressam ErbB2 (Liu *et al.*, 2012).

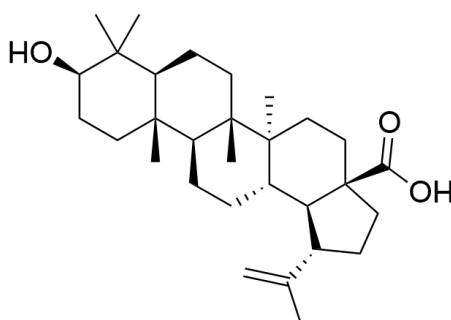


Figura 9. Estrutura do ácido betulínico.
Fonte: Própria autora (2024).

Os epímeros α,β -amirina (**Figura 10**), triterpeno derivado de plantas, demonstrou reduzir a hiperalgesia inflamatória e neuropática em camundongos, ativando diretamente os receptores canabinoides CB1 e CB2. Estudos de ligação mostraram que α,β -amirina se liga com alta afinidade ao CB1 e com menor afinidade ao CB2. O tratamento com α,β -amirina reduziu significativamente a dor e inflamação sem causar distúrbios comportamentais. A substância diminuiu os níveis de citocinas inflamatórias e impediu a ativação dos fatores transcricionais NF- κ B e CREB, além de reduzir a expressão da ciclooxigenase 2. Esses resultados sugerem que α,β -amirina tem propriedades antinociceptivas e anti-inflamatórias de longa duração.

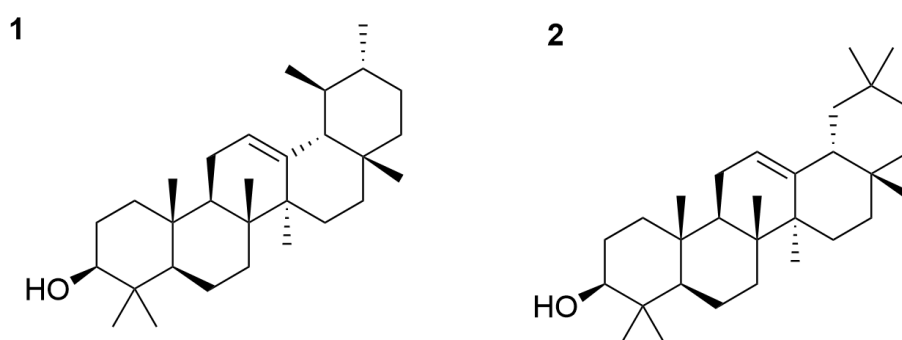


Figura 10. Estrutura da α -amirina (1) e β -amirina (2)
Fonte: Própria autora (2024).

Outro estudo demonstrou que a exposição crônica à curcumina (**Figura 11**) eleva de forma sustentada o fator de crescimento nervoso (NGF) no cérebro, em uma maneira dependente da dose e específica para regiões cerebrais. A elevação do NGF sugere que o efeito neurotrófico dos antidepressivos se desenvolve lentamente, contribuindo para benefícios contra transtornos neuropsiquiátricos e danos cerebrais causados pelo estresse crônico (Hassanzadeh e Hassanzadeh, 2012).

Além do mais, foi evidenciado que curcumina aumenta os níveis de NGF no hipocampo e na amígdala, importantes para a função cognitiva. Neste estudo, a curcumina não alterou o NGF no bulbo olfatório ou no tronco cerebral. A regulação do NGF foi mediada pelo receptor CB1 do sistema endocanabinoide, que é crucial na reatividade emocional e no tratamento de transtornos de humor (Hassanzadeh e Hassanzadeh, 2012). Além disso, a administração crônica de curcumina ou amitriptilina elevou os endocanabinoides AEA e 2-AG em regiões cerebrais

específicas, indicando que a sinalização endocanabinoide contribui para seus mecanismos de ação. Esses achados sugerem que a curcumina pode ser eficaz contra várias doenças, especialmente aquelas associadas a deficiências na sinalização de neurotrofinas ou endocanabinoides, destacando seu potencial terapêutico e apoiando a integração de terapias alternativas com a medicina convencional (Hassanzadeh e Hassanzadeh, 2012).

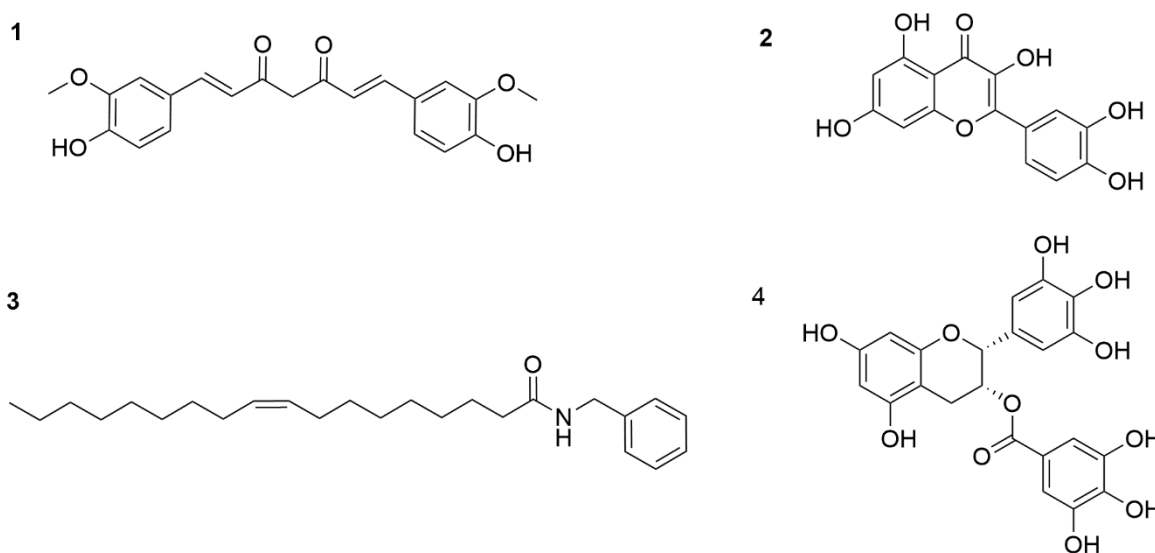


Figura 11. Estrutura dos compostos curcumina (1), quercetina (2), N-benziloleamidas (3) e Epigalocatequina galato(4).
Fonte: Própria autora (2024).

A quercetina (**Figura 11**), demonstrou aumentar a expressão do receptor CB1R em células de adenocarcinoma de cólon humano, além de confirmar seus efeitos antiproliferativos em células cancerosas (Refolo *et al.* 2015). Ademais, as propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antivirais, assim como seus efeitos benéficos no sistema cardiovascular, metabolismo, neuroproteção e modulação da microbiota intestinal pela quercetina têm sido amplamente estudados (Li *et al.* 2016).

A maca (*Lepidium meyenii*), um alimento típico dos altos Andes, é frequentemente chamada de 'ginseng peruano' devido ao seu uso como adaptógeno. Este tubérculo contém ácidos graxos de cadeia longa conhecidos como 'macamidas' ou N-Benziloleamidas (**Figura 11**) (Wu *et al.*, 2013). Dois desses compostos mostraram inibir reversivelmente a enzima FAAH em concentrações de 10 mM. Acredita-se que a estrutura dessas macamidas permite que atravessem a barreira hematoencefálica e, apesar de sua baixa potência, o consumo regular poderia alterar a sinalização de amidas no sistema nervoso central, embora isso ainda precise ser comprovado. Além disso, uma N-benzilamida da mesma espécie demonstrou ser um

inibidor da FAAH ($IC_{50} = 4 \text{ mM}$) e da captação de AEA ($IC_{50} = 670 \text{ nM}$), sendo descrita como 'imitadora de substrato endocanabinoide' (Hjdu *et al.*, 2014).

Relatos iniciais afirmavam que epigalocatequina 4-galato e (-)-epigalocatequina (**Figura 11**) no chá verde (*Camellia sinensis*) ligou CB2 em altas concentrações (Korte *et al.*, 2010), mas este achado foi posteriormente impugnado (Gertsch *et al.*, 2010). *Kaempferia galanga*, ou galanga, é um parente do gengibre, cujos rizomas produzem um flavonoide, canferol, também encontrado em maçãs, amoras, e muitas outras plantas. O canferol demonstrou ser um inibidor da FAAH, a serina hidrolase que quebra o AEA ($K_i = 5 \text{ mM}$) (Thors *et al.*, 2008).

2.3 *Eucalyptus globulus* Labil

Eucalyptus globulus Labil (*E. globulus*) (**Figura 12**), da família Myrtaceae, é uma árvore dicotiledônea, perene e de tronco reto originária dos estados do sudeste da Austrália, que posteriormente foi introduzida na América Latina e compreende mais de 700 espécies do gênero *Eucalyptus* (Goldbeck *et al.*, 2014). Conhecida como “goma-azul”, *E. globulus* se destaca como uma das mais relevantes comercialmente (Hasegawa *et al.*, 2008). Devido sua alta adaptabilidade em diversas condições ambientais, facilidade de cultivo, rápido crescimento e aumento da biomassa lenhosa, é amplamente cultivada ao redor do mundo (Shala e Gururani, 2021). No Brasil, esse gênero também apresenta grande importância terapêutica, e várias espécies de *Eucalyptus* são usadas na medicina tradicional como antissépticos e contra infecções do trato respiratório superior, como resfriado comum, gripe e congestão sinusal. Além disso, exibem atividades antibacterianas, analgésicas e anti-inflamatórias (Silva *et al.*, 2003).



Figura 12. Ramos de *E. globulus* Labill

Fonte: TUTU GURU NURSERY. [s.d.]. Disponível em: <https://thetutuguru.com.au>. Acesso em: 23 jul. 2024.

O óleo essencial de *Eucalyptus spp* é utilizado terapêuticamente no tratamento de infecções pulmonares por meio de inalação (Ramezani *et al.*, 2002) e está entre os 18 óleos essenciais mais comercializados em todo o mundo, sendo empregado como matéria-prima para alimentos, fármacos e cosmético, tanto em pesquisas industriais quanto científicas (Goldbeck *et al.*, 2014). *E. globulus* é a principal fonte de óleo foliar de eucalipto utilizado globalmente (Mulyaningsih *et al.*, 2011)). Apresenta folhas alternas, com pecíolos amarelados, precisamente lanceoladas, verde-escuras brilhantes em ambas as superfícies, é uma rica fonte de óleo essencial (Göger *et al.*, 2020). Sua extração ocorre por hidrodestilação, garantindo maior quantidade de compostos químicos (Joshi *et al.*, 2016). A composição química do óleo essencial da folha de eucalipto é uma mistura complexa de substâncias, geralmente contendo de 20 a 54 componentes com concentrações variadas (Joshi *et al.*, 2016; Luís *et al.*, 2016). O óleo é composto por monoterpenos oxigenados (80,65 – 87,32 %) e hidrocarbonetos monoterpênicos (18,33 – 12,45 %) (Ait-ouazzou e Conchello, 2011; Damjanović-Vratnica *et al.*, 2011).

Análises fitoquímicas revelaram que o perfil dos terpenoides varia entre as diferentes espécies de *Eucalyptus*, resultando em variações potenciais nas suas propriedades medicinais. Os principais componentes identificados foram

aromadendreno, seguido por α -felandreno, 1,8-cineol, ledeno e globulol (Pereira *et al.*, 2005). De maneira geral, todos os óleos das espécies de *Eucalyptus* possuem α -pineno, β -pineno, β -cariofileno e 1,8-cineol (**Figura 13**) como componentes predominantes.

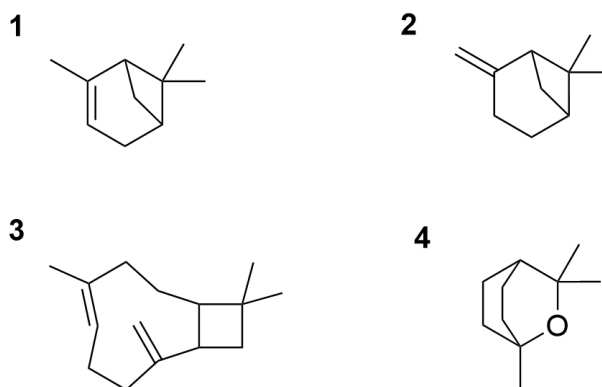


Figura 13. Estrutura dos compostos α -pineno (1), β -pineno (2), β -cariofileno (3) e 1,8-cineol (4).
Fonte: Própria autora (2024).

A análise de cromatografia gasosa de pirólise acoplada à espectrometria de massas do extrato etanólico aquoso das folhas de *Eucalyptus* revelou a presença de 21 compostos, destacando-se β -eudesmol (12,84%), γ -eudesmol (3,36%), globulol (2,87%) e aloaromadendreno (3,80%). Em contraste, α -selineno e α -gurgujeno foram encontrados em baixas concentrações (Gullón *et al.*, 2017). Além disso, a detecção de guaiacol, siringol, *o*-cimeno, catecol e fenol sugere a presença de pequenos fragmentos de lignina e produtos monoméricos derivados da lignina nos extratos foliares (Gullón *et al.*, 2017).

Os principais ácidos triterpênicos identificados nos extratos das folhas de *E. globulus* incluíram os ácidos betulínico, betulônico, oleanólico, ursólico, 3-acetiloleanólico e 3-acetilursólico (Rodrigues *et al.*, 2018).

A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) do extrato etanólico identificou nove compostos, entre eles 9,10-secocolesta-5,7,10(19)-trieno 1, 3-diol,25 [(trimetilsili) oxí] (3β , $5Z,7E$)-, 1-heptatriacotanol, morfina-4,5 epoxi-3,6-diol, 6 [7-nitrobenzofurazan-4-il] amino, ácido 10-heptadecen-8-ynoico, éster metílico, [E]-, etil iso-alocolato, 2-miristinoil panteteína, cholesta-8,24-dien-3-ol,4-metil-, [3β , 4α]-, ácido ciclopropanodecanóico, 2-octil-, éster metílico, ácido 9,12,15-octadecatrienóico e éster 2-fenil-1,3-dioxano-5-ilo (Ajilore *et al.*, 2021).

Dando destaque para o hidrossol, obtido como subproduto da hidrodestilação foliar, e demonstrou uma atividade inseticida eficaz contra a cochoilha, sugerindo seu potencial como inseticida biodegradável (Sharma e Inderjeet, 2021).

2.4 *Ruta graveolens* L.

Ruta graveolens L. (*R. graveolens*) (**Figura 14**), conhecida popularmente como Arruda, é uma erva perene herbácea nativa da região mediterrânea. Atualmente, é cultivada em muitas partes do mundo. A Arruda é uma das plantas chave da farmacopeia europeia desde os tempos antigos, com suas propriedades reconhecidas por autores gregos e romanos renomados, como Hipócrates, Dioscórides e Plínio (Miguel, 2003). Jean-Baptiste Debret, em sua pintura intitulada "Viagem Histórica e Pitoresca ao Brasil", retratou o comércio da arruda realizado por escravas africanas. Os galhos de *R. graveolens* eram vendidos como amuletos para trazer sorte e proteção a quem os usava. Não eram apenas as escravas que utilizavam os ramos ocultos nas pregas de seus turbantes; mulheres brancas também os escondiam estrategicamente dentro de seus seios (Toriani e Oliveira, 2006).



Figura 14. Folhas e flores de *Ruta graveolens*.

Fonte: PictureThis. [s.d.]. Disponível em: <https://picturethisai.com>. Acesso em: 23 jul. 2024.

Existem duas espécies principais utilizadas na medicina tradicional, sendo a *R. graveolens* a mais conhecida e utilizada (Ratheesh e Helen, 2007). Ela pertence

à família Rutaceae, ordem Sapindales, que inclui aproximadamente 160 gêneros e mais de 1600 espécies. Devido ao seu valor cultural e medicinal, a arruda foi introduzida em diversos países da América do Norte, Central e do Sul, China, Índia, Oriente Médio e África do Sul (Miguel, 2003). *R. graveolens* é um pequeno subarbusto perene ou semi-lenhoso, com altura de 0,6 a 0,9 m e largura semelhante. Os caules tornam-se lenhosos na base, mas permanecem herbáceos nas pontas. As folhas, de 7,6 a 12,7 cm de comprimento, são divididas em segmentos oblongos ou em forma de colher. São ligeiramente carnudas. A folhagem verde-azulada tem um cheiro forte, pungente e bastante desagradável quando machucada. Os cachos paniculares de pequenas flores amarelas aparecem no meio do verão, bem acima da folhagem, frequentemente cobrindo a maior parte da planta. Cada flor tem cerca de 1,3 cm de diâmetro, com quatro pétalas côncavas e entalhadas (Zargari, 1988).

A *R. graveolens* é amplamente reconhecida na medicina popular por suas propriedades místicas. Desde os tempos antigos, é utilizada em rituais de proteção, especialmente para proteger crianças contra o mau-olhado, tratar desordens menstruais, inflamações na pele, câimbras, dor de ouvido, entre outras condições (Yamashita *et al.*, 2009).

Nos rituais de rezas e benzeduras, a arruda é empregada para tratar o “mau-olhado” ou o “quebranto”, condições que representam mal-estar físico e espiritual que acometem membros da comunidade (Oliveira e Trovão, 2009). Em sua pesquisa, *Albuquerque et al.* (2016) descreve a história das crenças populares, destacando a benzedura como uma prática terapêutica que utiliza a força das orações para mediar a cura, com a benzedeira ou o benzedor atuando como intermediários do sagrado (Quintana, 1999). Relatos indicam que adultos e crianças são frequentemente levados à benzedeira para tratar condições como “vento caído”, “mau-olhado”, “quebranto” e “panemeira”. Esses termos referem-se a mal-estar difuso, dores no corpo e desânimo, muitas vezes associados à inveja ou ao desejo malévolo de outras pessoas (Montero, 1985).

As benzeções incorporam diversos saberes, incluindo orações e o uso de plantas, como a arruda, colhidas do próprio quintal pouco antes do início do ritual. De acordo com *Albuquerque et al.* (2016), o conhecimento da benzedura abrange tanto o ritual em si quanto o uso das plantas. A arruda é utilizada para absorver o mal-estar que acomete o corpo adoentado. A transferência desses males para o galho da planta é observada quando as folhas murcham, indicando a transferência

da enfermidade. O ritual começa com o galho sendo passado sobre o corpo do doente, acompanhado por rezas, e finaliza com a prescrição de banhos específicos para cada malefício. Esses banhos fazem parte dos rituais e envolvem um conhecimento adicional.

Extratos de *R. graveolens* têm sido tradicionalmente utilizados como antídotos para toxinas, como venenos de cobras e escorpiões (Sallal e Alkofahi, 1996). Durante muito tempo, *R. graveolens* foi empregada como remédio popular para tratar várias condições, incluindo problemas oculares, reumatismo, dermatite, dor e diversas doenças inflamatórias (Ratheesh e Helen, 2007). Devido ao efeito estimulante da fibra basal uterina da rutina, esta planta atua como emenagogo (Miguel, 2003) e não é recomendada a utilização por mulheres grávidas ou lactantes, pois em altas concentrações pode provocar hiperemia no útero e alta mobilidade (ação oxitócica), podendo causar aborto. Nas doses necessárias para esse efeito, pode ser fatal para uma mulher grávida.

R. graveolens é rica em rutina, que atua como venotônico e protetor capilar. A rutina auxilia na acuidade visual e trata outros problemas visuais, sendo também usada contra edema, trombogênese, inflamação, espasmos e hipertensão (Miguel, 2003). O óleo essencial possui propriedades espasmolíticas, anti-inflamatórias, anti-histamínicas e vermífugas (Al-Said *et al.*, 1990). *R. graveolens* também pode ser aplicada como rubefaciente em cataplasmas para dor reumática, luxações, distensões de tendão, varizes e condições da pele, como psoríase e eczema. Suas propriedades amargas eupepticas a tornam indicada para distúrbios estomacais e intestinais. Quando aplicada externamente na pele úmida sob luz solar direta, pode causar fotosensibilidade devido às furanocumarinas, resultando em hiperpigmentação, inchaço, coceira e até queimaduras e bolhas (Miguel, 2003).

O óleo essencial também exerce um efeito depressivo no sistema nervoso central. Em doses elevadas, funciona como um veneno narcótico, provocando inflamação intestinal intensa, inchaço da língua e laringe, excitação seguida por cansaço, vertigem, confusão mental, tremores, nefrite com inchaço uterino e aborto, lesões hepáticas e intestinais e, eventualmente, morte (Miguel, 2003). Foram isolados de várias partes da planta vários constituintes químicos, como alcaloides, cumarinas, substâncias voláteis, terpenoides, flavonoides e furoquinolinas (Kuzovkina *et al.*, 2004). Além do mais, aplicações adicionais foram relatadas para *R. graveolens*, revelando seus efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios (Ratheesh e

Helen, 2007), antidiabéticos (Toserkani *et al.*, 2011), antibacterianos, antifúngicos (Meepagala *et al.*, 2005), antiandrogênicos (Khouri e El-Akawi, 2005), e inseticidas (Barbosa *et al.*, 2011), entre outros.

Os compostos fitoquímicos mais conhecidos da *R. graveolens* incluem alcaloides acridônicos, cumarinas, substâncias voláteis, terpenoides, flavonoides e furoquinolinas (Kuzovkina *et al.*, 2004). Além disso, a existência de saponinas, taninos e glicosídeos também foi comprovada (Hashemi *et al.*, 2011). Entre os principais flavonoides ativos de *R. graveolens* estão a rutina e a quercetina. A rutina foi isolada pela primeira vez das folhas de *R. graveolens* (Pathak *et al.*, 2003).

Um alto conteúdo de ácidos alifáticos, álcoois e cetonas foi encontrado no óleo volátil de *R. graveolens* (Ivanova *et al.*, 2003). Os principais componentes do óleo essencial das partes aéreas floridas da planta incluem: 2-undecanona (33,9%), acetato de 2-heptanol (17,5%), 1-dodecanol (11,0%), geireno (10,4%), 2-nonanona (8,8%), 2-decanona (1,9%), geijereno (1,6%), óxido de trans-piperitenona (1,4%), óxido de cis-piperitenona (1,2%), 2-metil-undecanal (1,1%), 2-dodecanona (1,1%), 2-nonanol (1,1%) e elemol (1,1%) (Soleimani *et al.*, 2009).

R. graveolens é conhecida por produzir altos níveis de furanocumarinas lineares, principalmente psoraleno e 8-O-metoxipsoraleno (**Figura 15**) (Gravot *et al.*, 2004). Alcaloides acridônicos como rutacridona, epóxido de rutacridona e gravacridondiol foram isolados da raiz de *R. graveolens* (Meepagala *et al.*, 2005), enquanto um alcaloide chamado graveolina foi isolado das folhas (Hale *et al.*, 2004).

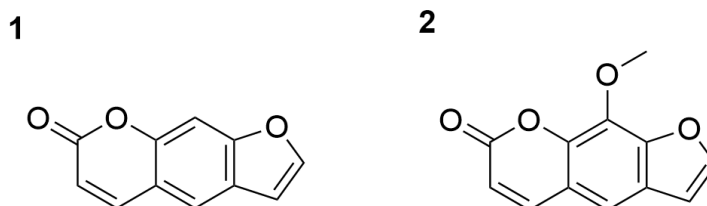


Figura 15. Estrutura dos compostos psoraleno (1) e 8-O-metoxipsoraleno (2).
Fonte: própria autora (2024).

A rutina (**Figura 16**) é o flavonoide predominante na *R. graveolens*, com aproximadamente 2% (Ahmed *et al.*, 2010). Nos últimos anos, os flavonoides, particularmente os derivados da quercetina, têm sido amplamente estudados como componentes dietéticos. Estudos epidemiológicos sugerem seu potencial papel na prevenção de doenças cardiovasculares e câncer (Hertog *et al.*, 1992;

Kamalakkannan e Prince, 2006). A atividade promotora de saúde desses compostos parece estar associada à sua capacidade antioxidante, especificamente na neutralização de radicais livres (Murota e Terao, 2003). A quercetina é um dos flavonoides mais comuns, predominantemente encontrado em formas glicosídicas, como a rutina (Murota e Terao, 2003; Havsteen, 1983). A rutina apresenta diversas atividades farmacológicas, incluindo propriedades antibacterianas, antitumorais, anti-inflamatórias, antidiarreicas, antiulcerosas, antimutagênicas, protetoras do miocárdio, vasodilatadoras, imunomoduladoras e hepatoprotetoras (Janbaz *et al.*, 2002).

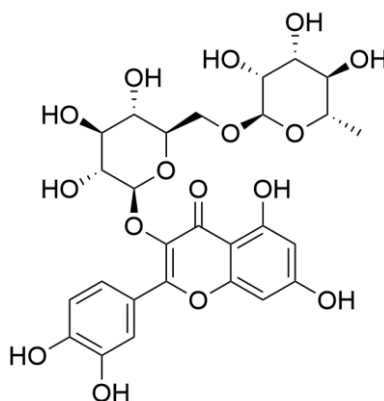


Figura 166. Estrutura do composto Rutina.
Fonte: própria autora (2024).

As partes aéreas de *R. graveolens* têm sido tradicionalmente empregadas na forma de cataplasmas para aliviar dores reumáticas (Ratheesh e Helen, 2007). Em estudos com modelos animais, extratos etanólicos e metanólicos de *R. graveolens* em concentrações de 20 mg/kg e extrato etanólico em uma concentração de 50 mg/kg demonstraram uma inibição significativa (90,9%) do edema na pata de ratos induzido por carragenina. Este efeito foi substancialmente ($p < 0,05$) superior ao do medicamento padrão Voveran, que apresentou uma inibição de 72,72%. O extrato metanólico com concentração de 50 mg/kg apresentou uma inibição de 81,81%, também superior ao medicamento padrão. Por outro lado, o extrato etanólico com dose de 20 mg/kg e as duas doses de extrato aquoso apresentaram uma menor porcentagem de inibição em comparação com o Voveran (Ratheesh e Helen, 2007).

Os perfis antinociceptivos do extrato de *R. graveolens* também foram avaliados em camundongos. A administração oral do extrato (200 mg/kg) demonstrou um efeito antinociceptivo, medido por meio dos testes de reflexo caudal

e placa quente, além de reduzir o número de contorções no teste de contorções induzidas por ácido acético. *R. graveolens* exibiu um efeito antinociceptivo significativo, possivelmente mediado por receptores opioides e $\alpha 2$ -adrenérgicos, mas não por receptores serotoninérgicos (Park *et al.*, 2010).

R. graveolens é usada na Jordânia como afrodisíaco e agente promotor da fertilidade. No entanto, estudos mostraram que a administração oral de *R. graveolens* diminui a fertilidade em ratos albinos machos, regulando negativamente a função secretora dos testículos e outros órgãos reprodutivos via hormônios androgênicos (Choudhary e Steinberger, 1975). O extrato pode atuar na glândula pituitária, aumentando hormônios controladores da espermatogênese, mas também reduzindo o número de células de Leydig e seus níveis de androgênios, espermátocitos, espermátides e a motilidade dos espermatozoides (Khouri *et al.*, 2005). Essa redução leva a uma menor taxa de fecundação e número de fetos viáveis, possivelmente devido à interferência no processo de fosforilação oxidativa.

R. graveolens também estimula os músculos uterinos, podendo iniciar ciclos menstruais, diminuir a fertilidade e bloquear a implantação de óvulos fertilizados. Estudos mostraram uma diminuição significativa nos folículos primordiais, peso ovariano, número e diâmetro de corpos lúteos, além de um aumento nos folículos graafianos atrésicos e uma redução nos níveis de estrogênio (Khouri *et al.*, 2005). Além disso, o extrato aquoso pode alterar os níveis hormonais sexuais e a morfologia ovariana em camundongos fêmeas imaturas, sugerindo seu potencial como substância antifertilidade (Nasirinezhad *et al.*, 1997).

A infusão de *R. graveolens* e seu flavonoide rutina demonstraram melhorias significativas na tolerância à glicose em ratos diabéticos, devido ao aumento da concentração de insulina sérica e à capacidade de eliminar radicais livres, protegendo as células β e aumentando a secreção de insulina (Ahmed *et al.*, 2010). Esses tratamentos também elevaram os níveis de peptídeo C e reduziram os níveis de proteínas glicadas e frutossamina sérica, indicadores importantes no rastreamento do diabetes.

Os extratos de *R. graveolens* e rutina também aumentaram a captação periférica de glicose, tanto na presença quanto na ausência de insulina, sugerindo uma ação mimética da insulina. Além disso, esses extratos diminuíram a absorção intestinal de glicose e melhoraram a atividade das enzimas envolvidas na glicogenólise e gliconeogênese, resultando em menor produção de glicose hepática

e maior captação periférica de glicose (Ahmed *et al.*, 2010). Esses efeitos indicam que *R. graveolens* e rutina têm um potencial significativo como agentes antidiabéticos naturais.

R. graveolens, especialmente na forma de Ruta 6 combinada com $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, tem demonstrado efeitos promissores no tratamento de cânceres cerebrais de glioma humano. Estudos mostraram que essa combinação pode bloquear a progressão ou até mesmo regredir completamente esses cânceres, com efeitos colaterais mínimos (Pathak *et al.*, 2003). A ruta 6 é citotóxica para células cancerígenas, causando erosão telomérica significativa, bloqueio na fase G2/M do ciclo celular, e fragmentação de DNA em células de glioma, levando à morte celular preferencial (Pathak *et al.*, 2003).

Além disso, a ruta protege células normais, como linfócitos B e T, contra danos induzidos por H_2O_2 e não induz aberrações cromossômicas em células normais (Pathak *et al.*, 2003). A combinação de Ruta 6 + $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ mostrou aumentar a afinidade de ligação da insulina e a captação periférica de glicose, além de reduzir a absorção intestinal de glicose (Ahmed *et al.*, 2010). Este tratamento também reduz significativamente os danos ao DNA e previne a mutagênese, além de melhorar a integridade das células β pancreáticas e aumentar os níveis de insulina e peptídeo C em ratos diabéticos (Ahmed *et al.*, 2010).

2.5 *Syzygium aromaticum* (L.)

Syzygium aromaticum (L.) (*S. aromaticum*) (**Figura 17**), pertencente à família Myrtaceae, com aproximadamente 1800 espécies, é originária das ilhas Maluku na Indonésia. Atualmente é cultivado em várias regiões do mundo (Hussain *et al.*, 2017). Seus botões florais secos são popularmente conhecidos como cravo (**Figura 18**). São amplamente utilizados há séculos por suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (Shan *et al.*, 2005).

A Índia é atualmente o segundo maior consumidor de cravo no mundo, após a Indonésia (Board, 2010). A colheita do cravo em diferentes épocas e países assegura sua disponibilidade durante todo o ano. As árvores de cravo, que podem viver por até 100 anos ou mais, apresentam copas variando de piramidais a cilíndricas. Elas se desenvolvem melhor em solos bem drenados e úmidos, exigindo intensa luz solar, temperaturas elevadas entre 25 e 35°C, chuvas bem distribuídas e

umidade relativa do ar acima de 70% (Danthu *et al.*, 2013). Estas árvores não suportam terrenos alagados (Byng, 2016).



Figura 17. Folhas e botões florais de *S. aromaticum*.

Fonte: Usuário do Pinterest. [s.d.]. Disponível em: <https://www.pinterest.com/>. Acesso em: 23 jul. 2024.



Figura 18. Botões florais secos, também chamados de cravo.

Fonte: Bittersweet Lorve. [s.d.]. Disponível em: <https://bittersweetlorve.blogspot.com>. Acesso em: 23 jul. 2024.

Sua ampla distribuição abrange as regiões tropicais e subtropicais da Ásia (Indonésia, Sri Lanka, Índia, Tanzânia, Malásia), Madagascar, África e em toda a região do Pacífico e oceânia (Cock e Cheesman, 2018). O cravo é cultivado no Brasil, na região nordeste do estado da Bahia (regiões de Valença, Ituberá, Taperoá, Camamu e Nilo) em cerca de 8000 hectares de terra (Oliveira *et al.*, 2007).

O cravo tem sido amplamente utilizado em diversas culturas ao longo da história, desempenhando papéis significativos tanto na culinária quanto na medicina tradicional. Em muitas sociedades, o cravo não é apenas uma especiaria valorizada por seu aroma e sabor únicos, mas também, por ser uma planta medicinal com vasta

gama de aplicações terapêuticas. Os cravos são usados há mais de 2000 anos pelos asiáticos. Na culinária asiática, especialmente na Indonésia e Índia, o cravo é um ingrediente essencial em várias receitas tradicionais. Na Indonésia, por exemplo, é usado em pratos como o *rendang* e diversas sopas aromáticas. Na Índia, o cravo é um componente chave de misturas de especiarias como o *garam masala* e é frequentemente utilizado em chás, como o *chai*, conferindo um sabor picante e aquecido (Achaya, 1994).

No Oriente Médio e no Norte da África, o cravo é amplamente utilizado em pratos doces e salgados, além de ser um ingrediente popular em bebidas festivas e chás. Na Europa, o cravo tem sido usado há séculos em receitas natalinas, como biscoitos, bolos e vinhos quentes, destacando-se pela sua capacidade de conferir um aroma e sabor profundos e complexos aos alimentos (Civitello, 2011).

No campo da medicina tradicional, o cravo tem uma longa história de uso terapêutico. Na Ayurveda, sistema de medicina tradicional indiana, o cravo é utilizado para tratar problemas digestivos, respiratórios e dores de dente. É conhecido por suas propriedades carminativas, que ajudam a aliviar flatulência e indigestão, além de suas qualidades antimicrobianas e analgésicas (Lad, 2002).

Na medicina tradicional chinesa (MTC), o cravo é considerado uma erva quente que aquece o corpo e melhora a circulação. É usado para tratar condições como frio no estômago, soluços e dores abdominais. As propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias do cravo também são valorizadas na MTC, sendo utilizado em várias formulações para combater infecções e reduzir a inflamação (Bensky et al., 2004).

No Ocidente, especialmente na medicina herbal europeia, o cravo tem sido tradicionalmente usado para tratar dores de dente e gengivite devido às suas propriedades anestésicas locais (Mills e Bone, 2000). O óleo de cravo, rico em eugenol, é aplicado diretamente nas áreas afetadas para proporcionar alívio rápido da dor (Chaieb *et al.*, 2007). Além disso, é utilizado em xaropes para tosse e outros remédios para aliviar sintomas respiratórios (Burt, 2004).

O cravo consiste em um botão e um caule. Ambas as partes têm propriedades úteis quando consumidas cruas ou em forma processada. O óleo de cravo é extraído do cravo por decocção e percolação (Thangaselvabai *et al.*, 2010). Os botões da árvore de cravo apresentam maior interesse comercial em relação às outras partes. A produção de botões começa cerca de quatro anos após o plantio, e a colheita é

feita manualmente ou com a ajuda de fito-hormônios naturais na fase anterior à floração (Cortés-Rojas *et al.*, 2014). O cravo tem diversos usos, especialmente medicinais e na perfumaria. É considerado uma especiaria com potencial para ser usada como conservante natural em alimentos, especialmente na carne, devido às suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas, substituindo conservantes químicos (Cortés-Rojas *et al.*, 2014; Chomchalow, 2001).

O cravo é usado para o tratamento e cura de muitas doenças. Uma das novas aplicações inclui seu uso como agente larvicida para combater a dengue (Wolloway *et al.*, 2004). O cravo também é utilizado no tratamento de distúrbios digestivos, como diarreia, náusea, flatulência e dispepsia. Atua como agente antibacteriano, melhorando o sistema de defesa do corpo. Também é utilizado no tratamento de pé de atleta, onicomicose e condições respiratórias como tosse, resfriado, asma, bronquite e sinusite. O cravo demonstrou ser eficaz em carcinomas pulmonares e de pele, além de diabetes, pois controla os níveis de glicose no sangue. A aplicação tópica de óleo de cravo alivia câibras musculares e dores de cabeça. Inalar seu aroma ajuda na redução da inquietação, alivia a confusão mental, depressão e sonolência (Trongtokit *et al.*, 2005). As ações farmacológicas do cravo são classificadas em várias categorias com base em sua atividade antimicrobiana, anti-inflamatória (Abdullah *et al.*, 2015), antiestresse, antioxidante, antiviral (Khan *et al.*, 2012), hepatoprotetora (Thuwaini *et al.*, 2016) e antinociceptiva (Daniel *et al.*, 2009), entre outras.

O cravo é amplamente reconhecido como uma fonte rica de moléculas fenólicas, incluindo ácidos hidroxibenzóicos, flavonoides, propanos hidroxifenil, ácidos hidroxicinâmicos e eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) (**Figura 19**), que é a principal molécula bioativa. Derivados do ácido gálico, como taninos hidrolisáveis, também são encontrados em grandes quantidades na planta fresca (Cortés-Rojas *et al.*, 2014; Shan *et al.*, 2005; Neveu *et al.*, 2010). Além disso, o cravo contém flavonoides como quercetina e canferol, e ácidos fenólicos como ácido ferúlico, cafeico, elágico e salicílico (**Figura 19**) (Cortés-Rojas *et al.*, 2014).

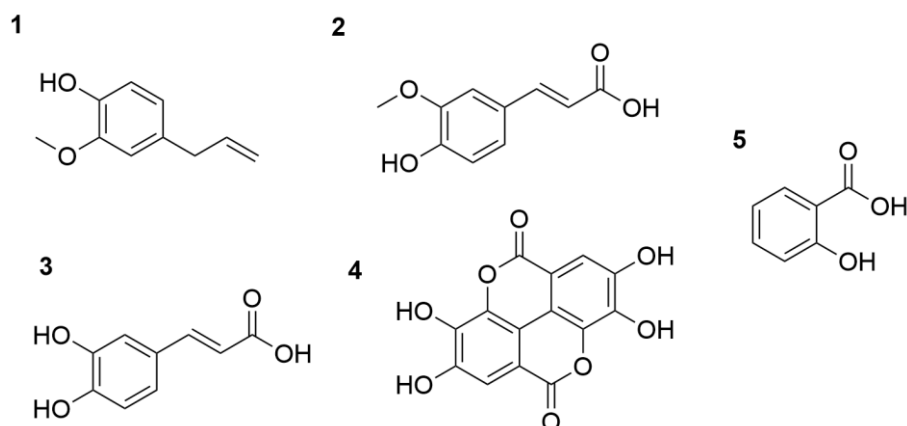


Figura 19. Estrutura dos compostos eugenol (1) ácido ferúlico (2), ácido cafeico (3), ácido elágico (4) e ácido salicílico (5).
Fonte: própria autora (2024).

Os botões florais do cravo contêm de 15 a 20% de óleo essencial, composto principalmente por eugenol (70-85%), acetato de eugenol (15%) e β -cariofileno (5-12%) (Pino *et al.*, 2001). O óleo das folhas apresenta de 3 a 4,8% de óleo essencial, 38,3 a 95,2% de eugenol, 51,2 a 1,5% de acetato de eugenol e 6,3 a 0,2% de β -cariofileno (Al-Mijalli *et al.*, 2023). O óleo do caule do cravo apresenta 6% de óleo essencial, 80,2% de eugenol e 6,6% de β -cariofileno (Pino *et al.*, 2001). O óleo do fruto apresenta 2% de óleo essencial e de 50 a 55% de eugenol (Gopalakrishnan e Narayanan, 1988). O óleo de cravo é incolor ou amarelo pálido, com um sabor e aroma característicos. A variação no conteúdo e na composição do óleo essencial de cravo depende de fatores como pré-tratamentos, variedade, condições agroecológicas e métodos de extração (Hastuti *et al.*, 2017).

Estudos realizados por Gülçin (2011) documentaram a eficácia antioxidante *in vitro* do eugenol, destacando a relação entre estrutura e atividade. O eugenol facilita a doação de átomos de hidrogênio e estabiliza o radical fenóxi, formando moléculas estáveis que não promovem ou aumentam a oxidação. Além do mais, o composto eugenol possui uma ligação da cadeia de carbono ao anel aromático, que pode estar envolvida na estabilização do radical fenóxi por ressonância. A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) revelou 36 componentes no óleo essencial de cravo, isolados por hidrodestilação, como eugenol, β -cariofileno, acetato de eugenol, hexanoato de etila, 2-heptanona, α -humuleno, calacoreno, humulenol e calameneno (Sulaiman *et al.*, 2020; Prachar *et al.*, 2006; Pawar e Thaker, 2006; Chaieb *et al.*, 2007).

Diversas moléculas do *S. aromaticum*, como canferol, biflorina, 5,7-diidroxi-2-metilcromona-8-C- β -D-glicopiranosídeo, glicosídeo de ácido orselínico, miricetina, rhamnocitrina, ácido gálico, ácido oleanólico, ácido elágico e flavonoides triglicosídeos, foram documentadas por sua eficácia na inibição de patógenos orais (Koba *et al.*, 2011). O extrato etanólico de *S. aromaticum* demonstrou alta eficácia antioxidante e atividade hepatoprotetora em danos hepáticos induzidos por paracetamol, possivelmente devido à estabilização da membrana celular e à recuperação do parênquima hepático e regeneração dos hepatócitos (Paarakh, 2010).

Essawi e Srour (2000) conduziram testes *in vitro* para avaliar a eficácia antimicrobiana de seis extratos herbais medicinais contra quatro espécies bacterianas, identificando *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e *Bacillus subtilis* como os mais inibidos. O extrato de *S. aromaticum* foi o mais ativo contra bactérias multirresistentes. Joshi *et al.* (2011) descobriram que *S. aromaticum* foi extremamente eficaz contra *Salmonella typhi*. Jirovetz *et al.* (2006) mostraram que o extrato do botão floral de *S. aromaticum* teve uma atividade antibacteriana notável contra isolados de *Bacillus* e *Serratia marcescens*. Oulkheir *et al.* (2017) relataram que o óleo essencial de cravo produziu uma zona de inibição de 16 mm contra *E. coli* e uma zona de inibição maior (20 mm) contra espécies de *Salmonella*, sem efeito sobre *K. pneumoniae*. Haroun e Al-Kayali (2016) notaram uma boa sinergia entre o extrato etanólico de *S. aromaticum* e vários antibióticos em comparação com o extrato aquoso contra isolados de *S. aureus*. Curiosamente, pesquisas anteriores investigaram a eficácia antifúngica do eugenol e do óleo de cravo contra leveduras, fungos filamentosos e fungos patogênicos humanos (Velluti *et al.*, 2004; Lopez *et al.*, 2005; Gayoso *et al.*, 2005; Chaieb *et al.*, 2007) e sua atividade deve ser caracterizada. Além disso, Nejad *et al.* (2017) relataram a eficácia antibacteriana de várias moléculas bioativas naturais, como timol, eugenol, carvacrol e cinamaldeído, contra *E. coli*, e observaram que o eugenol teve a menor eficácia antibacteriana, enquanto a combinação de carvacrol, timol, cinamaldeído e eugenol apresentou eficácia sinérgica (Pei *et al.*, 2009).

2.6 *Petiveria alliacea* L.

Petiveria alliacea L. (*P. alliacea*) (**Figura 20**) pertencente à família Phytolaccaceae, é um arbusto perene amplamente distribuído nas regiões tropicais das Américas, Caribe e África subsaariana (Duarte e Lopes, 2005). Essa planta é conhecida por suas folhas alternadas e elípticas, flores bissexuais de cor variada e frutos do tipo aquênio (Andrade, 2011; Soares *et al.*, 2013). No Brasil, a planta é utilizada em cerimônias religiosas desde a época da escravidão, sendo popularmente chamada de "amansa senhor" devido às suas propriedades sedativas e psicoativas (Camargo, 2007).



Figura 20. Folhas e inflorescência de *P. alliacea*.

Fonte: TRAMIL. [s.d.]. Disponível em: <https://tramil.net>. Acesso em: 23 jul. 2024.

Na medicina indígena, *P. alliacea* é valorizada por suas propriedades terapêuticas, incluindo ações diuréticas, antiespasmódicas, anti-inflamatórias e antimicrobianas (Duarte e Lopes, 2005). Preparações dessa planta também são usadas no tratamento de condições do sistema nervoso central, como convulsões, ansiedade e como sedativo (Gomes *et al.*, 2005).

Nas últimas décadas, pesquisas com modelos animais validaram muitos dos usos tradicionais de *P. alliacea*, destacando a presença de compostos como derivados de enxofre, flavonoides e alcaloides, que possuem potencial para interagir com o sistema nervoso central (Williams *et al.*, 2007). No entanto, os mecanismos de ação específicos e os compostos responsáveis por essas atividades ainda não são totalmente compreendidos.

Além de seus benefícios farmacológicos, *P. alliacea* também apresenta toxicidade, com relatos de efeitos adversos no SNC e até mortes após exposição crônica (Lima *et al.*, 1991).

P. alliacea é conhecida pela presença de compostos sulfurosos, especialmente nas raízes. Estes compostos foram primeiramente identificados por Adesogan (1974), que detectou a presença de cis-3,5-difenil-1,2,4-tritriolano e enxofre elementar. A cromatografia em coluna dos extratos das raízes revelou a presença de trissulfeto de dibenzila (DTS) (De Sousa *et al.*, 1990), que até então era conhecido apenas como um composto sintético.

Benevides *et al.* (2001) investigaram a atividade antifúngica dos extratos metanólicos de *P. alliacea*, destacando a atividade elevada dos extratos das raízes. Seis frações bioativas resultaram deste estudo, levando à identificação de novos polissulfetos, incluindo dibenzil sulfeto e benzil hidroximetil sulfeto (Figura 21). Outros compostos identificados incluem dibenzil dissulfeto (Figura 21), dibenzil tetrasulfeto e di(benziltrítio) metano. Além disso, dois compostos já conhecidos, di-n-propil dissulfeto e DTS (Figura 21), foram identificados.

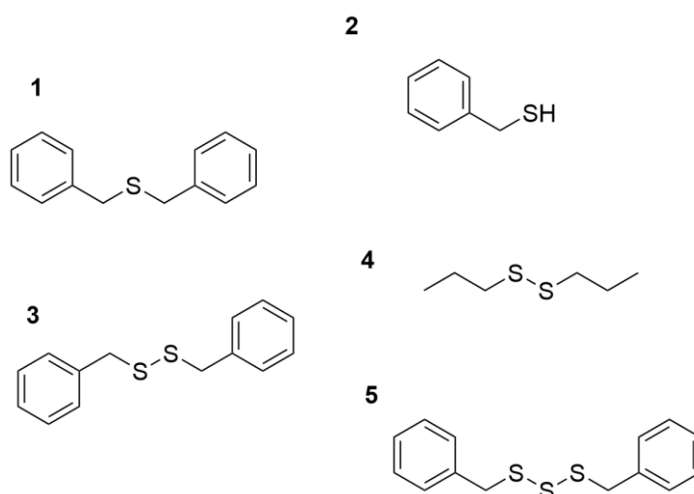


Figura 21. Estrutura dos compostos dibenzil sulfeto (1), benzil hidroximetil sulfeto (2), dibenzil dissulfeto (3), di-n-propil dissulfeto (4) e DTS (5).
Fonte: própria autora (2024).

Kubec e Musah (2001) relataram a identificação de fitocompostos não voláteis a partir das raízes frescas de *P. alliacea*, isolando diastereoisômeros do sulfóxido de S-benzilcisteína, denominados petiveriin A e B. Derivados de S-metil-, S-etil- e S-propilcisteína foram posteriormente identificados nas raízes, junto com quatro tiosulfatos (Kubec *et al.*, 2002).

Em uma análise sensorial, Kubec *et al.* (2003) identificaram o (Z)-tiobenzaldeído S-óxido, responsável pelo odor forte e lacrimogêneo característico da planta. Outros compostos como γ -glutamil dipeptídeos foram detectados, sugerindo

sua função como reservatórios de nitrogênio e enxofre e precursores na biossíntese de S-alqu(en)ilcisteína sulfóxidos.

Estudos recentes detectaram compostos sulfurosos não apenas nas raízes, mas também nos caules e folhas de *P. alliacea* (Hernández *et al.*, 2014), bem como em extratos hidroalcoólicos das folhas (Silva *et al.*, 2015), sugerindo uma distribuição mais ampla desses compostos na planta.

Flavonoides são encontrados principalmente nas folhas de *P. alliacea*. Monache e Suarez (1992) identificaram flavanonas como 6-formil-8-metil-7-O-metilpinocembrina, leridol e seu éter 5-O-metil (5-O-metilleridol). Frações de acetato de etila do extrato das folhas continham engeletina, astilbina e miricitrina. A hidrólise ácida do extrato das folhas produziu diidroquercetina e miricetina. Flavonoides adicionais, como a chalcona leridal e as flavanonas petiveral e *o*-petiveral-4-etil, foram também identificados (Monache *et al.*, 1996).

Diferentes partes de *P. alliacea* exibem perfis fitoquímicos variados. A análise de TLC das raízes revelou a presença de cumarinas, mas não alcaloides (Rocha e Silva, 1969). Em contrapartida, estudos na Argentina detectaram alcaloides em folhas e raízes (Bandoni *et al.*, 1976).

De Sousa *et al.* (1990) isolaram pinitol e β -sitosterol das inflorescências, raízes e caules, além de descreverem dois alcaloides: trans-N-metil-4-metoxiprolina e alantoina. Lipídios e triterpenos como α -friedelinol, isoarborinol e seus derivados também foram identificados nas folhas (Monache *et al.*, 1996).

O óleo essencial de *P. alliacea*, extraído das folhas, caules, raízes e inflorescências, é amarelo e possui um odor forte devido ao sulfeto de alila (Domínguez, 1928). Estudos comparativos do óleo essencial de raízes de diferentes regiões revelaram variações na composição volátil (Bezerra, 2006).

Análises dos óleos essenciais de diferentes partes da planta, de diversas regiões e em diferentes estações, mostraram que os principais compostos incluem benzaldeído, dibenzil dissulfeto e DTS (Kerdudo *et al.*, 2015). Essas variações dependem da origem e da estação de coleta, destacando a diversidade fitoquímica de *P. alliacea*.

P. alliacea é amplamente utilizada na América Latina para aliviar diversos tipos de dor, incluindo dor de dente, dor de cabeça e "dor nas pernas" (Lima *et al.*, 1991; Albuquerque *et al.*, 2012). A administração intraperitoneal (i.p.) de frações de acetato (FA), hexânica (FH), hidroalcoólica (FHA) e hidroalcoólica precipitada

(FHAppt) dos extratos das raízes de *P. alliacea* (nas doses de 100 e 200 mg/kg) demonstraram atenuar a dor neurogênica induzida pelo estímulo químico com ácido acético (0,6%, 10 ml/kg, i.p.) em camundongos fêmeas Swiss (Gomes *et al.*, 2005).

Os efeitos antinociceptivos das frações de *P. alliacea* também foram observados no teste de formalina (formalina 1%, 20 µl, i.p.). FHA (100 e 200 mg/kg) induziu uma inibição significativa das respostas de dor em ambas as fases do teste: primeira fase (51,4% e 55,4%) e segunda fase (57,9% e 97,9%) (Gomes *et al.*, 2005). Além disso, FH (200 mg/kg) e FHAppt (200 mg/kg) promoveram antinocicepção seletivamente na segunda fase do teste de formalina, de forma semelhante ao observado para a morfina (10 mg/kg, 89,6% de inibição), usada como controle positivo (Gomes *et al.*, 2005).

Curiosamente, a administração subcutânea (s.c.) do antagonista dos receptores opioides naloxona (2 mg/kg) antes do teste de formalina não foi capaz de prevenir os efeitos antinociceptivos de FH (200 mg/kg em ambas as fases), FHA (200 mg/kg na primeira fase) e FHAppt (200 mg/kg na segunda fase) (Gomes *et al.*, 2005). Esses resultados sugerem um mecanismo não-opioide mediando os efeitos antinociceptivos da administração aguda de diferentes frações dos extratos das raízes desta planta em camundongos. No entanto, deve-se enfatizar que as ferramentas metodológicas utilizadas pelos autores para avaliar os efeitos antinociceptivos (teste de contorção e teste de formalina) não são adequadas para identificar um mecanismo de ação específico (Trevisan *et al.*, 2014).

Como as duas fases do teste de formalina são sensíveis a substâncias de ação central, esses resultados podem sugerir que algumas substâncias presentes nas frações dos extratos das raízes de *P. alliacea* podem induzir antinocicepção através de outros mecanismos do SNC. No entanto, mecanismos periféricos também podem contribuir para os diversos efeitos antinociceptivos exercidos por diferentes frações de *P. alliacea* (Le Bars *et al.*, 2001).

Além disso, a miricitrina, um flavonoide glicosídeo também encontrado em *P. alliacea*, apresenta relatos de possuir propriedades antioxidantes, analgésicas, anti-inflamatórias e antinociceptivas (Domitrović *et al.*, 2015). Nos últimos anos, vários estudos relataram os efeitos antinociceptivos desse flavonoide, os quais estão associados, pelo menos em parte, aos seguintes mecanismos: i) inibição das atividades da proteína quinase C (PKC) e PI-3 quinase, ii) diminuição da produção de óxido nítrico (NO) e ativação do fator nuclear kappa B (NFκB), iii) ativação da via

da proteína Gi/0, iv) aumento do efluxo de K⁺, v) e diminuição do influxo de Ca²⁺ intracelular (Meotti *et al.*, 2007). Portanto, a miricitrina pode representar um dos muitos compostos ativos encontrados em *P. alliacea* responsáveis pelo alívio da dor em humanos e animais de laboratório.

P. alliacea é tradicionalmente utilizada na medicina popular para tratar a ansiedade, mas estudos têm mostrado resultados contraditórios. Gomes *et al.* (2008) descobriram que frações dos extratos das raízes da planta não apresentaram efeitos ansiolíticos em camundongos, enquanto Blainski *et al.* (2010) observaram que extratos liofilizados da planta inteira e das partes aérea induziram efeitos ansiogênicos, mas também encontraram efeitos ansiolíticos. Além disso, Audi *et al.* (2001) relataram que um extrato hidroalcoólico de parte aérea de *P. alliacea* exerceu efeitos ansiolíticos seletivos em ratos, sugerindo que diferentes partes da planta e preparações podem ter efeitos variados sobre a ansiedade.

Não há uma descrição clara na literatura sobre o uso antidepressivo de *P. alliacea* na medicina popular. No entanto, as folhas e raízes de *P. alliacea* são usadas como estimulantes em várias regiões do Brasil e Trinidad (Negri e Rodrigues, 2010). Distúrbios depressivos apresentam sintomas como humor deprimido, perda de interesse ou prazer, culpa ou baixa autoestima, distúrbios do sono e do apetite, baixa energia e concentração deficiente (Who, 2023). Os antidepressivos são uma classe de medicamentos que pode causar efeitos adversos e várias plantas são usadas na medicina popular com a justificativa de melhorar o bem-estar psicológico. A busca por novos medicamentos antidepressivos derivados de plantas medicinais tem sido o objetivo de várias investigações científicas, incluindo as frações dos extratos das raízes de *P. alliacea*.

Blainski *et al.* (2010) relataram os efeitos antidepressivos de extratos de *P. alliacea* na inibição do comportamento de natação de camundongos Swiss machos no teste do nado forçado. Em outro estudo, França *et al.* (2015) investigaram os efeitos antidepressivos do extrato etanólico de partes aéreas de *P. alliacea*. Camundongos Swiss fêmeas foram tratados com o extrato (200 e 400 mg/kg, i.p.) e avaliados no teste do nado forçado. O tratamento com 400 mg/kg de extrato reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos animais, indicando um efeito antidepressivo. Esses achados sugerem que *P. alliacea* pode conter compostos bioativos com potencial antidepressivo. No entanto, são necessários mais estudos

para identificar esses compostos e elucidar os mecanismos de ação subjacentes aos seus efeitos antidepressivos.

As folhas de *P. alliacea* e outras espécies classificadas como "tônico para o cérebro" têm sido utilizadas como potencializadores de memória e cognição (Negri e Rodrigues, 2010; Rodrigues *et al.*, 2008). Na medicina popular, preparações contendo folhas e raízes de *P. alliacea* são empregadas para melhorar a memória (Mors, 2002). Mors foi o primeiro a relatar os efeitos do extrato da planta inteira de *P. alliacea* (900 mg/kg, via oral) nos processos de aprendizagem e memória em ratas Wistar fêmeas de laboratório. Salina (0,9%, 10 ml/kg, via oral) e cafeína (10 mg/kg) foram utilizados como controles negativos e positivos, respectivamente. Ao analisar os dados, ele descobriu que as ratas tratadas com o extrato da planta inteira apresentaram melhora na memória de longo prazo, mas não na memória de curto prazo.

Mors (2002) atribuiu esse efeito à possível presença de trissulfeto de dibenzila (DTS) no extrato de *P. alliacea*. Esse componente químico aumenta a hiperfosforilação da quinase ativada por mitógeno induzida por fator de crescimento (MAPK) (ERK1 e ERK2), um mecanismo crítico associado à melhora da memória de longo prazo e ao crescimento neuronal (Williams *et al.*, 2007).

Considerando o uso tradicional da planta (folhas e raízes) para melhorar a memória, Silva *et al.* (2015) realizaram um estudo para investigar os possíveis efeitos do extrato hidroalcoólico das folhas de *P. alliacea* (EHFPa) na aprendizagem e memória de ratos Wistar machos e fêmeas. Os animais foram tratados agudamente com EHFPa (900 mg/kg, via oral), cafeína (10 mg/kg, i.p.) ou salina (0,9%, 10 ml/kg, via oral) e submetidos aos testes de esQUIVA inibitória de passo e labirinto aquático de Morris. Os resultados obtidos em ambos os testes confirmaram os efeitos positivos de EHFPa na memória de longo prazo. Esses efeitos foram atribuídos aos constituintes químicos do extrato, como flavonoides, esteroides, triterpenos, DTS, tiosulfatos e polissulfetos. Esses resultados também identificam substâncias conhecidas por terem um efeito positivo na função cognitiva (Kubec e Musah, 2001; Williams *et al.*, 2007; Kennedy e Wightman, 2011).

2.7 *Allium sativum* L.

Allium sativum L. (*A. sativum*), comumente conhecido como alho (**Figura 22**), é uma planta pertencente à família Amaryllidaceae. Originária do continente asiático, o alho é também extensivamente cultivado em regiões como Egito, México, China e Europa. Todas as partes do *A. sativum*, incluindo bulbos, folhas, dentes e flores, são empregadas na preparação de misturas e decocções para tratar diversas enfermidades. Além disso, o alho é uma especiaria comum e um aditivo alimentar muito utilizado. Pesquisas sobre sua fitoquímica destacam que compostos sulfurados, como a alicina, são seus principais componentes ativos. A alicina (dialil-ditiosulfinato) é o alcaloide mais relevante, sendo a principal responsável pelos efeitos benéficos do alho. Outros compostos sulfurados presentes no *A. sativum* incluem o dissulfeto de dialil, o trissulfeto de dialil e a S-alicisteína, todos com variadas propriedades farmacológicas (Subroto *et al.*, 2021).



Figura 22. Bulbos de *A. sativum*.

Fonte: Tsammalex. [s.d.]. Disponível em: <https://tsammalex.clld.org>. Acesso em: 23 jul. 2024.

A. sativum é uma planta herbácea perene e de grande porte, com caules floridos que podem atingir até 1 metro de altura. As folhas são lineares, achatadas e robustas, medindo aproximadamente 1,25 a 2,5 cm de comprimento, com pontas afiadas. As flores, que variam de violeta a fúcsia, desabrocham no Hemisfério Norte durante as monções. Folhas finas ao redor do bulbo perfumado envolvem uma bainha interna que contém os dentes, com cada bulbo contendo entre 10 e 20 dentes e o bulbo é a parte principal utilizada para tratar várias doenças (Subroto *et al.*, 2021).

Os bulbos de *A. sativum* contêm diversos compostos bioativos, muitos deles ricos em enxofre, como os tiosulfatos (alicina), sulfetos [dissulfeto de dialil (DADS)], vinilditiínas (2-vinil-(4H)-1,3-ditiína, 3-vinil-(4H)-1,2-ditiína), ajoenos (E-

ajoeno e Z-ajoeno), e trissulfeto de dialil (DATS) (**Figura 23**), que juntos representam até 82% do teor total de enxofre no alho. Alicina, S-metil cisteína sulfóxido (MCSO) e S-propilcisteína sulfóxido (PCSO) são os principais compostos, sendo a alicina o sulfóxido de cisteína predominante. Quando a alicina, MCSO e PCSO são metabolizados por várias enzimas, produzem moléculas adicionais, como tiosulfatos de alilo metano, metanoetiosulfonato de metila e outros tiosulfatos (Al-Snafi, 2013; El-Saber Batiha *et al.*, 2020).

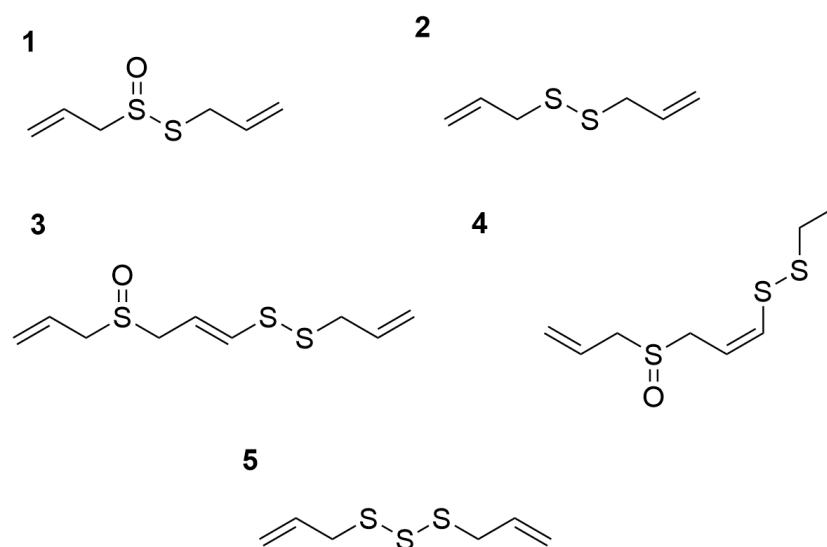


Figura 23. Estrutura química dos compostos alicina (1), sulfetos dissulfeto de dialil (2), E-ajoeno (3), Z-ajoeno (4), e trissulfeto de dialil (5).
Fonte: própria autora (2024).

Seus benefícios medicinais foram registrados em textos sânscritos com cerca de 5.000 anos de idade e mencionados pela primeira vez na MTC há pelo menos 3.000 anos (Londhe, 2011). Atualmente, o alho é cultivado em quase todas as regiões do mundo e conta com mais de 300 variedades conhecidas (Majewski, 2014)).

Esta planta é utilizada no tratamento de febre, tosse e é aplicado topicamente para combater sarna, embranquecimento dos cabelos e eczema, além de ser eficaz contra inflamações do tétano e pulmões (Qiu *et al.*, 2022). No Paquistão, o extrato da planta é ingerido para tratar doenças estomacais, problemas respiratórios e febre. Em regiões como Nepal, Oriente Médio e Leste Asiático, o alho é empregado no tratamento de febres, reumatismo, distúrbios hepáticos, diabetes, cólicas, vermes intestinais, disenteria, flatulência, tuberculose, pressão alta, paralisia facial e bronquite. Na África, o *A. sativum* tem sido reconhecido por suas propriedades

antibióticas, antivirais, hipolipidêmicas, hipoglicêmicas e antitrombóticas (Qiu *et al.*, 2022; Bhatwalkar *et al.*, 2021).

Estudos demonstram que extratos de alho envelhecido e não envelhecido exibem distintos efeitos antioxidantes e capacidade quelante de Fe^{2+} (Jang *et al.*, 2018). Compostos de alho monobulbo mostraram maior atividade antioxidante e resistência à hepatotoxicidade oxidativa comparados aos de multibulbos (Naji *et al.*, 2017).

Extratos fermentados de alho, produzidos por bactérias do ácido láctico, mostraram proteger contra danos hepáticos agudos induzidos por paracetamol em roedores, reduzindo o estresse oxidativo e regulando mecanismos de morte celular. Além disso, compostos de alho demonstraram proteger o fígado de peroxidação induzida por etanol e outras toxinas, mantendo níveis normais de enzimas hepáticas e indicadores metabólicos (Lee *et al.*, 2016). A combinação de alho com ácido ascórbico mostrou-se eficaz contra a toxicidade induzida por cádmio, reduzindo o estresse oxidativo e danos ao DNA (Kaur e Sharma, 2015).

Extratos de alho e alicina exibiram efeitos anti-inflamatórios significativos em diversos modelos, incluindo a redução da produção de óxido nítrico, prostaglandina E, $\text{TNF-}\alpha$ e interleucina-1 (Moriyama *et al.*, 2017). Extratos de alho envelhecido inibiram respostas inflamatórias em modelos murinos, suprimindo a síntese de citocinas pró-inflamatórias. O linoleato de etila (ELA), isolado do alho, demonstrou suprimir a síntese de iNOS e COX-2, reduzindo a inflamação (Park *et al.*, 2014).

Extratos de alho fermentado mostraram reduzir a pressão arterial e melhorar a função cardiovascular em modelos animais (Takashima *et al.*, 2017). Além disso, o alho reduziu níveis de colesterol total, LDL, HDL e glicemia, melhorando a função endotelial e reduzindo a hipertensão arterial pulmonar (Park *et al.*, 2017). Estudos indicam que extratos alcoólicos e aquosos de alho reduzem o crescimento de tumores em modelos animais e inibem a proliferação de células cancerígenas humanas (Jikihara *et al.*, 2015). Compostos como o trissulfeto de dialil (DATS) induziram apoptose em células de câncer gástrico e melhoraram a resposta imunológica. A alicina, um composto do alho, mostrou-se eficaz contra o câncer gástrico, interrompendo o ciclo celular e induzindo apoptose em células tumorais (Jiang *et al.*, 2017). A alicina demonstrou inibir a tumorigênese gástrica e induzir danos ao DNA em células cancerígenas, ativando vias apoptóticas e de estresse oxidativo. Ela atua interrompendo o ciclo celular durante a fase G2/M e promovendo

a apoptose em células tumorais, sem afetar as células normais do estômago (Luo *et al.*, 2016).

Várias investigações estão em andamento ao redor do mundo para desenvolver formulações de alho eficientes e sem odor, além de identificar constituintes bioativos com potencial valor medicinal. No entanto, a extração, produção, propriedades moleculares, físico-químicas e estruturais, bem como as relações estrutura-atividade dos compostos de alho, estão além do escopo desta revisão. Os processos metabólicos dos constituintes do alho consumidos (como alimento ou suplemento) e seus mecanismos de ação em humanos saudáveis não foram bem detalhados. Além disso, as relações entre estrutura e bioatividade permanecem obscuras em muitos aspectos farmacológicos (Tudu *et al.*, 2022).

2.8 Ferramentas utilizadas

2.8.1 Cromatografia líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS)

A cromatografia líquida é a técnica de separação analítica mais amplamente utilizada. Sua popularidade deve-se à sua sensibilidade, fácil adaptação para determinações quantitativas precisas, simplicidade de automação, adequação para a separação de espécies voláteis, sejam elas termicamente frágeis ou não, e, acima de tudo, sua ampla aplicabilidade a substâncias importantes para a indústria (Skoog, Holler e Crouch, 2007). Fraige (2012) define a cromatografia como um método físico de separação no qual os componentes a serem separados são distribuídos seletivamente entre duas fases imiscíveis: uma fase móvel e uma fase estacionária. Um sistema de cromatografia é composto basicamente por uma bomba de alta pressão para eluição da fase móvel, um injetor, uma coluna cromatográfica, um detector e um sistema de aquisição de dados.

Já a espectrometria de massas (EM) é definida como uma técnica extensivamente aplicável a diversos instrumentos analíticos, uma vez que pode fornecer informações sobre a composição química e molecular de estruturas inorgânicas, orgânicas e biológicas; a composição qualitativa e quantitativa de misturas complexas, a estrutura e composição de superfícies sólidas, e proporções de isótopos de átomos em amostras (Skoog, Holler e Crouch, 2007). Nos estudos de metabolômica que utilizam a espectrometria de massas, existem duas etapas

cruciais: a ionização dos metabólitos e a separação dos íons pelo analisador de massas. Para a separação dos íons, podem-se usar instrumentos de alta e baixa resolução.

Neste trabalho, o analisador utilizado foi um Quadrupolo acoplado a um analisador de Tempo-de-Voo (QTOF). O núcleo de um instrumento quadrupolo consiste em quatro hastes cilíndricas paralelas (originalmente hiperbólicas) que atuam como eletrodos. Hastes opostas são eletricamente conectadas, com um par ligado ao terminal positivo de uma fonte de energia variável e o outro par ao terminal negativo (Skoog, Holler e Crouch, 2007). Em instrumentos TOF, os íons que entram no tubo devem ter a mesma energia cinética; suas velocidades variam inversamente em relação às suas massas, com as partículas mais leves alcançando o detector antes das mais pesadas. (Skoog, Holler e Crouch, 2007).

Existem diversas técnicas analíticas utilizadas em estudos de metabolômica. A ressonância magnética nuclear, por exemplo, desempenha um papel crucial na determinação estrutural de metabólitos. Contudo, a EM tem se destacado amplamente nesta área de pesquisa, especialmente na química de produtos naturais, por permitir a análise de misturas complexas contendo substâncias com diferentes características físico-químicas (Yang *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2015). A técnica oferece flexibilidade para ser acoplada a métodos cromatográficos (Lisec *et al.*, 2006) e é capaz de detectar metabólitos em baixas concentrações graças à sua alta sensibilidade (Zhang, Sun e Wang, 2018). Além disso, a EM requer quantidades muito pequenas de amostra (menos de 1 mg de extrato), o que reduz a quantidade de material necessário e permite o uso de volumes mínimos de solventes para extração e análise. Devido a essa economia no uso de solventes, a EM é considerada uma técnica analítica "verde" (Molina-Díaz *et al.*, 2019).

2.8.2 Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS)

A química de produtos naturais voltada para as ciências ômicas, ou para a compreensão de eventos multifatoriais, tem explorado a análise estatística, bioinformática e quimiometria como métodos alternativos para organizar, armazenar, mapear e examinar conjuntos de dados complexos com rapidez e precisão (Fox Ramos *et al.*, 2019). A análise por redes moleculares emerge nesse contexto como uma ferramenta eficaz para organizar e visualizar grandes volumes de dados (Pilon

et al., 2019). Baseando-se em dados espectrais, a rede molecular facilita a identificação de padrões entre diferentes conjuntos de amostras. Isso permite reconhecer classes metabólicas, grupos substituintes e funções orgânicas em estruturas complexas de produtos naturais (18-28).

A plataforma GNPS (Global Natural Products Social Molecular Networking), uma ferramenta online e gratuita, é destaque na organização e análise de dados de espectrometria de massas, permitindo a anotação de compostos conhecidos e a descoberta de novos produtos bioativos (**Figura 24**). O GNPS utiliza a similaridade espectral para criar redes que ajudam a identificar classes metabólicas e funções orgânicas, sendo uma ferramenta valiosa para a pesquisa de produtos naturais no século XXI (Wang et al., 2016; Aron et al., 2020).

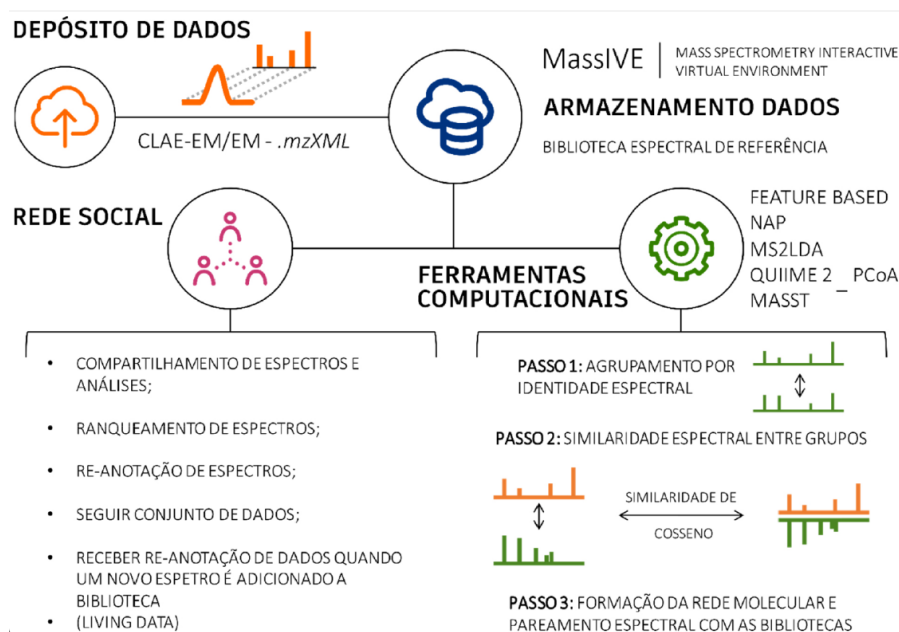


Figura 24. Esquema ilustrativo da estrutura da plataforma GNPS.

Fonte: Pilon et al., 2021

A plataforma GNPS é projetada para a análise de grandes conjuntos de dados de espectrometria de massas, utilizando íons fragmentados. Esses dados podem ser obtidos através de aquisição dependente de dados (DDA), que envolve o isolamento prévio de íons, ou aquisição independente de dados (DIA), sem isolamento prévio dos íons precursores. Diversas técnicas de ionização, como ESI, APCI, MALDI e EI, e métodos de fragmentação, como CID, HCD e ETD, podem ser usados para criar redes moleculares. No entanto, as informações de espectrometria de massa de uma substância podem variar significativamente dependendo da técnica utilizada,

dificultando a análise uniforme de um conjunto de amostras com diferentes protocolos e instrumentos (Guaratini *et al.*, 2005).

Os algoritmos do GNPS organizam cada espectro adquirido, classificando-os com base em um valor de similaridade calculado pelo cosseno entre os espectros das amostras ou entre as amostras e os espectros de referência nos bancos de dados. Agrupamentos espectrais são gerados a partir de um valor de cosseno pré-estabelecido, com conexões estabelecidas entre espectros que possuam similaridade de cosseno igual ou superior ao valor limite. Cada substância pode ter múltiplos espectros devido a várias fragmentações, sendo necessário um agrupamento de íons para formar um espectro consenso, representado por um nodo na rede molecular (Gaudêncio e Pereira, 2015; Wang *et al.*, 2016; Aron *et al.*, 2020).

Os nodos são anotados utilizando bibliotecas de compostos, considerando critérios de pareamento espectral, número mínimo de picos compartilhados e maximização da similaridade do cosseno, ou sejam, medida utilizada para quantificar quão semelhantes são dois espectros de massas, sendo assim, dois perfis de fragmentação de íons obtidos na espectrometria de massas. O valor de cosseno varia de 0 a 1 e quando mais próximo de 1 mais semelhantes ou relacionados são os espectros.

. A representação das redes permite uma interpretação intuitiva da informação química, associando compostos análogos e suas particularidades químicas (Wang *et al.*, 2016; Aron *et al.*, 2020; Watrous *et al.*, 2012).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil químico dos extratos de *Petiveria alliacea* L, *Eucalyptus globulus* Labill, *Ruta graveolens* L., e *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry e *Allium sativum* L., utilizando redes moleculares.

3.2 Objetivos específicos

- Obtenção do perfil químico através das análises por UPLC-ESI-QqTOF-MS/MS.
- Utilizar técnicas de espectrometria de massas para identificar os compostos presentes nas plantas estudadas.
- Realizar a anotação de compostos utilizando redes moleculares e a plataforma GNPS.

4. METODOLOGIA

4.1 Obtenção do material vegetal

Foram realizadas duas etapas distintas para a obtenção das plantas utilizadas neste estudo. Inicialmente, adquirimos material vegetais já secos, disponível para consumo na forma de chá (flores secas de *S. aromaticum*). Em uma segunda etapa, coletamos quatro tipos de material vegetal, em sua forma *in natura*. Esses materiais consistiram em folhas de *E. globulus*, folhas de *P. alliaceae*, casca do bulbo de *A. sativum*, caule e folhas de *R. graveolens*.

4.2 Extração de metabólitos dos materiais vegetais

Foram adotados os protocolos de extração conforme descritos por Gachet *et al.* (2017), com modificações específicas. O etanol (EtOH) foi escolhido como solvente extrator. Os materiais vegetais obtidos frescos, foram secos utilizando nitrogênio líquido e moídos com o moedor analítico básico A 11. A proporção adotada foi de 1 g de material vegetal para cada 10 mL de solvente. Em seguida, foi realizada a extração com ajuda de ultrassom.

Para cada amostra, foram utilizados os seguintes pesos de material vegetal e volumes de solvente:

Tabela 1. Materiais e solventes.

Espécie	Parte utilizada	Massa vegetal (g)	EtOH (mL)
<i>S. aromaticum</i>	Flores	1,576	15,76
<i>P. alliaceae</i>	Folhas	1,779	17,79
<i>A. sativum</i>	Casca do bulbo	1,092	10,92

<i>E. globulus</i>	Folhas	1,126	11,26
<i>R. graveolens</i>	Caule	1,031	10,31
<i>R. graveolens</i>	Folhas	1,074	10,74

Fonte: própria autora (2024).

Após a filtragem das soluções, foram obtidas frações etanólicas, as quais foram deixadas em repouso durante a noite para permitir a evaporação dos solventes. Em seguida, os extratos foram ressuspensos com EtOH secos novamente e então as amostras foram armazenadas em temperatura ambiente para a próxima etapa do processo.

Tabela 2. Peso dos extratos após a extração com EtOH.

Amostras	EtOH
Alho	9,8 mg
Arruda (folhas)	38,1 mg
Arruda (caule)	17,6 mg
Eucalipto	62,1 mg
Erva-guiné	28,5 mg

Fonte: própria autora (2024).

4.4 Clean-up dos extratos etanólicos

O *clean-up* foi realizado com o objetivo de remover interferentes, como lipídios, proteínas, pigmentos e outras impurezas presentes nas amostras. Essa etapa é crucial para aprimorar o desempenho e a sensibilidade da análise por LC-MS, possibilitando a identificação e quantificação mais precisa dos compostos de interesse.

Para a realização, empregou-se um cartucho contendo uma fase C18 composta por uma matriz sólida de sílica funcionalizada com uma cadeia carbônica octadecila (C18), conhecida por sua característica apolar e afinidade por compostos hidrofóbicos. Durante o processo de purificação, as amostras foram aplicadas ao cartucho C18, resultando na retenção dos compostos hidrofóbicos, enquanto os compostos mais polares atravessaram o cartucho. Em seguida, os compostos retidos foram eluídos do cartucho utilizando metanol (MeOH), um solvente adequado

que interage de forma reduzida com a fase C18. Essa etapa conduziu a limpeza de interferentes dos compostos de interesse.

O processo de limpeza dos interferentes foi iniciado pela ativação do cartucho com 3 mL de MeOH, seguido pela aplicação sequencial de 500 μ L da amostra e 1 mL de MeOH até que o cartucho atingisse sua capacidade máxima. Esse procedimento foi padronizado para todas as amostras, e os extratos resultantes foram armazenados para a próxima etapa do processo. Após o processo de limpeza, os extratos foram diluídos em uma solução de MeOH e água, na proporção de 1 mg/mL. O processo pode ser visualizado na **Figura 25**. Em seguida, foram submetidos à centrifugação e armazenados em frascos de vidro de 2 mL, sendo posteriormente encaminhados para análise por LC-MS.

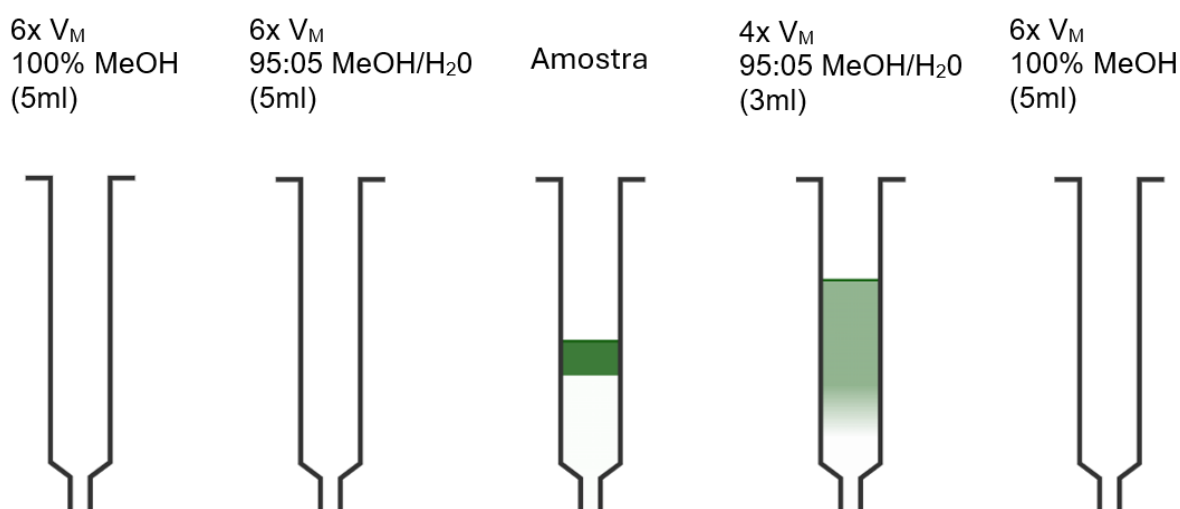


Figura 25. Esquema do processo de Clean-up dos extratos etanólicos utilizando um cartucho C18. Fonte: própria autora (2024).

4.5 Técnicas para análise do perfil químico

4.5.1 Cromatografia Líquida acoplada a um Espectrômetro de Massas de alta resolução (UPLC-ESI-QqTOF-MS/MS)

Para a análise dos extratos por LC-MS de alta resolução foi utilizado um cromatógrafo Waters equipado com uma coluna C18 Acquity UPLC[®] HSST3.

Coluna de LC:

- Coluna: C18 Acquity UPLC® HSST3
- Dimensões: 100 x 2,1 mm
- Tamanho das Partículas: 1,8 µm
- Diâmetro do Poro: 100 Å

Fases Móveis:

- Fase A: H₂O acidificado com 0,1% v/v de ácido fórmico
- Fase B: ACN (Acetonitrila) acidificado com 0,1% v/v de ácido fórmico

Condições de Eluição:

- Gradiente A: 5% a 100% ACN - 25 min
- Gradiente B: 100% ACN - min para limpeza da coluna

Taxa de Fluxo:

- Vazão (Flow Rate): 500 µL/min

Temperatura da Coluna:

- Forno: 40°C

Detecção:

- Detector: DAD (Detector de Arranjo de Diodos)
- Faixa de Detecção: 210 - 800 nm
- Frequência de Aquisição: 20 Hz

Parâmetros de Espectrometria de Massas (MS)

- Modo: Positivo e Negativo
- Faixa de m/z: 100 - 1500

Fonte de Ionização:

- Temperatura da Fonte: 100°C
- Potencial do Capilar de Eletrospray: 2,5 kV
- Potencial do Cone de Transferência: 40 V
- Gás de Dessolvatação:
- Gás: N₂ (Nitrogênio)
- Fluxo: 800 L/h
- Temperatura: 350°C

Experimentos de MS/MS

- Espectros de Massas Baixas: Rampa de potencial de 20 - 40 eV
- Espectros de Massas Altas: Rampa de potencial de 60 - 80 eV

Referência de Massa:

- Composto de Referência: Leucina-encefalina
- Correção de m/z: Utilização de leucina-encefalina para correção dos valores experimentais de m/z
- Concentração da Solução: 200 pg/ μ L
- Infusão Contínua: Através do capilar secundário de eletrospray
- Vazão de Infusão: 5 μ L/min
- Potencial do Capilar Secundário de ESI: 0,5 kV

Monitoramento da Razão m/z: Realizado a uma energia de colisão de 4 eV a cada 10 segundos

4.6 Pré-processamento dos dados utilizando MZmine 2.53

Os espectros adquiridos por LC-MS/MS de alta resolução foram tratados com o software MZmine 2.53.

Para detecção de massas utilizou-se os seguintes parâmetros:

MS nível 1:

- Tamanho mínimo do grupo em número de varreduras: 3
- Limite de intensidade do grupo: 1.0E3
- Intensidade mais alta mínima: 1.0E3
- Tolerância m/z: 0 m/z ou 20 ppm

MS nível 2:

- Tamanho mínimo do grupo em número de varreduras: 3
- Limite de intensidade do grupo: 1.0E3
- Intensidade mais alta mínima: 1.0E3
- Tolerância m/z: 0 m/z ou 20 ppm

Construção de cromatograma (detecção de recursos de LC-MS parte 1):

- ADAP Chromatogram Builder (Myers *et al.*, 2017)

Para a deconvolução do cromatograma (detecção de recursos de LC-MS parte 2), utilizou-se o seguinte algoritmo e parâmetros:

- Algoritmo: Wavelets (ADAP)
- Cálculo do centro m/z: Mediana
- Intervalo m/z para pareamento de varreduras MS2 (Da): 0.02

- Intervalo de tempo de retenção para pareamento de varreduras MS2 (min): 0.02

Listas de Recursos

- Os parâmetros para todas as listas de recursos foram:
- Limite de sinal/ruído (S/N): 10
- Estimador de S/N: Intensidade na janela SN
- Altura mínima do recurso: 10
- Limite do coeficiente/área: 110
- Intervalo de duração do pico: 0.00 – 10.00
- Intervalo de wavelet de tempo de retenção: 0.0 – 0.10

Para o agrupamento de isótopos, os parâmetros utilizados foram:

- Tolerância m/z: 0 m/z ou 20 ppm
- Tolerância de tempo de retenção: 0.1 min (Absoluto)
- Carga máxima: 1
- Isótopo representativo: Mais intenso

Para a ordenação dos dados brutos, os parâmetros definidos foram:

- Tolerância m/z: 0 m/z ou 20 ppm
- Peso para m/z: 1
- Tolerância de tempo de retenção: 0.1 min (Absoluto)
- Peso para tempo de retenção (RT): 1

Ao final, houve a exportação dos dados (.csv) para o GNPS.

4.7 Feature Based Molecular Networking (FBMN)

Este modo de construção de rede, FBMN, introduz uma etapa adicional antes da construção da rede (MZmine), onde as características (*features*) são extraídas dos dados de espectrometria. As *features* incluem informações como massa, tempo de retenção e intensidade. Essas *features* são então alinhadas e agrupadas, permitindo uma análise mais refinada e precisa. O FBMN considera tanto a similaridade dos espectros de fragmentação quanto a proximidade das *features* em termos de massa e tempo de retenção, resultando em redes moleculares mais

robustas e detalhadas. O FBMN também facilita a integração de dados quantitativos, melhorando a capacidade de comparar amostras e identificar variações nos perfis metabólicos (Nothias *et al.*, 2020).

4.8 Redes Moleculares (GNPS)

As MN foram construídas utilizando o fluxo de trabalho online disponível no site do GNPS (<https://ccms-ucsd.github.io/GNPSDocumentation/>) no site GNPS (<http://gnps.ucsd.edu>). Os dados foram filtrados para remover íons fragmentários de MS/MS dentro de +/- 17 Da da m/z do precursor. Apenas os 6 principais íons fragmentários em uma janela de +/- 50 Da foram selecionados em cada espectro. A tolerância de massa para o íon precursor foi definida em 2,0 Da e para íons fragmentários de MS/MS em 0,5 Da. A rede criada manteve arestas com pontuação de cosseno acima de 0,7 e mais de 6 picos correspondentes, e somente os nós que apareciam entre os 10 mais similares foram considerados. O tamanho máximo de uma família molecular foi limitado a 100, e as arestas com pontuação mais baixa foram removidas até que o limite fosse atingido. Os espectros da rede foram comparados com as bibliotecas espectrais do GNPS, aplicando os mesmos critérios de filtragem aos espectros da biblioteca. Todas as correspondências mantidas exigiam uma pontuação acima de 0,7 e pelo menos 6 picos correspondentes. (Wang *et al.*, 2016)

Posteriormente as MN foram exportadas e visualizadas utilizando o software Cytoscape 3.8.2.

5. RESULTADOS

5.1. Resultado das redes moleculares (GNPS) geradas a partir dos dados de MS/MS obtidos por UPLC-ESI-QqTOF-MS/MS seguindo o fluxo de trabalho de FBMN

A utilização de redes moleculares como uma estratégia para organizar os espectros de fragmentação abriu várias oportunidades para visualizar esses dados e identificar compostos de maneira mais eficiente do que os métodos tradicionais (Fox-Ramos *et al.*, 2019). Rede molecular organiza os espectros em *clusters*

(grupos) com base na similaridade espectral, utilizando a pontuação de cosseno para comparar e revelar espectros quase idênticos. Recentemente, essa metodologia foi aprimorada com a introdução do Spec2Vec, que, em vez de usar um vetor, baseia-se em linguagens naturais. Nesse método, o algoritmo processa e aprende as relações dos picos dos espectros com base na frequência de ocorrência (Huber *et al.*, 2021).

Em uma rede molecular, cada nó representa um espectro e cada aresta conecta os espectros com base em sua similaridade, permitindo a visualização de classes de estruturas químicas e a identificação de analogias entre os íons detectados. A organização dos espectros por similaridade, que revela as famílias estruturais nas redes moleculares, tem se mostrado uma ferramenta mais eficiente para a identificação de compostos já conhecidos e a descoberta de novos produtos naturais, em comparação com os métodos tradicionais de identificação de estruturas químicas (Pilon *et al.*, 2021). Uma vez identificada a estrutura química em um nó, é possível propagar essa identificação para os nós vizinhos dentro do cluster.

A identificação de compostos na rede molecular pode ser feita através de várias abordagens (Fox-Ramos *et al.*, 2019). Atualmente, a comparação de espectros com bancos de dados espectrais facilita a anotação rápida de compostos e a obtenção de um perfil preliminar compatível com estudos metabolômicos. Além disso, a anotação automática de compostos permite a análise de dados que antes eram subutilizados ou descartados devido à complexidade e ao grande volume de espectros gerados (Allard *et al.*, 2016; Quinn *et al.*, 2017).

Neste trabalho, utilizou-se redes moleculares de modo positivo e negativo de análise, para obter um panorama geral dos compostos presentes nos extratos das espécies selecionadas. Os dados de MS/MS obtidos por UPLC-ESI-QqTOF-MS/MS foram utilizados como entrada na plataforma GNPS para a criação da rede molecular, seguindo o fluxo de trabalho da FBMN (Nothias *et al.*, 2020). As redes moleculares resultantes agruparam os 16 features em 1,419 clusters no modo negativo (**Figura 26**) e 20 features em 448 clusters no modo positivo (**Figura 27**). Em seguida, procedemos com a anotação dos compostos nas redes moleculares, podendo ser visualizado na **tabela 3**.

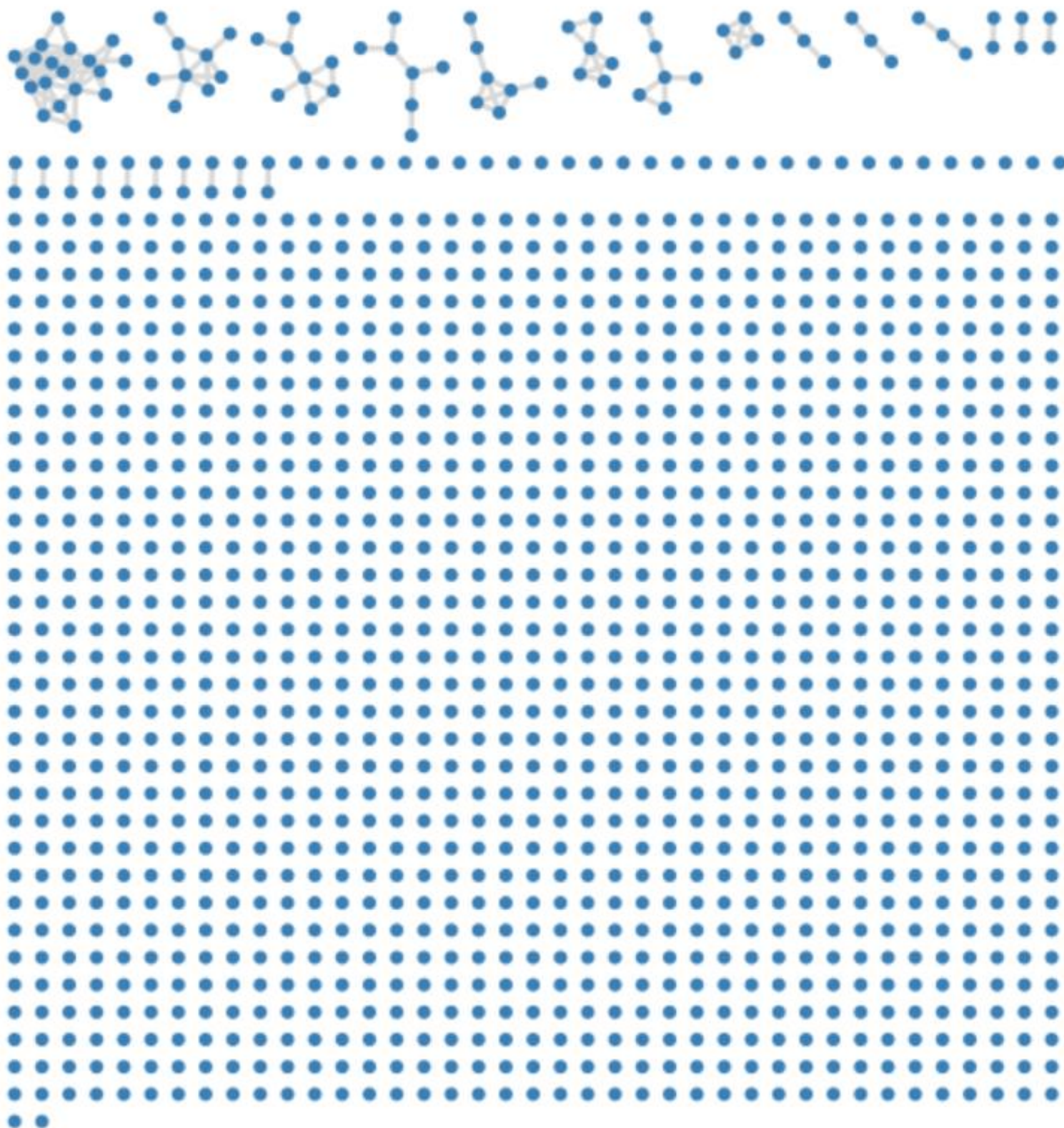


Figura 26. Esquema do processo de Clean-up dos extratos etanólicos utilizando um cartucho C18.
Fonte: própria autora (2024).



Figura 27. Molecular networking gerado a partir de dados de MS/MS seguindo o fluxo de trabalho de Feature Based Molecular Networking na plataforma GNPS em modo positivo e organizados utilizando o software Cytoscape.
Fonte: própria autora (2024).

No modo positivo, a rede molecular possibilitou a anotação de 9 compostos (**Tabela 3**). Entre eles, quatro compostos são da classe química de furanocumarinas, dois de alcaloides de acridona, dois de alcaloides de quinolina e um derivado de clorofila.

Tabela 3. Resultado das análises de dados MS/MS (modo positivo e negativo) dos extratos brutos das plantas *Syzygium aromaticum*, *Petiveria alliaceae* L., *Ruta graveolens* L., *Eucalyptus globulus*, *Allium sativum* L., *Dorstenia brasiliensis* na plataforma GNPS modo Feature Based Molecular Network.

Anotações	TR/min	Massa experimental (m/z)	ESI - MS/MS	Presente em
Modo positivo				
Skimmianina	5,25	260,0918	245,07; 227,06; 199,06; 184,04	Rg, Pa
γ-fagarine	5,37	230,0814	215,06; 200,03; 186,06; 172,04	Rg
Xantotoxina	5,71	217,0498	202,03; 174,03; 146,03; 118,04	Rg
Isopsilina	5,74	247,0600	189,02; 161,02; 133,03; 105,03	Rg
Arborinina	6,24	286,1075	197,08; 182,06; 168,08	Rg e As
Álcool rutamarin	7,17	315,1591	273,1120; 259,0966; 255,1013; 241,0860	Rg
Quinolactacina A	3,89	271,1442	130,07; 159,07; 185,07; 199,05; 214,07	Eg
Chalepensina	7,98	255,1017	171,04; 128,06; 115,05	Rg
Feoforbide A	10,5	593,2770	533,26; 505,23; 460,23	As, Rg, Pa, Eg, Sa
Modo negativo				
Ácido neoclorogênico	2,09	353,0863	191,05; 163,04; 119,05	Rg, Eg
Isorhainetina-3-O-glicosídeo	3,69	477,1034	314,04; 271,02; 243,02 285,04	As, Pa
3,7-Di-O-metilquercetina	4,55	329,0654	314,03; 299,01; 285,03; 271,02	Sa
Luteolina	2,81	285,0393	287,02; 285,04; 241,05; 175,04; 151,01	Sa
3',6-Disinapoilsacarose	0,40	753,2247	547,1682; 367,1046; 325,0886; 295,0826; 205,0483; 190,0345	Rg
Ácido 3-p-cumaroilquínico	2,42	337,0913	119,0527; 163,0387; 191,0534; 337,0904	Eg

Rg – *R. graveolens*, As – *A. sativum*, Pa – *P. alliaceae*, Sa – *S. aromaticum*, Eg – *E. globulus* e TR-
Tempo de Retenção

Fonte: própria autora (2024).

O íon de m/z 260,0918 teve correspondência espectral com o composto skimianina na plataforma GNPS e um cosseno de 0,97. A fragmentação dos íons principais m/z 245,0676; m/z 227,0582; m/z 199,0621, m/z 184,0384 e m/z 156,0438 (**Figura 28**) também indicam que este composto pode ser skimianina (Huang *et al.*, 2017). Sua fragmentação é discutida na **Figura 29** e reforçada.

Skimianina é um alcaloide furoquinolina encontrado em plantas da família Rutaceae e já foi isolado de *R. graveolens* (Ratheesh; Sindhu e Helen, 2013). Diversas investigações biológicas demonstraram que este composto possui variadas atividades farmacológicas *in vitro* e *in vivo*, como atividades antimicrobianas, antiparasitárias, inseticidas, antiplaquetárias, antidiabéticas, analgésicas, inibidoras de colinesterase e cardiovasculares, principalmente em termos de atividades citotóxicas e anti-inflamatórias (Son, 2023).

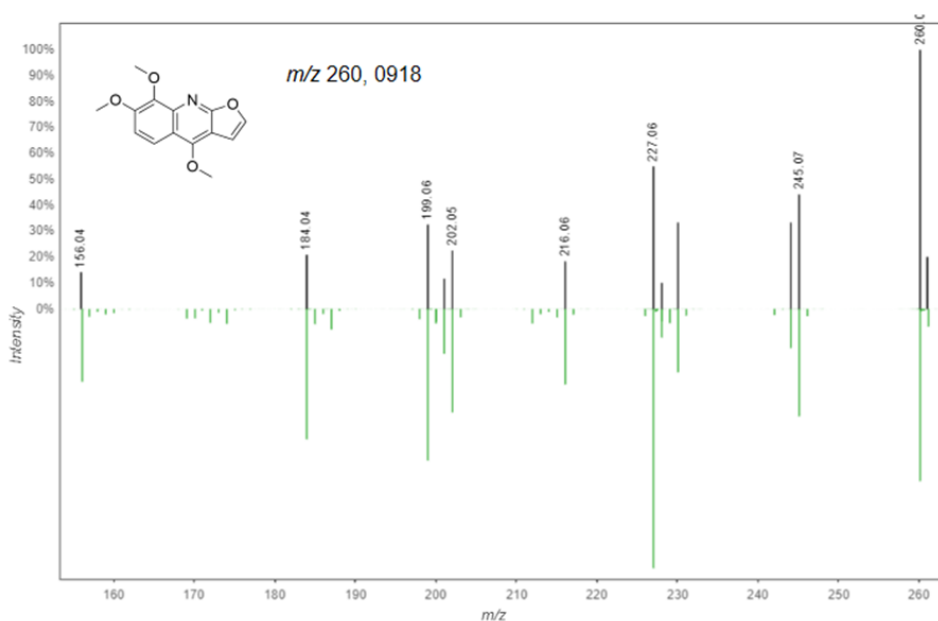


Figura 28. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 260,0918 pode ser o composto Skimianina e sua estrutura.
Fonte: própria autora (2024).

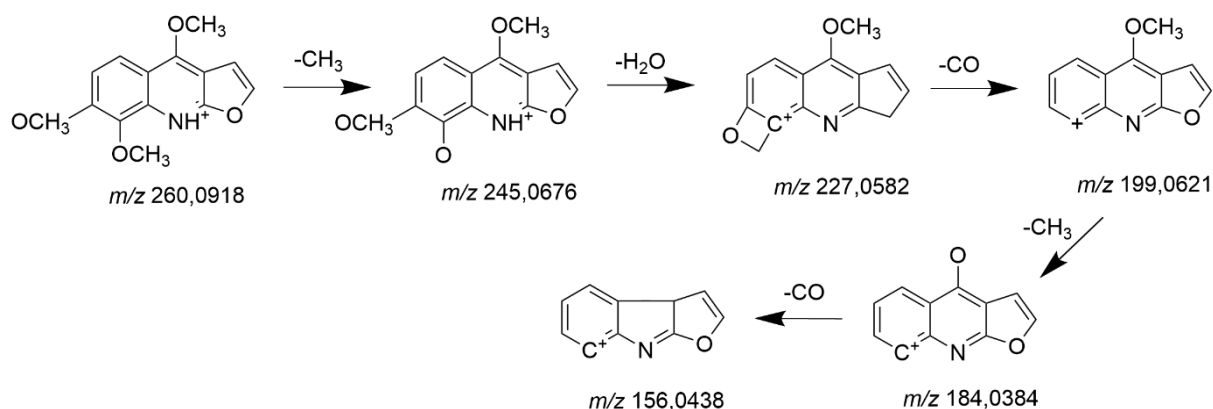


Figura 29. Proposta de fragmentação do íon m/z 260,0918.
 Fonte: Própria autora (2024).

Já o íon de m/z 230,0814 apresentou quatro picos que foram correlacionados com o composto gama-fagarina, bem como um cosseno 0,83 e seu espectro pode ser visualizado na **Figura 30**. Os íons fragmentos característicos de maior intensidade derivados de gama-fagarina apresentam m/z 215,0588, 200,0345, 186,0547 e 172,0395 (Jeong, An e Lim, 2021). É possível que íons de m/z 215,0588 e 200,0345 resultam de perdas sucessivas de $-CH_3$, e m/z 186,0547 surge da perda de um grupo metileno ($-CH_2$), provavelmente da furoestrutura da furoquinolina, bem como o íon de m/z 172,0395 (**Figura 31**).

Gama-fagarina, é um alcaloide furoquinolina, um metabólito secundário derivado do triptofano e geralmente encontrados em espécies de plantas da família Rutaceae (Adamska-Szewczyk *et al.*, 2016). Este composto exibe atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas (Tavares *et al.*, 2014).

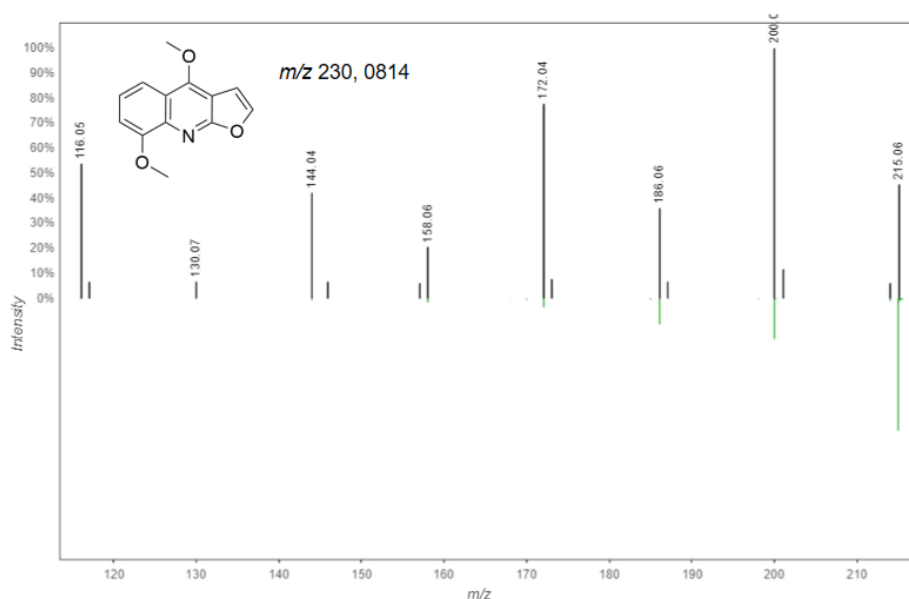


Figura 30. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 230,0814 pode ser o composto gama-fagarina, e sua estrutura.

Fonte: própria autora (2024).

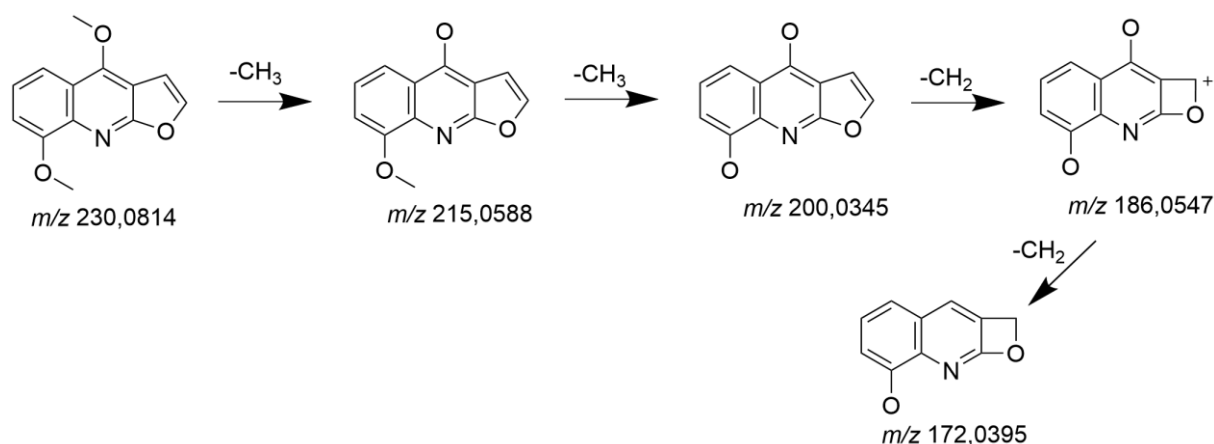


Figura 31. Proposta de fragmentação do íon m/z 230,0814.

Fonte: própria autora (2024).

O íon de m/z 217,0498 foi anotado como xantotoxina (**Figura 32**), também conhecida como 8-metoxpsoraleno uma furanocumarina natural, um psoraleno bioativo encontrado em plantas da família Rutaceae e este apresenta atividade significativa no tratamento de diversas doenças, incluindo neuroproteção, reparo da pele, osteoproteção, proteção de órgãos, anticâncer, antiinflamatório, estresse antioxidante e antibacteriano (Wu *et al.*, 2022).

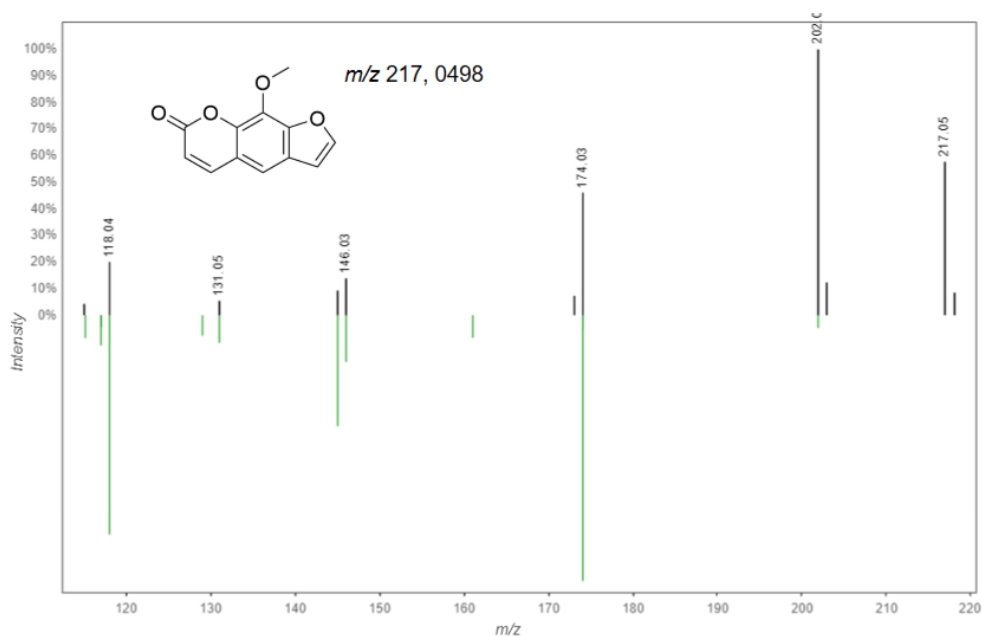


Figura 32. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 217,0498 pode ser o composto xantotoxina e sua estrutura.
Fonte: própria autora (2024).

Este composto apresentou cosseno de 0,93. A fragmentação da xantotoxina mostra uma sequência clara de perdas de grupos metila e monóxido de carbono, o que é consistente com a estrutura química da furocumarina e com o banco de dados MoNa. Os íons fragmento significativos m/z 202,0258; 174,0303; 146,0394; 131,0485 e 118,0470 e podem ser explicados através das perdas sucessivas de $-CH_3$ e monóxido de carbono (CO).

O composto Isopscilina, uma furocumarina, foi identificado com íons de m/z 247,0600, (**Figura 33**) e apresentou cosseno de 0,93. Os fragmentos da característicos da isopscilina de m/z 247,0600 até os íons de m/z 189,0185, 161,0236, 133,0286 e 105,0324 pode ser explicada através das perdas sucessivas de grupos $-CH_3$, CO e $-H$ (Pubchem CID 68079 - MoNA ID: Bruker_HCD_library001829).

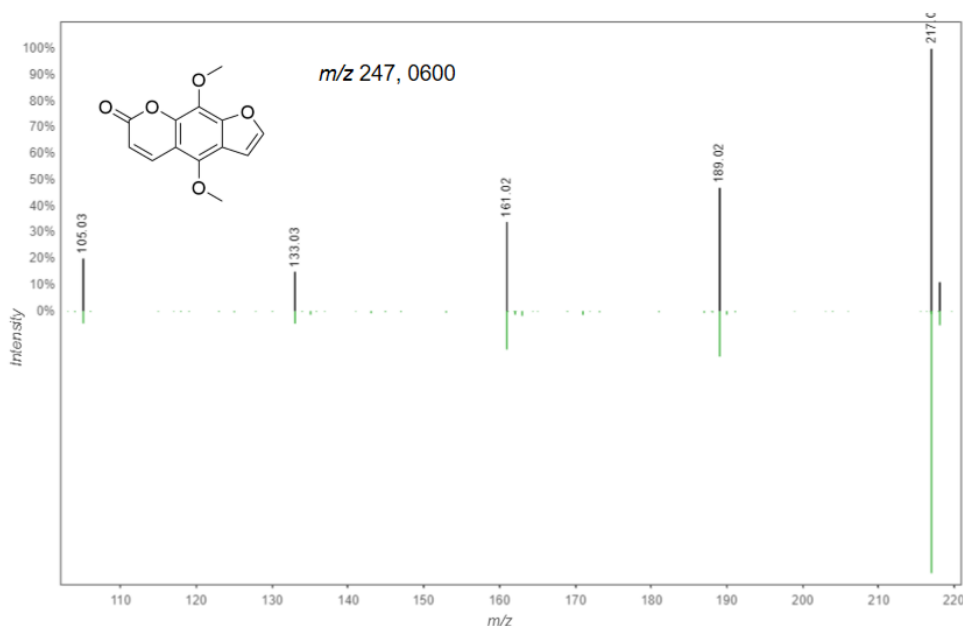


Figura 33. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 247,0600 pode ser o composto isopiscilina e sua estrutura.

Fonte: própria autora (2024).

O íon de m/z 286,1075 (**imagem 34**) foi anotado como arborinina. Apresentou cosseno de 0,87. Seus íons fragmento característicos estão de acordo com o Pubchem (PubChem CID 5281832 - MoNA ID CCMSLIB00005720188). Inicialmente, a perda de $-C_2H_4$ do fragmento m/z 253,0724 pode explicar o íon m/z 225,0779. Continuando, a perda de um grupo $-C_2H_4$ leva à formação do íon m/z 197,0830. A partir desse íon, a perda do grupo $-CH_3$ forma um íon com m/z 182,0597. E a perda de um grupo $-CH_2$ resulta no íon com m/z 168,0789, e novamente a perda de um segundo grupo $-CH_2$ gera o íon m/z 154,0635.

A arborinina é um alcaloide da acridona encontrado em plantas da família *Rutaceae* e este alcaloide é extensivamente estudado devido ao seu grande potencial farmacológico, que inclui atividades anticancerígenas, antimicrobianas, antiparasitárias, antioxidantes, entre outras (Epse Zondegoumb, 2018).

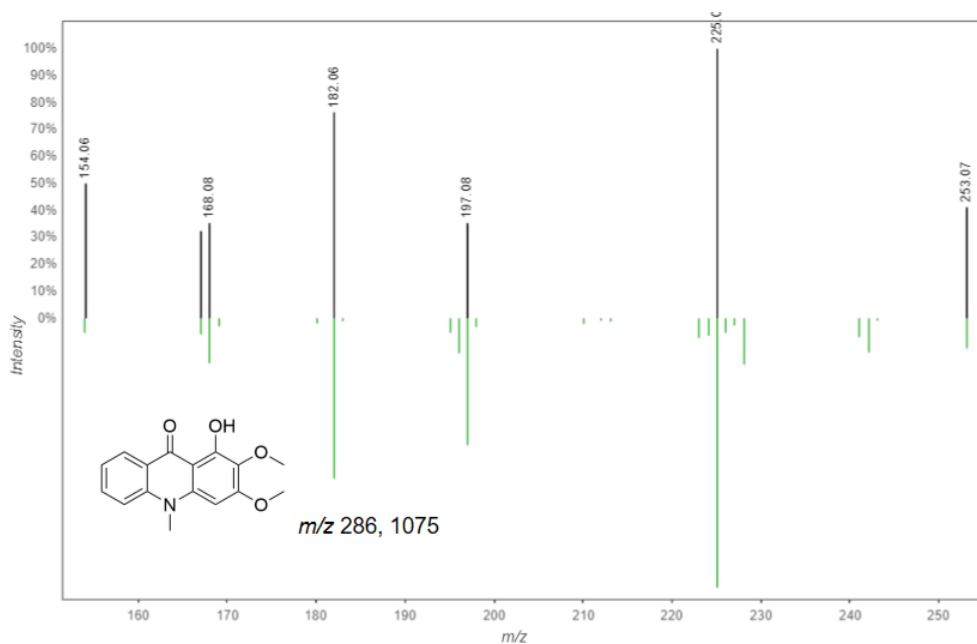


Figura 34. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 286,1075 pode ser o composto arborinina e sua estrutura.
Fonte: própria autora (2024).

O íon de m/z 315,1591 (**Figura 35**) teve correspondência espectral com rutamarin álcool, apresentando cosseno de 0,97. Este composto é uma cumarina já isolada de espécies de *Rutaceae* (Okorie, 1975). A proposta de fragmentação inicia-se com a perda de -16 Da do íon m/z 315,1591 resultando no fragmento m/z 299,1265, e deste a a perda de -44 Da resulta no fragmento m/z 255,1013. (**Figura 36**). Este metabólito apresenta potencial como antiviral para o tratamento de herpes vírus (Xu *et al.*, 2014).

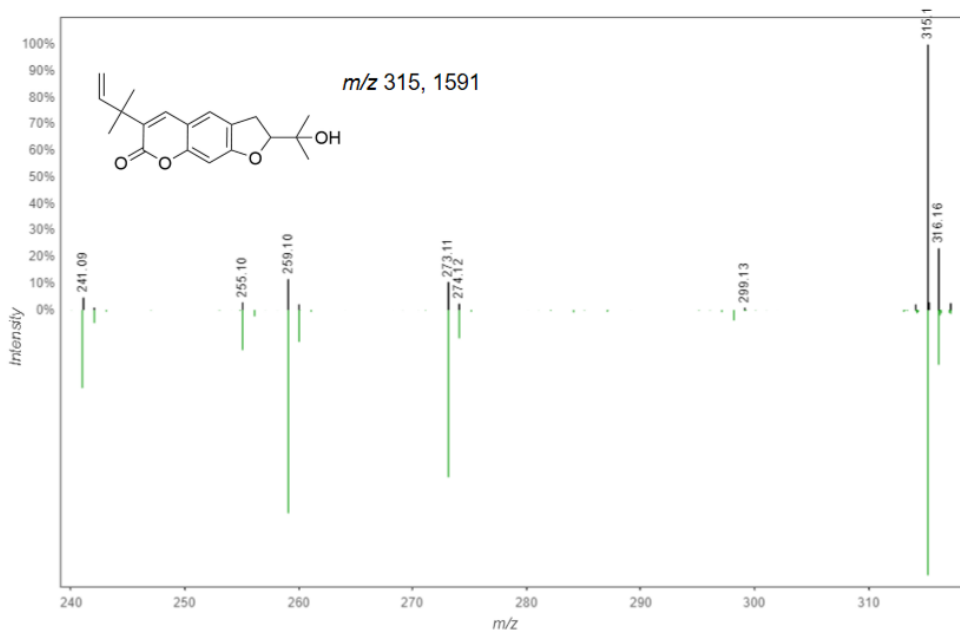


Figura 35. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 315,1591 pode ser o composto Rutamarin álcool e sua estrutura.

Fonte: própria autora (2024).

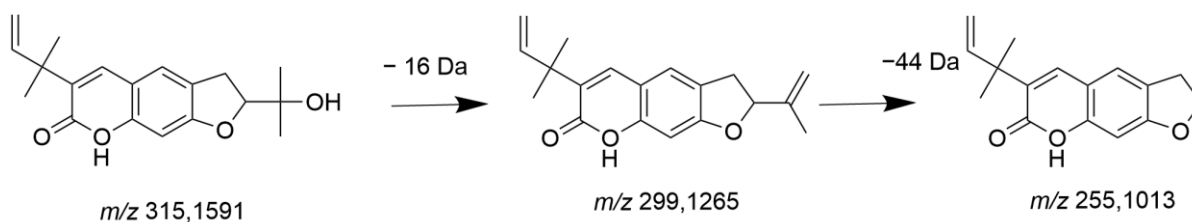


Figura 36. Proposta de fragmentação do íon m/z 315,1591.

Fonte: própria autora (2024).

Outra molécula anotada foi a chalepensina, com m/z 255,1017 (**Figura 37**), e cosseno de 0,93. É uma furanocumarina, com uma prenilação em C-3 da estrutura central da cumarina. A fragmentação deste composto pode ser explicada através da perda de 42 Da resultando no fragmento de m/z 199,0396. Em seguida, a perda de um 42 Da gera o fragmento de m/z 171,0444. A perda subsequente de um 13 Da resulta no fragmento de m/z 157,0642. Posteriormente, a perda de um 29 Da gera o fragmento de m/z 128,0619. Finalmente, a perda de 13 Da resulta no fragmento de m/z 115,0544. Está furocumarina pode ser considerada rara, no sentido de que não existem muitas furanocumarinas 3-prenilada de ocorrência natural, mas existem muitos estudos sobre bioatividade sobre este composto, com diversos estudos relatando atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, anticancerígena, antiviral e muito mais (Nahar *et al.*, 2021).

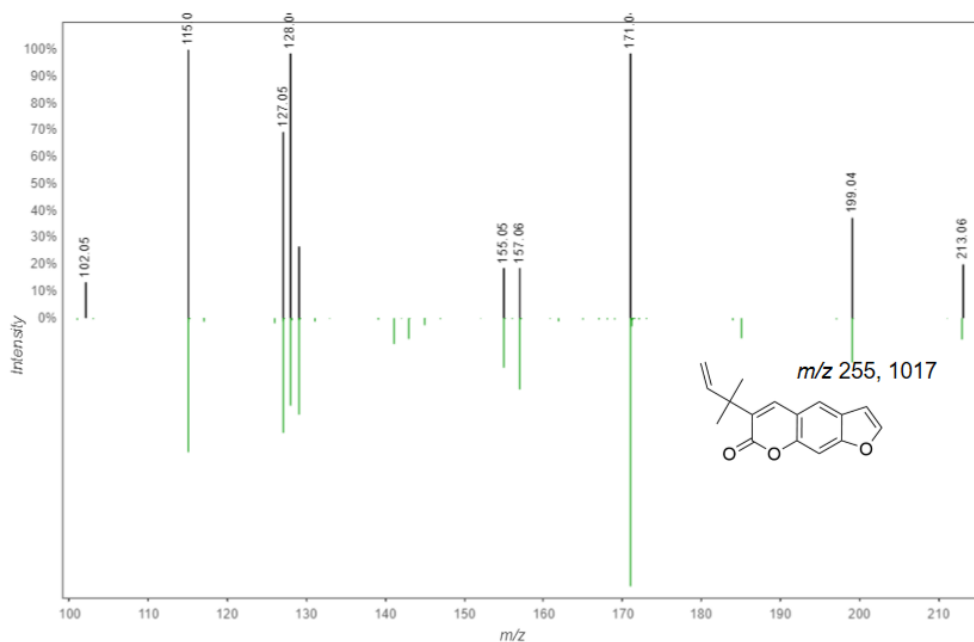


Figura 37. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 255,1017 pode ser o composto chalepentina e sua estrutura.
Fonte: própria autora (2024).

O íon m/z 271,1442 teve correspondência espectral com o composto quinolactacina A (**Figura 38**) e apresentou cosseno de 0,81. A fragmentação observada pode ser explicada primeiramente através da perda de 57 Da, resultando no fragmento de m/z 214,0744. Em seguida, a perda de um 15 Da gera o fragmento de m/z 199,0505. A perda subsequente de um 14 Da resulta no fragmento de m/z 185,0730. Posteriormente, a perda de 26 Da gera o fragmento de m/z 159,0681. Finalmente, a perda de um 29 Da resulta no fragmento de m/z 130,0660.

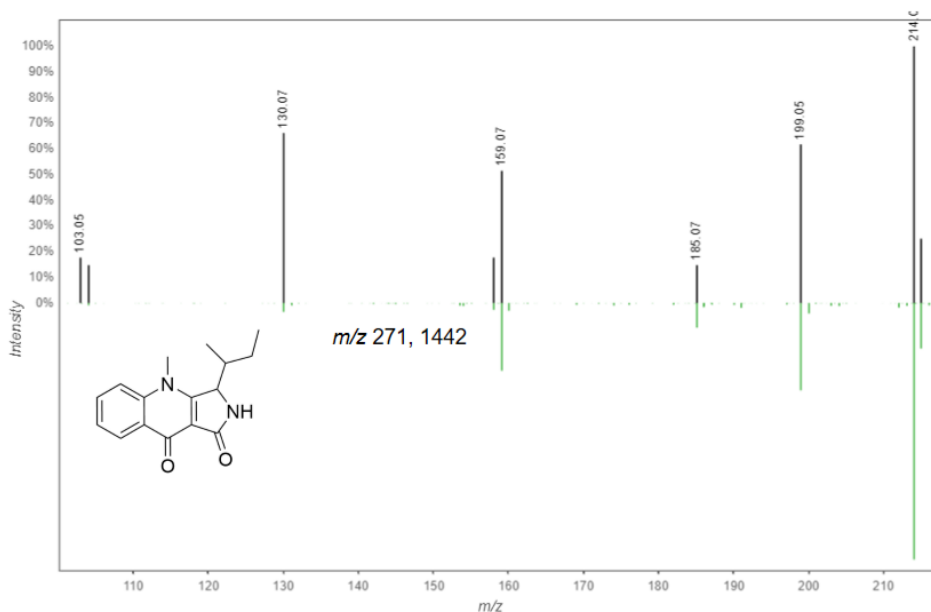


Figura 38. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 271,1442 pode ser o composto quinolactain A e sua estrutura. Fonte: própria autora (2024).

Feoforbide A é um derivado da clorofila, o íon m/z de 593,2770 teve correspondência espectral com este composto (**figura 39**), do qual também apresentou cosseno de 0,87. A correspondência espectral deste composto foi a que mais apresentou íons fragmento. Alguns íons fragmento característicos de feoforbide A estavam de acordo com Breemen *et al.* (1991), que também fala da grande quantidade de íons fragmento gerados a partir deste derivado de clorofila. Os fragmentos característicos aqui obtidos são o íon m/z 535,2606, m/z 533,2565, m/z 519,2379, m/z 505,2598 e m/z 447,2179.

Conhecido por suas propriedades fotodinâmicas, o que o torna útil em terapias como a terapia fotodinâmica para o tratamento de câncer. Este composto apresenta uma estrutura complexa que inclui um sistema de anéis fusionados com nitrogênio, oxigênio e grupos metil (E Xodo *et al.*, 2012).

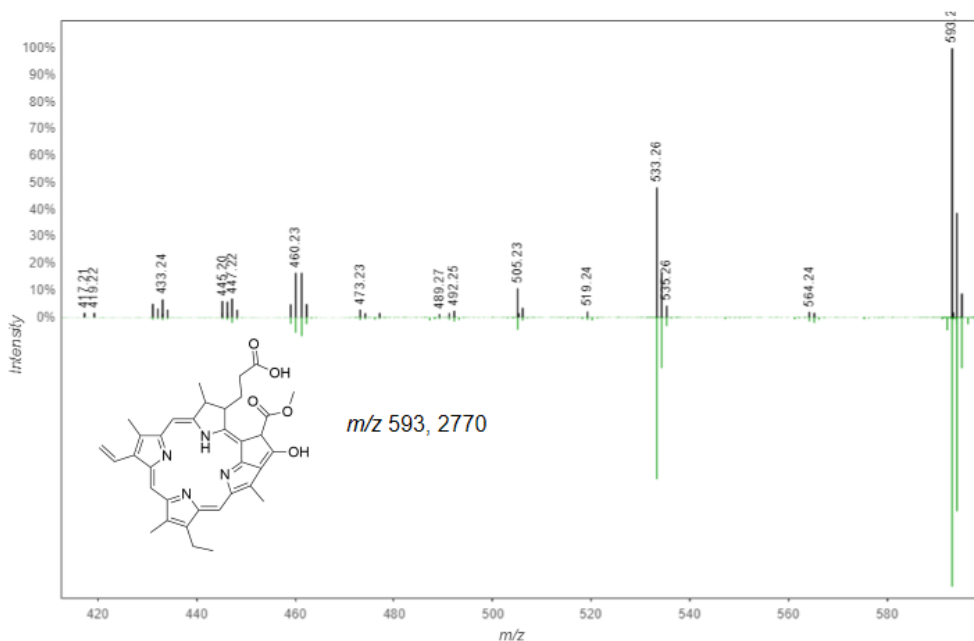


Figura 39. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 593,2770 pode ser o composto feoforbide A e sua estrutura. Fonte: própria autora (2024).

No molecular networking de modo negativo, foram anotados seis compostos (**Tabela 3**), três pertencentes a classe dos ácidos cinâmicos e derivados e 3 flavonas.

O íon m/z 353,0863 (**Figura 40**) apresentou correspondência espectral com o ácido neoclorogênico e teve cosseno de 0,92. Sua fragmentação reforça esta anotação, visto ser correspondente com dados obtidos por Liu *et al.* (2021). A forma como se fragmenta o distingue de seu isômero, o ácido clorogênico. Acreditamos que a perda de um grupo $-C_9H_6O_3$ derivou o m/z 191,0551. Em outra via de fragmentação, a perda de $-C_7H_{12}O_6$ do íon precursor gerou o m/z 179,0330 e a perda de $-CO_2$ gerou o m/z 135,0439 (**Figura 41**). Jaiswal *et al.* (2014) também discutem este mesmo tipo de fragmentação para o composto ácido neoclorogênico. Esta molécula é da classe dos ácidos cinâmicos e derivados e há relatos na literatura de que esta molécula poderia ser utilizada na terapia anticâncer em projetos futuros (Liu *et al.*, 2021).

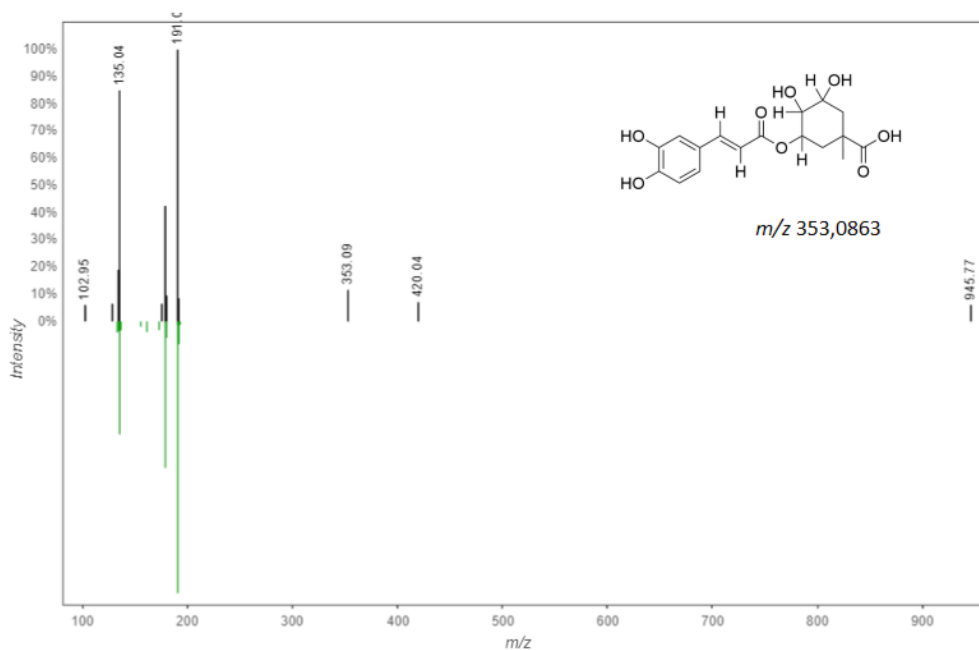


Figura 40. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 353,0863 pode ser composto ácido neoclorogênico e sua estrutura. Fonte: própria autora (2024).

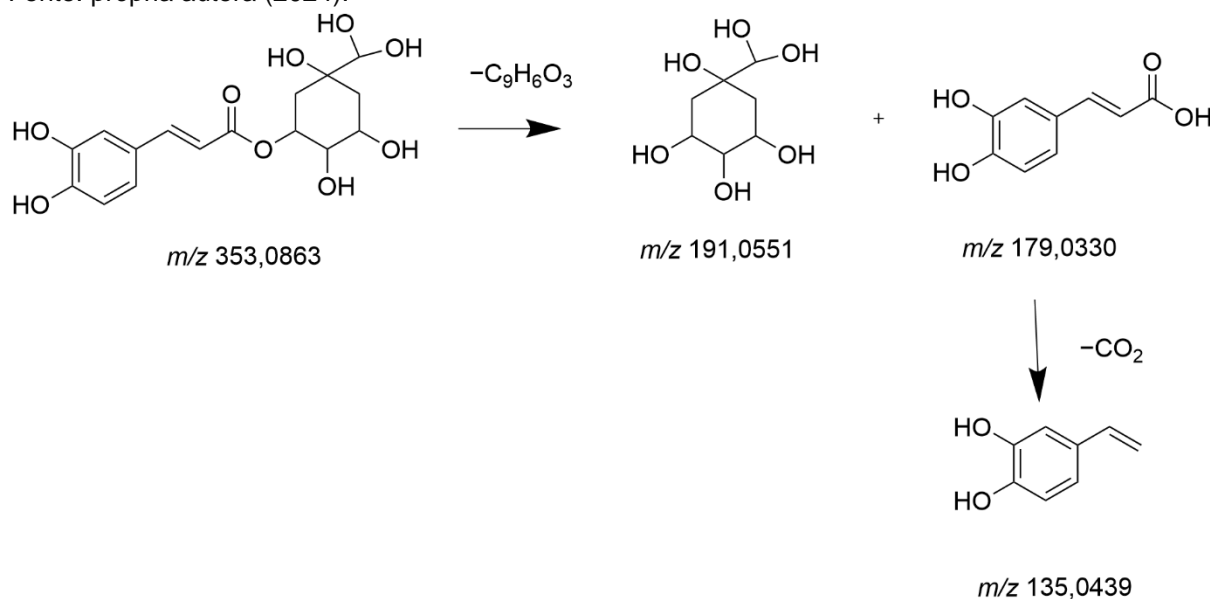


Figura 41. Proposta de fragmentação do íon m/z 353,0863. Fonte: própria autora (2024).

O íon de m/z 477,1034 apresentou cosseno de 0,88 e a correspondência espectral indica que pode ser o composto Isorhainetina-3-O- glicosídeo (**Figura 42**). Além do mais, apresentou diversos picos que semelhantes ao espectro da biblioteca, reforçando a proposta. Sua fragmentação sugere, a partir do íon m/z 477,1023, que a presença do íon m/z 314,0405 pode ser decorrente da perda de uma unidade de glicose – H, m/z 299,0196 pode resultar da perda de uma glicose neutra (~180 Da).

m/z 271,0232 pode ser derivado da perda adicional de uma carbonila $-CO$, bem como o m/z 271,0232. Já para os íons m/z 257,0428 e m/z 243,0279 sugere-se que houve a perda sequencial de $-CH_2$ e finalmente, m/z 227,0322 derivado da perda de $-CH_4$ e m/z 215,0329 resultando da perda de ~ 12 Da.

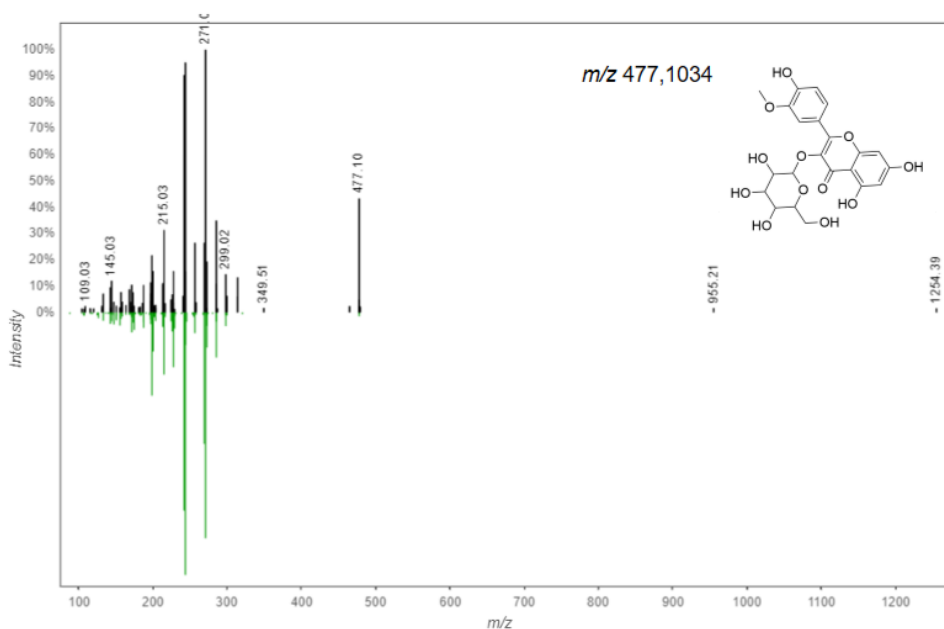


Figura 42. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 477,1034 pode ser composto Isorhainetina-3-O- glicosídeo e sua estrutura
Fonte: própria autora (2024).

O composto 3,7-Di-O-metilquercetina correspondeu ao íon m/z 329,0654, na plataforma GNPS, com cosseno de 0,85. Foram observados diversos íons fragmentos que elucidam o padrão de fragmentação do composto (**Figura 43**). O íon precursor, com m/z 329,0655, representa o íon desprotonado da 3,7-Di-O-metilquercetina.

Os principais íons fragmentos observados incluem m/z 314,03, que pode resultar da perda de um grupo $-CH_3$. Em seguida, o íon com m/z 299,0205 é formado pela perda de dois grupos metila ($2 \times -CH_3$). A perda de ~ 29 Da do íon de m/z 314,0421 gera o íon com m/z 285,0377. Além disso, a perda de uma unidade de $-CO$ do íon de m/z 299,0205 pode justificar o íon de m/z 271,0201, enquanto o íon com m/z 243,0287 é explicado pela perda de uma unidade de $-C_3H_6$ do íon de m/z 285,0377. E para finalizar, a perda de uma unidade de $-CO_2$ do íon de m/z 243,0287 pode explicar o íon com m/z 199,0455.

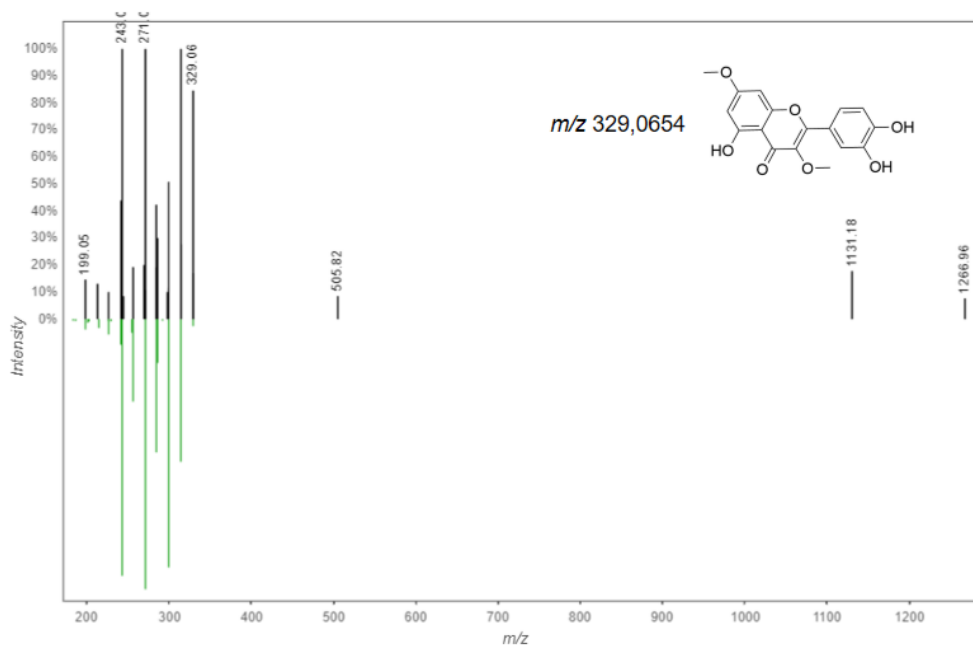


Figura 43. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 329,0654 pode ser composto 3,7-Di-O-metilquercetina e sua estrutura.
Fonte: própria autora (2024).

No caso do íon de m/z 285,0392, presume-se que seja o composto luteolina (**Figura 44**), este composto apresenta cosseno de 0,84. Presumimos que o íon precursor perde uma molécula de $-\text{CO}_2$ formando um fragmento com m/z 241,0479. Neste fragmento, por sua vez, é sugerível a perda de um grupo $-\text{C}_4\text{H}_2\text{O}$, gerando um íon com m/z 175,0394. Posteriormente, a perda de ~ 24 Da do íon de m/z 175,0394 resulta em um fragmento final com m/z 151,0057.

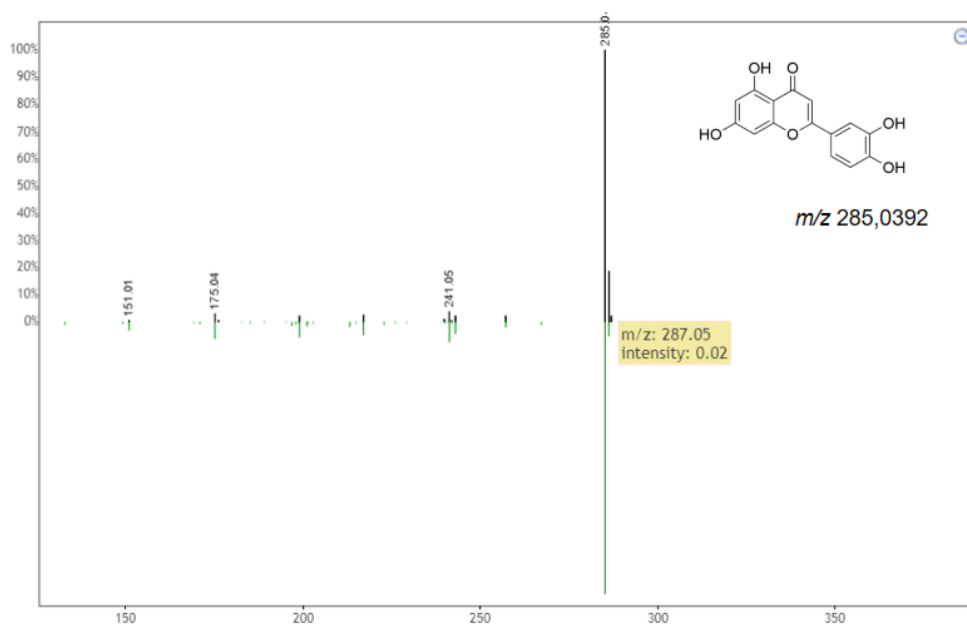


Figura 44. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 285,0392 pode ser composto luteolina e sua estrutura.

Fonte: própria autora (2024).

A correspondência espectral de cosseno 0,91, do íon de m/z 753,2247 indicou que este é o composto 3',6'-Disinapóilsacarose (**Figura 45**). Sobre a fragmentação, a clivagem inicial resulta na formação de um íon com m/z 547,1694, que é obtido pela perda de uma unidade de ácido sinápico $-H-H_2O^-$. Observamos um fragmento com m/z 223,0588, que corresponde à perda de um próton do ácido sinápico. Outro fragmento significativo é encontrado em m/z 205,0483, que resulta da perda de uma molécula H_2O do íon de m/z 223,0588, indicando a formação de ácido sinápico $-M-H-H_2O^-$ (Ikeya *et al.*, 1991). Além disso, os íons fragmentos menores observados incluem m/z 367,1046 que a partir da perda de 42 Da gera o fragmento m/z 325,0886, deste então, uma perda subsequente de 30 Da podem explicar os fragmentos m/z 295,0826 e m/z 265,0733, e o fragmento de m/z 190,0259 pode ser explicado por uma perda de 74 Da..

3,6'-Disinapóilsacarose, um oligossacarídeo acilados ativo demonstrou efeito antidepressivo em modelos de depressão em camundongos, possivelmente devido à potencialização dos sistemas de 5-hidroxitriptamina e noradrenérgico (Liu *et al.*, 2008).

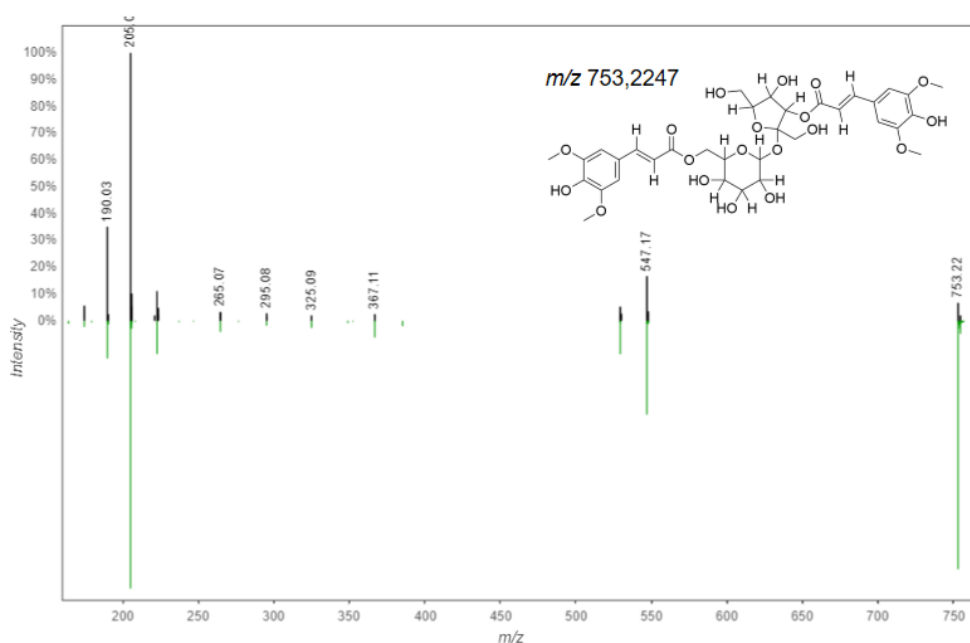


Figura 45. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 753,2247 pode ser composto 3,6'-Disinapóilsacarose e sua estrutura.

Fonte: própria autora (2024).

A correspondência espectral do íon de m/z 337,0913 na plataforma GNPS (**figura 46**) sugeriu que este composto pode ser o ácido 3-p-cumaroilquínico. Durante

a análise da correlação espectral do composto, observamos que o íon com m/z 191,0534 é formado pela perda de uma unidade de ácido ferúlico do íon precursor, sugerindo a clivagem deste grupo funcional. O íon com m/z 163,0387 resulta da perda de uma unidade de $-CO$ do íon de m/z 191,0534, indicando a remoção de uma carbonila. E o íon com m/z 119,0527 é gerado pela perda de uma unidade de $-CO_2$ do íon de m/z 163,0387, refletindo a remoção de um grupo dióxido de carbono.

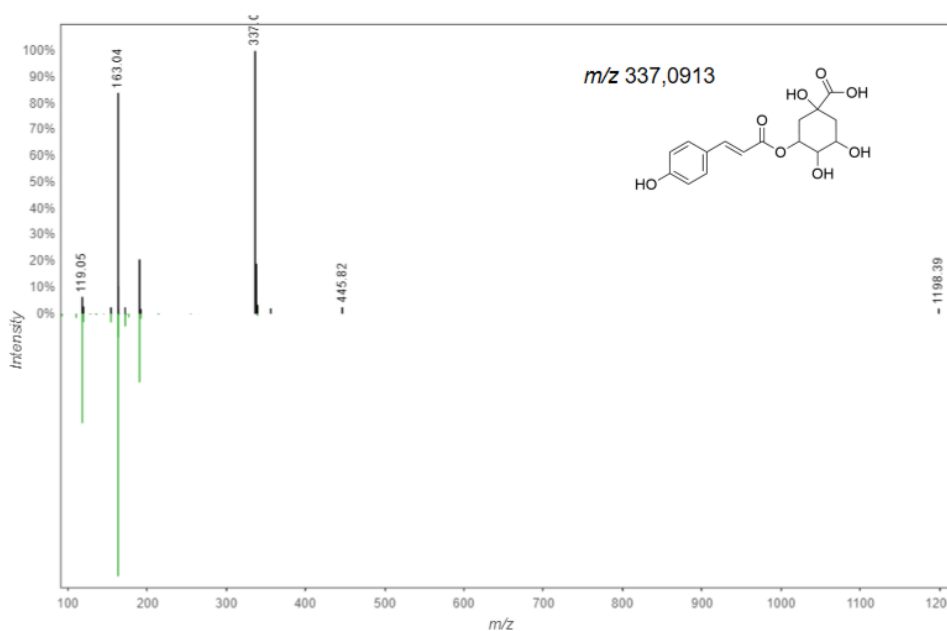


Figura 46. Espectro de correspondência obtido na plataforma GNPS, indicando que o íon de m/z 337,0913 pode ser composto ácido 3-p-cumaroilquínico e sua estrutura.

Fonte: própria autora (2024).

6. CONCLUSÃO

Neste estudo, foram identificados diversos compostos bioativos nas plantas que compõem o cigarro “tira-capeta”, incluindo compostos como skimmianina, γ -fagarine e xantotoxina, entre outros, que devem ser investigadas em relação a atividade de modulação do sistema endocanabinoide *in vitro* e *in vivo*. Visto a variedade de classes de compostos canabimiméticos já relatados na literatura, como por exemplo, os polifenóis, terpenos e terpenoides, alcaloides, alquilamidas (Kumar et al., 2019), é necessário que haja uma triagem aprofundada desses compostos. E apesar da análise através das redes moleculares não terem identificado nenhum composto canabimimético de forma direta, a revisão bibliográfica demonstrou que

nessas plantas há compostos já relatados com essas propriedades, como por exemplo, o β -cariofileno presente em *E. globulus*, kaempferol presente em *S. aromaticum*, e a quercetina, que está presente na *R. graveolens* e *S. aromaticum*.

A aplicação da metabolômica foi crucial para a identificação destes compostos, permitindo uma análise abrangente dos perfis metabólicos das plantas. Além disso, a integração do conhecimento etnofarmacológico com técnicas modernas de análise validou o uso tradicional das plantas estudadas e revelou novas perspectivas terapêuticas. As práticas medicinais das comunidades quilombolas forneceram uma base rica para a descoberta de compostos com atividades biológicas significativas.

Este estudo não só contribui para o avanço científico no campo da química de produtos naturais e farmacologia, mas também oferece novas oportunidades para o desenvolvimento de medicamentos mais seguros e eficazes. A continuação desta pesquisa, incluindo estudos de caracterização e bioatividade, será essencial para validar a eficácia dos compostos identificados, ampliando assim o potencial terapêutico dos canabimiméticos.

Desta forma, este trabalho representa um passo importante na interface entre a ciência moderna e o conhecimento tradicional, promovendo a reflexão da importância de encontrar de novos compostos que podem beneficiar a saúde global no que tange a modulação do sistema endocanabinoide.

REFERÊNCIAS

- PETROVSKA, B. B. Historical and ethnobotanical aspects of medicinal plants. **Pharmacognosy Reviews**, v. 6, n. 11, p. 1–5, 2012.
- BORCHARDT, J. K. Ancient remedies, new diseases. **Scientific American**, v. 287, p. 46–53, 2002.
- DER MARDEROSIAN, A.; BEUTLER, J. A. The review of natural products. 2. ed. **Philadelphia**: Wolters Kluwer, 2002.
- ALLEN, J. C.; HATFIELD, P. E. Plant alkaloids: A comprehensive guide. **Cambridge: University Press**, 2004.
- SIDDIQUI, B. S. *et al.* Phytochemical investigations of selected plants for biological activity. **Natural Product Reports**, v. 31, p. 834–857, 2014.
- ABUSHOUK, A. I. *et al.* Cardioprotective mechanisms of phytochemicals against doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 90, p. 935-946, 2017.
- ABUSHOUK, A. I. *et al.* Neuroprotective mechanisms of plant extracts against MPTP induced neurotoxicity: Future applications in Parkinson's disease. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 85, p. 635-645, 2017.
- WHO. *Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*. 2 vol. set. Vol. 1 contains text and Vol. 2, maps. World Health Organization, Geneva, 2005.
- BATIHA, G. E. *et al.* Inhibitory effects of *Uncaria tomentosa* bark, *Myrtus communis* roots, *Origanum vulgare* leaves and *Cuminum cyminum* seeds extracts against the growth of *Babesia* and *Theileria* in vitro. **Jap. J. Vet. Parasitol**, v. 17, p. 1-13, 2018.

- BESHBISHY, A. M. *et al.* Inhibitory effects of methanolic *Olea europaea* and acetic Acacia laeta on growth of Babesia and Theileria. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 12, n. 9, p. 425-434, 2019.
- CORDELL, G. A.; COLVARD, M. D. Some thoughts on the future of ethnopharmacology. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, p. 5-14, 2005.
- PATWARDHAN, B. Ethnopharmacology and drug discovery. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, p. 50-52, 2005.
- FUNDAÇÃO CULTURAL PALMARES. Fundação Cultural Palmares reconhece mais 23 comunidades quilombolas/ Publicado em 28/07/2023 - 10:39 Por Fabiola Sinimbu - Repórter da Agência Brasil - Brasília - (Acessado em 05/07/2024)
- ABDULLAH, B. H.; HATEM, S. F.; JUMAA, W. A comparative study of the antibacterial activity of clove and rosemary essential oils on multidrug resistant bacteria. **Pharmaceutical and Biosciences Journal**, p. 18-22, 2015.
- ACHAYA, K. T. Indian food: a historical companion. 1994.
- ADAMSKA-SZEWCZYK, A.; GLOWNIAK, K.; BAJ, T. Furocholine alkaloids in plants from Rutaceae family—a review. **Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences**, v. 29, n. 1, p. 33-38, 2016.
- ADESOGAN, E. K. Trithiolaniacin, a novel trithiolan from *Petiveria alliacea*. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 21, p. 906-907, 1974.
- AHMED, O. M. *et al.* Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects and the probable mechanisms of action of *Ruta graveolens* infusion and rutin in nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats. 2010.
- Ait-ouazzou, A.; Conchello, P. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. **J. Sci. Food Agric**, v. 91, p. 2643–2651, 2011.
- AJILORE, B. S. *et al.* GC–MS analysis, toxicological and oral glucose tolerance assessments of methanolic leaf extract of *Eucalyptus globulus*. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, p. 1-9, 2021.
- ALBUQUERQUE, U. P. *et al.* Natural products from ethnodirected studies: revisiting the ethnobiology of the zombie poison. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, n. 1, p. 202508, 2012.
- AL-MIJALLI, S. H. *et al.* Exploring the antibacterial mechanisms of chemically characterized essential oils from leaves and buds of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Industrial Crops and Products**, v. 205, p. 117561, 2023.
- AL-SAID, M. S. *et al.* Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 28, n. 3, p. 305-312, 1990.
- AL-SNAFI, A. El. Pharmacological effects of *Allium* species grown in Iraq. An overview. **International Journal of Pharmaceutical and health care Research**, v. 1, n. 4, p. 132-147, 2013.
- ARON, Al. T. *et al.* Reproducible molecular networking of untargeted mass spectrometry data using GNPS. **Nature protocols**, v. 15, n. 6, p. 1954-1991, 2020.
- ASGARAPANAH, J.; KHOSHKAM, R. Phytochemistry and pharmacological properties of *Ruta graveolens* L. **J Med Plants Res**, v. 6, n. 23, p. 3942-3949, 2012.
- AUDI, E. A. *et al.* *Petiveria alliacea* L.: plant drug quality control, hydroalcoholic extract standardization and pharmacological assay of lyophilized extract. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 20, n. 3, p. 225-232, 2001.
- AYEDOUN, M. A. *et al.* Volatile constituents of the root oil of *Petiveria alliacea* L. from Benin. **Journal of Essential Oil Research**, v. 10, n. 6, p. 645-646, 1998.
- BANDONI, A. L. *et al.* Survey of Argentine medicinal plants. I. Folklore and phytochemical screening. 1972.
- BARBOSA, F. S. *et al.* Insecticide effects of *Ruta graveolens*, *Copaifera langsdorffii* and *Chenopodium ambrosioides* against pests and natural enemies in commercial tomato plantation. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, p. 37-43, 2011.
- BANDONI, A. L. *et al.* Survey of argentine medicinal plants—Folklore and phytochemical—Screening. II. **Economic Botany**, v. 30, p. 161-185, 1976.
- BATIHA, G. E. *et al.* Inhibitory effects of *Uncaria tomentosa* bark, *Myrtus communis* roots, *Origanum vulgare* leaves and *Cuminum cyminum* seeds extracts against the growth of *Babesia* and *Theileria* in vitro. **Jap. J. Vet. Parasitol**, v. 17, p. 1-13, 2018.
- BENEVIDES, P. J. C. *et al.* Antifungal polysulphides from *Petiveria alliacea* L. **Phytochemistry**, v. 57, n. 5, p. 743-747, 2001.
- BENSKY, D. *et al.* Chinese herbal medicine: materia medica. **(No Title)**, 2004.

- BESHISHY, A. M. *et al.* Inhibitory effects of methanolic *Olea europaea* and acetic *Acacia laeta* on growth of *Babesia* and *Theileria*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 12, n. 9, p. 425-434, 2019.
- BEZERRA, J. N. S. Composição química, atividade fitonematocida e inseticida de *Tipi* (*Petiveria alliacea*). 2006.
- BHATWALKAR, S. B. *et al.* Antibacterial properties of organosulfur compounds of garlic (*Allium sativum*). **Frontiers in microbiology**, v. 12, p. 613077, 2021.
- BISOGNO, Tiziana *et al.* Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. **British journal of pharmacology**, v. 134, n. 4, p. 845-852, 2001.
- BLAINSKI, A. *et al.* Dual effects of crude extracts obtained from *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae) on experimental anxiety in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 128, n. 2, p. 541-544, 2010.
- Board. Handbook on Spices. **Asia Pacific Business Press Inc**, Delhi, 199-213, 2010.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International journal of food microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.d
- BYNG, J. W. *et al.* Revision of *Eugenia* and *Syzygium* (Myrtaceae) from the Comoros archipelago. **Phytotaxa**, v. 252, n. 3, p. 163-184, 2016.
- DE ARRUDA CAMARGO, M. T. L. Contribuição Etnofarmacobotânica ao estudo de *Petiveria alliacea* L.-Phytolaccaceae-(" amansa-senhor") ea atividade hipoglicemiante relacionada a transtornos mentais. **Dominguezia**, v. 23, n. 1, p. 21-28, 2007.
- CHAIEB, K. *et al.* Antioxidant properties of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* and its antifungal activity against a large number of clinical *Candida* species. **Mycoses**, v. 50, n. 5, p. 403-406, 2007.
- CHAIEB, K. *et al.* The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 21, n. 6, p. 501-506, 2007.
- CHICCA, A. *et al.* Uncovering the psychoactivity of a cannabinoid from liverworts associated with a legal high. **Science advances**, v. 4, n. 10, p. 2166, 2018.
- CHOMCHALOW, N. Spice production in Asia-An overview. **AU Journal of Technology**, v. 5, n. 2, 2001.
- Chowdhury e Steinberger. Effect of 5α reduced androgens on sex accessory organs. Initiation and maintenance of spermatogenesis in the rat. **Biology of Reproduction**, v. 12, n. 5, p. 609-617, 1975.
- CIVITELLO, L. **Cuisine and culture: A history of food and people**. John Wiley & Sons, 2011.
- COCK, I. E.; CHEESMAN, M. Plants of the genus *Syzygium* (Myrtaceae): A review on ethnobotany, medicinal properties and phytochemistry. **Bioactive compounds of medicinal plants: Properties and potential for human health**, p. 35-84, 2018.
- CORDELL, G. A.; COLVARD, M. D. Some thoughts on the future of ethnopharmacology. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, p. 5-14, 2005.
- DIEGO, C. F.; WANDERLEY, O. P. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. **Asian pacific journal of tropical biomedicine**, p. 90-96, 2014.
- DA SILVA, K. A. S. *et al.* Activation of cannabinoid receptors by the pentacyclic triterpene α , β -amyrin inhibits inflammatory and neuropathic persistent pain in mice. **PAIN®**, v. 152, n. 8, p. 1872-1887, 2011.
- DAMJANOVIĆ-VRATNICA, B. *et al.* Antimicrobial effect of essential oil isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 29, n. 3, p. 277-284, 2011.

- DANIEL, A. N. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive activities A of eugenol essential oil in experimental animal models. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 212-217, 2009.
- DE ANDRADE, T. M. *et al.* Potential behavioral and pro-oxidant effects of *Petiveria alliacea* L. extract in adult rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 604-610, 2012.
- DE SOUSA, J. R. *et al.* Dibenzyl trisulphide and trans-N-methyl-4-methoxyproline from *Petiveria alliacea*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 11, p. 3653-3655, 1990.
- DEVANE, W. A. *et al.* Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. **Science**, v. 258, n. 5090, p. 1946-1949, 1992.
- MARZO, V. D.; PETROCELLIS, L. De. Endocannabinoids as regulators of transient receptor potential (TRP) channels: a further opportunity to develop new endocannabinoid-based therapeutic drugs. **Current medicinal chemistry**, v. 17, n. 14, p. 1430-1449, 2010.
- DI MARZO, V. Endocannabinoids: synthesis and degradation. **Reviews of Physiology Biochemistry and Pharmacology**, p. 1-24, 2008.
- DOMÍNGUEZ, Juan A. Contribuciones a la materia médica argentina. 1928.
- DOMITROVIĆ, R. *et al.* Myricitrin exhibits antioxidant, anti-inflammatory and antifibrotic activity in carbon tetrachloride-intoxicated mice. **Chemico-biological interactions**, v. 230, p. 21-29, 2015.
- DUARTE, M. R.; LOPES, J. F. Leaf and stem morphoanatomy of *Petiveria alliacea*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 7-8, p. 599-607, 2005.
- EL-SABER BATIHA, G. *et al.* Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): A review. **Nutrients**, v. 12, n. 3, p. 872, 2020.
- ESSAWI, T.; SROUR, M. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. **Journal of ethnopharmacology**, v. 70, n. 3, p. 343-349, 2000.
- FELDER, C. C. *et al.* Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. **Molecular pharmacology**, v. 48, n. 3, p. 443-450, 1995.
- FRAIGE, K. **Estudo comparativo do perfil metabolômico e proteômico de uvas (*vitis vinifera*) durante o processo de maturação utilizando ferramentas bioanalíticas**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- FUNDAÇÃO CULTURAL PALMARES. Fundação Cultural Palmares reconhece mais 23 comunidades quilombolas/ Publicado em 28/07/2023 - 10:39 Por Fabiola Sinimbu - Repórter da Agência Brasil – Brasília. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/direitos-humanos/noticia/2023-07/fundacao-cultural-palmares-reconhece-mais-23-comunidades-quilombolas>. Acessado em 05/07/2024
- GAUDÊNCIO, S. P.; PEREIRA, F. Dereplication: racing to speed up the natural products discovery process. **Natural product reports**, v. 32, n. 6, p. 779-810, 2015.
- GAYOSO, C. W. *et al.* Sensitivity of fungi isolated from onychomycosis to *Eugenia cariophyllata* essential oil and eugenol. **Fitoterapia**, v. 76, n. 2, p. 247-249, 2005.
- GERTSCH, J., PERTWEE, R. G., & DI MARZO, V. Phytocannabinoids beyond the Cannabis plant—do they exist?. **British journal of pharmacology**, v. 160, n. 3, p. 523-529, 2010.
- GÖGER, G. *et al.* In vitro antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory evaluation of *Eucalyptus globulus* essential oil. **Nat. Volatiles Essent. Oils** **2020**, 7, 1–11.
- GOLDBECK, J. C. *et al.* Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus mutans*. **Industrial Crops and Products**, v. 60, p. 304-309, 2014.
- GOMES, P. B. *et al.* Central effects of isolated fractions from the root of *Petiveria alliacea* L.(tipi) in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 120, n. 2, p. 209-214, 2008.
- GOMES, P. B. *et al.* Study of antinociceptive effect of isolated fractions from *Petiveria alliacea* L.(tipi) in mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 1, p. 42-46, 2005.
- GOPALAKRISHNAN, N.; NARAYANAN, C. S. Composition of clove leaf oil during leaf growth. 1988.
- GRAVOT, A. *et al.* Cinnamic acid 4-hydroxylase mechanism-based inactivation by psoralen derivatives: cloning and characterization of a C4H from a psoralen producing plant—*Ruta graveolens*—exhibiting

- low sensitivity to psoralen inactivation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 422, n. 1, p. 71-80, 2004.
- GUARATINI, T *et al.* Balance of xanthophylls molecular and protonated molecular ions in electrospray ionization. **Journal of mass spectrometry**, v. 40, n. 7, p. 963-968, 2005.
- GÜLÇİN, İ. Antioxidant activity of eugenol: A structure–activity relationship study. **Journal of medicinal food**, v. 14, n. 9, p. 975-985, 2011.
- GULLÓN, B. *et al.* Optimization of solvent extraction of antioxidants from *Eucalyptus globulus* leaves by response surface methodology: Characterization and assessment of their bioactive properties. **Ind. Crops Prod**, v. 108, p. 649–659, 2017.
- HAJDU, Z. *et al.* Identification of endocannabinoid system-modulating N-alkylamides from *Heliopsis helianthoides* var. *scabra* and *Lepidium meyenii*. **Journal of natural products**, v. 77, n. 7, p. 1663-1669, 2014.
- HALE, A. *et al.* Phytotoxins from the leaves of *Ruta graveolens*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3345-3349, 2004.
- HANUS, L. O., & MECHOULAM, R. Novel natural and synthetic ligands of the endocannabinoid system. **Curr. Med. Chem**, V. 17, p. 1341–1359, 2010. (Di Marzo e De Petrocellis, 2010)
- HAROUN, M. F., & AL-KAYALI, R. S. Synergistic effect of *Thymbra spicata* L. extracts with antibiotics against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* strains. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 19, n. 11, p. 1193, 2016.
- HASEGAWA, T. *et al.* Bioactive monoterpene glycosides conjugated with gallic acid from the leaves of *Eucalyptus globulus*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 3, p. 747-753, 2008.
- HASHEMI, K. S. M. *et al.* Survey the antifungal effect of root ethanol extract of *Ruta graveolens* on *Saprolegnia* spp. In: **Int Conf Biotechnol Environ Manag**. 2011. p. 19-23.
- HUANG, A *et al.* Metabolic profile of skimmianine in rats determined by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. **Molecules**, v. 22, n. 4, p. 489, 2017.
- HASSANZADEH, P.; HASSANZADEH, A. The CB 1 receptor-mediated endocannabinoid signaling and NGF: the novel targets of curcumin. **Neurochemical Research**, v. 37, p. 1112-1120, 2012.
- HAVSTEEN, B. J. B. P. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemical pharmacology**, v. 32, n. 7, p. 1141-1148, 1983.
- HERNÁNDEZ, J. F. *et al.* A *Petiveria alliacea* standardized fraction induces breast adenocarcinoma cell death by modulating glycolytic metabolism. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 153, n. 3, p. 641-649, 2014.
- HERTOG, M. *et al.* Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 40, n. 12, p. 2379-2383, 1992.
- HOLLOWAY, A. C. *et al.* Effects of clove oil and MS-222 on blood hormone profiles in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum. **Aquaculture research**, v. 35, n. 11, p. 1025-1030, 2004.
- HUANG, A. *et al.* Metabolic profile of skimmianine in rats determined by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. **Molecules**, v. 22 n. 4, p. 489, 2017.
- HUSSAIN, S. *et al.* Clove: A review of a precious species with multiple uses. **Int. J. Chem. Biochem. Sci**, v. 11, p. 129-133, 2017.
- IKEYA, Y. *et al.* Four new phenolic glycosides from *Polygala tenuifolia*. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 39, n. 10, p. 2600-2605, 1991.
- IVANOVA, A. *et al.* Volatile components of some Rutaceae species. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 59, n. 3-4, p. 169-173, 2004.
- JAISWAL, R. *et al.* Identification and characterization of chlorogenic acids, chlorogenic acid glycosides and flavonoids from *Lonicera henryi* L. (Caprifoliaceae) leaves by LC–MSn. **Phytochemistry**, v. 108, p. 252-263, 2014.
- JANBAZ, K. H.; SAEED, S. A.; GILANI, A. H. Protective effect of rutin on paracetamol-and CCl4-induced hepatotoxicity in rodents. **Fitoterapia**, v. 73, n. 7-8, p. 557-563, 2002.
- JANG, H. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of fresh garlic and aged garlic by-products extracted with different solvents. **Food science and biotechnology**, v. 27, p. 219-225, 2018.
- JEONG, . T.; AN, S. J.; LIM, H. B. Rapid Determination of Furoquinoline Alkaloids in Rutaceae Species by Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC) with Photodiode Array (PDA) and Electrospray Ionization–Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry (ESI-Q-TOF/MS). **Analytical Letters**, v. 54, n. 4, p. 698-715, 2021.

- JIANG, X. *et al.* Garlic-derived organosulfur compound exerts antitumor efficacy via activation of MAPK pathway and modulation of cytokines in SGC-7901 tumor-bearing mice. **International immunopharmacology**, v. 48, p. 135-145, 2017.
- JIKIHARA, H. *et al.* Aged garlic extract inhibits 1, 2-dimethylhydrazine-induced colon tumor development by suppressing cell proliferation. **Oncology reports**, v. 33, n. 3, p. 1131-1140, 2015.
- JIROVETZ, L. *et al.* Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 17, p. 6303-6307, 2006.
- JOSHI, A. *et al.* A comparative study of the chemical composition of the essential oil from *Eucalyptus globulus* growing in Dehradun (India) and around the world. **Orient. J. Chem**, v. 32, n. 1, p. 331-340, 2016.
- JOSHI, B. *et al.* Phytochemical extraction and antimicrobial properties of different medicinal plants: *Ocimum sanctum* (Tulsi), *Eugenia caryophyllata* (Clove), *Achyranthes bidentata* (Datiwan) and *Azadirachta indica* (Neem). **Journal of Microbiology and Antimicrobials**, v. 3, n. 1, p. 1-7, 2011.
- KAMALAKKANNAN, N.; PRINCE, P. S. M. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 98, n. 1, p. 97-103, 2006.
- KATAJAMAA, M., MIETTINEN, J.; ORESIC, M. MZmine: toolbox for processing and visualization of mass spectrometry based molecular profile data. **Bioinformatics** 22, 634–636, 2006.
- KAUR, S.; SHARMA, S. A histometric study to assess preventive action of ascorbic acid and garlic on cadmium induced hepatotoxicity in albino mice. **International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research**, v. 5, n. 3, 2015.
- KENNEDY, D. O.; WIGHTMAN, E. L. Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. **Advances in Nutrition**, v. 2, n. 1, p. 32-50, 2011.
- KERDUDO, A. *et al.* Essential oil composition and biological activities of *Petiveria alliacea* L. from Martinique. **Journal of Essential Oil Research**, v. 27, n. 3, p. 186-196, 2015.
- KHAN, M. M. *et al.* Antioxidant and antipathogenic activities of citrus peel oils. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 15, n. 6, p. 972-979, 2012.
- KHOURI, N. A.; EL-AKAWI, Z. Antiandrogenic activity of *Ruta graveolens* L in male Albino rats with emphasis on sexual and aggressive behavior. **Neuroendocrinology letters**, v. 26, n. 6, p. 823-829, 2005.
- KISSIN, I.; SZALLASI, A. Therapeutic targeting of TRPV1 by resiniferatoxin, from preclinical studies to clinical trials. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 11, n. 17, p. 2159-2170, 2011.
- KOBA, K. *et al.* Antibacterial activities of the buds essential oil of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry from Togo. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 1, n. 1, p. 42-51, 2011.
- KORTE, G. *et al.* Tea catechins' affinity for human cannabinoid receptors. **Phytomedicine**, v. 17, n. 1, p. 19-22, 2010.
- KUBEC, R.; MUSAH, R.A. Cysteine sulfoxide derivatives in *Petiveria alliacea*. **Phytochemistry**, v. 58, n. 6, p. 981-985, 2001.
- KUBEC, R. *et al.* S-Substituted cysteine derivatives and thiosulfinate formation in *Petiveria alliacea*—part II. **Phytochemistry**, v. 61, n. 6, p. 675-680, 2002.
- KUBEC, R. *et al.* The lachrymatory principle of *Petiveria alliacea*. **Phytochemistry**, v. 63, n. 1, p. 37-40, 2003.
- KUZOVKINA, I. *et al.* Specific accumulation and revised structures of acridone alkaloid glucosides in the tips of transformed roots of *Ruta graveolens*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 8, p. 1095-1100, 2004.
- LAD, V. *Ayurveda: The Science of Self-Healing*. Lotus Press. 2002.
- LE BARS, D. *et al.* Animal models of nociception. **Pharmacological reviews**, v. 53, n. 4, p. 597-652, 2001.
- LEE HEESEOP, L. H. *et al.* Hepatoprotective effects of lactic acid-fermented garlic extract against acetaminophen-induced acute liver injury in rats. **Food science and biotechnology**, v. 25, p. 867-873, 2016.
- LIMA, T. *et al.* Evaluation of antinociceptive effect of *Petiveria alliacea* (Guine) in animals. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 153-158, 1991.
- LISEC, J. *et al.* Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. **Nature Protocols**, v. 1, p. 387, 2006.
- LIU, P. *et al.* Antidepressant effect of 3, 6-disinapoyl sucrose from *Polygala tenuifolia* wild in pharmacological depression model. **Chinese Pharmaceutical Journal**, v. 43, n. 18, p. 1391-1394, 2008.
- LIU, X. *et al.* Betulinic acid targets YY1 and ErbB2 through cannabinoid receptor-dependent disruption of microRNA-27a: ZBTB10 in breast cancer. **Molecular cancer therapeutics**, v. 11, n. 7, p. 1421-1431, 2012.

- LONDHE, V. P. *et al.* Role of garlic (*Allium sativum*) in various diseases: An overview. **Angiogenesis**, v. 12, n. 13, p. 129-134, 2011.
- LOPEZ, P. *et al.* Solid-and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 17, p. 6939-6946, 2005.
- LUIÍS, Á. *et al.* Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 79, p. 274-282, 2016.
- LUO, R. *et al.* The mechanism in gastric cancer chemoprevention by allicin. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 16, n. 7, p. 802-809, 2016.
- MAJEWSKI, M. *Allium sativum*: facts and myths regarding human health. **Roczniki Państwowego Zakładu Higieny**, v. 65, n. 1, 2014.
- MCKINNEY, M. K.; CRAVATT, B. F. Structure and function of fatty acid amide hydrolase. **Annu. Rev. Biochem**, v. 74, p. 411-432, 2005.
- MCPARTLAND, J. M.; GUY, G. W.; DI MARZO, V. Care and feeding of the endocannabinoid system: a systematic review of potential clinical interventions that upregulate the endocannabinoid system. **PLoS one**, v. 9, n. 3, p. e89566, 2014.
- MEEPAGALA, K. *et al.* Algicidal and antifungal compounds from the roots of *Ruta graveolens* and synthesis of their analogs. **Phytochemistry**, v. 66, n. 22, p. 2689-2695, 2005.
- MEOTTI, F. C. *et al.* Antinociceptive action of myricitrin: involvement of the K⁺ and Ca²⁺ channels. **European journal of pharmacology**, v. 567, n. 3, p. 198-205, 2007.
- MIGUEL, S. Rue (*Ruta L.*, Rutaceae) in traditional Spain: frequency and distribution of its medicinal and symbolic applications. **Economic botany**, v. 57, n. 2, p. 231-244, 2003.
- MILLS, S.; BONE, K. **Principles and practice of phytotherapy. Modern herbal medicine**. 2000.
- MOLINA-DÍAZ, A. *et al.* Ambient mass spectrometry from the point of view of Green Analytical Chemistry. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 19, p. 50., 2019
- MoNA - MassBank of America. Disponível em: <https://mona.fiehnlab.ucdavis.edu>. Acessado em 10/06/2024.
- MONACHE, F. D. *Petiveria alliacea*. II. Further flavonoids and triterpenes. **Gazz Chim Ital**, v. 126, p. 275-278, 1996.
- MONTERO, Paula. Da doença à desordem: a magia na umbanda. **Biblioteca de saúde e sociedade**, v. 10, 1985.
- MORIHARA, N. *et al.* Aged garlic extract suppresses inflammation in apolipoprotein E-knockout mice. **Molecular nutrition & food research**, v. 61, n. 10, p. 1700308, 2017.
- MORS, W. B. *et al.* **Medicinal plants of Brazil**. 2000.
- MULYANINGSIH, S. *et al.* Antibacterial activity of essential oils from *Eucalyptus* and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. **Pharmaceutical biology**, v. 49, n. 9, p. 893-899, 2011.
- MUROTA, K.; TERAQ, J. Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 417, n. 1, p. 12-17, 2003.
- NAJI, K M. *et al.* Hepatoprotective and antioxidant effects of single clove garlic against CCl₄-induced hepatic damage in rabbits. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 17, p. 1-12, 2017.
- NAM, T. G. *et al.* Flavonoid analysis of buckwheat sprouts. **Food Chemistry**, v. 170, p. 97-101, 2015.
- NASIRINEZHAD, F. *et al.* Antifertility effect of aqueous extract of aerial part of *Ruta graveolens* on immature female Balb/C mice. **Physiology and Pharmacology**, v. 13, n. 3, p. 279-287, 2009.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5318759, Kaempferol 3-glucuronide. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Kaempferol-3-glucuronide>. Acessado em 10/06/2024.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5281613, Diosmin. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diosmin>. Acessado em 10/06/2024
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 6441280, trans-5-O-(4-coumaroyl)-D-quinic acid. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/trans-5-O-4-coumaroyl-D-quinic-acid>. Acessado em 10/06/2024
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5280805, Rutin. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rutin>. Acessado em 10/06/2024.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5281792, Rosmarinic acid. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rosmarinic-acid>. Acessado em 10/06/2024.

- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 99693, Skimmin. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Skimmin>. Acessado em 10/06/2024.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 120282, Phenazine-1-carboxamide. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phenazine-1-carboxamide>. Acessado em 10/06/2024.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5281417, Esculin. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Esculin>. Acessado em 10/06/2024.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 68079, Isopimpinellin. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Isopimpinellin>. Acessado em 10/06/2024.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5281832, Arborinine. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Arborinine>. Acessado em 10/06/2024.
- NEGRI, G.; RODRIGUES, E. Essential oils found in the smoke of " tira-capeta", a cigarette used by some quilombolas living in pantanal wetlands of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 310-316, 2010.
- NEJAD, S. M. *et al.* Pharmacological and toxicological properties of eugenol. **Turkish journal of pharmaceutical sciences**, v. 14, n. 2, p. 201, 2017.
- NEVEU, V. *et al.* Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. **Database**, v. 2010, 2010.
- NOTHIAS, L. F. *et al.* Feature-based molecular networking in the GNPS analysis environment. **Nat. Methods** 17, 905–908 (2020).
- DE OLIVEIRA, É. C. S.; TROVÃO, D. M. D. B. M. O uso de plantas em rituais de rezas e benzeduras: um olhar sobre esta prática no estado da Paraíba. **Revista brasileira de Biociências**, v.7, n.3, p.245-251, 2009.
- OLIVEIRA, R. A. *et al.* Essential oils: prospects for agribusiness spices in Bahia. **Bahia Agric**, v. 8, n. 1, p. 46-48, 2007.
- OULKHEIR, S. *et al.* Antibacterial activity of essential oils extracts from cinnamon, thyme, clove and geranium against a gram negative and gram positive pathogenic bacteria. **J. Dis. Med. Plants**, v. 3, p. 1-5, 2017.
- PAARAKH, P. M. Terminalia arjuna (Roxb.) Wt. and Arn.: a review. 2010.
- PACHER, P.; BÁT KAI, S.; KUNOS, G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. **Pharmacological reviews**, v. 58, n. 3, p. 389-462, 2006.
- PALAZZO, E. *et al.* Moving towards supraspinal TRPV1 receptors for chronic pain relief. **Molecular pain**, v. 6, p. 1744-8069-6-66, 2010.
- PARK MIYOUNG, P. M. *et al.* 18 β -glycyrrhetic acid attenuates anandamide-induced adiposity and high-fat diet induced obesity. **Molecular nutrition & food research**, v. 58, n. 7, p. 1436-1446, 2014.
- PARK, S. H *et al.* Antinociception effect and mechanism of *Ruta graveolens* L. in mice. **Journal of the Korean society for applied biological chemistry**, v. 53, p. 593-597, 2010.
- PARK, S. Y. *et al.* Ethyl linoleate from garlic attenuates lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory cytokine production by inducing heme oxygenase-1 in RAW264. 7 cells. **International Immunopharmacology**, v. 19, n. 2, p. 253-261, 2014.
- PARK, B. M. *et al.* Fermented garlic extract ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 30, p. 247-253, 2017.
- PATHAK, S. *et al.* Ruta 6 selectively induces cell death in brain cancer cells but proliferation in normal peripheral blood lymphocytes: A novel treatment for human brain cancer. **International journal of oncology**, v. 23, n. 4, p. 975-982, 2003.
- PATWARDHAN, B. Ethnopharmacology and drug discovery. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, p. 50-52, 2005.
- PAWAR, V. C.; THAKER, V. S. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. **Mycoses**, v. 49, n. 4, p. 316-323, 2006.
- PEI, R. S. *et al.* Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method. **Journal of food science**, v. 74, n. 7, p. M379-M383, 2009.
- PEREIRA, S. I. *et al.* Chemical composition of the essential oil distilled from the fruits of *Eucalyptus globulus* grown in Portugal. **Flavour and fragrance journal**, v. 20, n. 4, p. 407-409, 2005.
- PETROSINO, S.; LIGRESTI, A.; DI MARZO, V. Endocannabinoid chemical biology: a tool for the development of novel therapies. *Curr. Opin. Chem. Biol.* V.13, p. 309–320, 2009.

- PILON, A. C. *et al.* Mass spectral similarity networking and gas-phase fragmentation reactions in the structural analysis of flavonoid glycoconjugates. **Analytical chemistry**, v. 91, n. 16, p. 10413-10423, 2019.
- PILON, A. C. *et al.* Redes moleculares: Uma análise sobre anotações e descoberta de novos ativos. **Química Nova**, v. 44, p. 1168-1179, 2021.
- PINO, J. A. *et al.* Essential oil from buds and leaves of clove (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry) grown in Cuba. **Journal of Essential Oil Research**, v. 13, n. 4, p. 278-279, 2001.
- PLUSKAL, T. *et al.* MZmine 2: modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data. **BMC Bioinformatics**, v. 11, p. 395, 2010.
- PRASHAR, A. *et al.* Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. **Cell Proliferation**, v. 39, n. 4, p. 241-248, 2006.
- QIU, Z. *et al.* Bioactive polysaccharides and oligosaccharides from garlic (*Allium sativum* L.): Production, physicochemical and biological properties, and structure–function relationships. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 4, p. 3033-3095, 2022.
- QUINTANA, A. M. **A ciência da benzedura: mau-olhado, simpatia e uma pitada de psicanálise**. Bauru: EDUSC, 1999.
- RAMEZANI, H. *et al.* Antifungal activity of the volatile oil of *Eucalyptus citriodora*. **Fitoterapia**, v. 73, n. 3, p. 261-262, 2002.
- RATHEESH, M.; HELEN, A. Anti-inflammatory activity of *Ruta graveolens* Linn on carrageenan induced paw edema in wistar male rats. **African journal of Biotechnology**, v. 6, n. 10, 2007.
- RATHEESH, M.; SINDHU, G.; HELEN, A. Anti-inflammatory effect of quinoline alkaloid skimmianine isolated from *Ruta graveolens* L. **Inflammation research**, v. 62, p. 367-376, 2013.
- ROCHA, A. B.; DA SILVA, J. B. Thin layer chromatographic analysis of coumarins and preliminary test for some active substance in the root of *Petiveria alliacea* L. **Revista da Faculdade de Farmacia e Odontologia de Araraquara**, v. 3, n. 1, p. 65-72, 1969.
- RODRIGUES, V. H. *et al.* Extraction of *Eucalyptus* leaves using solvents of distinct polarity. Cluster analysis and extracts characterization. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 135, p. 263-274, 2018.
- RODRIGUES, E. *et al.* Preliminary investigation of the central nervous system effects of 'Tiracapeta' (Removing the Devil), a cigarette used by some Quilombolas living in Pantanal Wetlands of Brazil. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 9, p. 1248-1255, 2008.
- RODRIGUES, E.; CARLINI, E. A. "Possíveis efeitos sobre o sistema nervoso central de plantas utilizadas por duas culturas brasileiras (quilombolas e índios)." **Sociedade Médica Brasileira de Fitomedicina**, 2003.
- ROJAS-GARBANZO, C. *et al.* Characterization of phenolic and other polar compounds in peel and flesh of pink guava (*Psidium guajava* L. cv. 'Criolla') by ultra-high performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection. **Food Research International**, v. 100, p. 445-453, 2017.
- RUSSO, E. B. Beyond cannabis: Plants and the endocannabinoid system. **Trends in pharmacological sciences**, v. 37, n. 7, p. 594-605, 2016.
- RUSSO, E. B. Cannabidiol and TRPV1: turning down the heat (and pain). In 6th Conference on Cannabis in Medicine. International Association for Cannabinoid Medicines, pp. 35, 2011.
- SALLAL, A. K. J.; ALKOFALI, A. Inhibition of the haemolytic activities of snake and scorpion venoms in vitro with plant extracts. 1996.
- SCHIEBER, A. *et al.* Detection of isorhamnetin glycosides in extracts of apples (*Malus domestica* cv. "Bretacher") by HPLC-PDA and HPLC-APCI-MS/MS. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 13, n. 2, p. 87-94, 2002.
- SHALA, A. Y.; GURURANI, M. A. Phytochemical properties and diverse beneficial roles of *Eucalyptus globulus* Labill.: a review. **Horticulturae**, v. 7, n. 11, p. 450, 2021.
- SHAN, B. *et al.* Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 20, p. 7749-7759, 2005.
- SHARMA, A. D.; INDERJEET, K. A. U. R. By-product hydrosol of *Eucalyptus globulus* essential oil distillation as source of botanical insecticides: wealth from waste. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 13, n. 1, p. 10854-10854, 2021.
- SILVA, J. *et al.* Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 89, n. 2-3, p. 277-283, 2003.
- SILVA, M. L. *et al.* *Petiveria alliacea* exerts mnemonic and learning effects on rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 169, p. 124-129, 2015.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Textbook" principles of instrumental analysis." **Cengage learning. core. ac. uk. <https://core.ac.uk/download/pdf/232277508.pdf>**, 2019.

- SOARES, M. S *et al.* Quantification and localization of hesperidin and rutin in *Citrus sinensis* grafted on *C. limonia* after *Xylella fastidiosa* infection by HPLC-UV and MALDI imaging mass spectrometry. **Phytochemistry**, v. 115; p. 161, 2015.
- SOLEIMANI, M. *et al.* Volatile composition of *Ruta graveolens* L. of North of Iran. **World Applied Sciences Journal**, v. 7, n. 1, p. 124-126, 2009.
- SON, N. T. Skimmianine: Natural Occurrence, Biosynthesis, Synthesis, Pharmacology and Pharmacokinetics. **Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 6, p. 556- 569, 2023.
- SUAREZ, L. E. C.; DELLE MONACHE, F. 6-C-formyl and 6-C-hydroxymethyl flavanones from *Petiveria alliacea*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 7, p. 2481-2482, 1992.
- SUBROTO, E. *et al.* Bioactive compounds in garlic (*Allium sativum* L.) as a source of antioxidants and its potential to improve the immune system: a review. **Food Res**, v. 5, n. 6, p. 1-11, 2021.
- SULAIMAN, F. A. *et al.* The GC-MS fingerprints of *Nicotiana tabacum* L. extract and propensity for renal impairment and modulation of serum triglycerides in Wistar rats. **J. Pharm. Pharmacogn. Res**, v. 8, n. 3, p. 191-200, 2020.
- SZALLASI, A.; BLUMBERG, P. M. Vanilloid (Capsaicin) receptors and mechanisms. **Pharmacological reviews**, v. 51, n. 2, p. 159-212, 1999.
- TAKASHIMA, M. *et al.* Aged garlic extract exerts endothelium-dependent vasorelaxant effect on rat aorta by increasing nitric oxide production. **Phytomedicine**, v. 24, p. 56-61, 2017.
- TAVARES, L. D. C. *et al.* Structure-activity relationship of benzophenanthridine alkaloids from *Zanthoxylum rhoifolium* having antimicrobial activity. **PLoS One** 9 (5):e97000. 2014. doi:10.1371/journal.pone.0097000.
- THANGASELVABAI, T. *et al.* Clove (*Syzygium Aromaticum*)–The Spicy Flower Bud of Significance-A Review. **Agricultural Reviews**, v. 31, n. 1, p. 40-47, 2010.
- THORS, L.; BELGHITI, M.; FOWLER, C. J. Inhibition of fatty acid amide hydrolase by kaempferol and related naturally occurring flavonoids. **British journal of pharmacology**, v. 155, n. 2, p. 244-252, 2008.
- THUWAINI, M. M. *et al.* Hepatoprotective Effects of the Aqueous Extract of Clove (*Syzygium aromaticum*) against Paracetamol Induced Hepatotoxicity and Oxidative Stress in Rats. **European Journal of Pharmaceutical and Medical Research**, v. 3, n. 8, p. 36-42, 2016.
- TORIANI, ALT; OLIVEIRA, L. *Ruta graveolens* L.(arruda) O conhecimento e suas particularidades. **Curitiba: Faculdades Integradas “Espírita” curso de Especialização pós-graduação “Lato Sensu em Fitoterapia. 70p**, 2006.
- TOSERKANI, A. *et al.* Changes of lipid profiles, glucose, and hemogram after administration of *Ruta graveolens* extract in diabetic rats. **Comparative Clinical Pathology**, v. 21, p. 1587-1592, 2012.
- TREVISAN, G. *et al.* Gallic acid functions as a TRPA1 antagonist with relevant antinociceptive and antiedematogenic effects in mice. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 387, p. 679-689, 2014.
- TRONGTOKIT, Y. *et al.* Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 19, n. 4, p. 303-309, 2005.
- TUDU, C. K. *et al.* Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of garlic (*Allium sativum*), a storehouse of diverse phytochemicals: A review of research from the last decade focusing on health and nutritional implications. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 949554, 2022.
- VELLUTI, A. *et al.* Impact of essential oils on growth rate, zearalenone and deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* under different temperature and water activity conditions in maize grain. **Journal of applied microbiology**, v. 96, n. 4, p. 716-724, 2004.
- VOGEL, Z. *et al.* Anandamide, a brain endogenous compound, interacts specifically with cannabinoid receptors and inhibits adenylate cyclase. **Journal of neurochemistry**, v. 61, n. 1, p. 352-355, 1993.
- WANG, M. *et al.* Social Molecular Networking. **Nature biotechnology**, v. 34, n. 8, p. 828-837, 2016.
- WATROUS, J. *et al.* Mass spectral molecular networking of living microbial colonies. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 26, p. E1743-E1752, 2012.
- WILLIAMS, L. A. D. *et al.* A critical review of the therapeutic potential of dibenzyl trisulphide isolated from *Petiveria alliacea* L (guinea hen weed, anamu). **West Indian Medical Journal**, v. 56, n. 1, p. 17, 2007.
- WORLD HEALTH Organization (WHO), 2023. Depressive disorder (depression). Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>. Acessado em: 04/07/2024.
- WHO. WHO Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine. 2 vol. set. Vol. 1 contains text and Vol. 2, maps. World Health Organization, Geneva, 2005.
- WU, H. *et al.* Macamides and their synthetic analogs: evaluation of in vitro FAAH inhibition. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 21, n. 17, p. 5188-5197, 2013.

- E XODO, L. *et al.* The chlorophyll catabolite pheophorbide a as a photosensitizer for the photodynamic therapy. **Curr. Med. Chem**, v. 19, p. 799–807, 2012
- YAMASHITA, O. M. *et al.* Fatores que afetam a germinação de sementes e emergência de plântulas de arruda (*Ruta graveolens* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 202-208, 2009.
- YANG, J. Y. *et al.* Molecular networking as a dereplication strategy. **Journal of Natural Product**, v. 76, p. 1686, 2013.
- ZARGARI, A. Medicinal plants, Vol 1; Tehran. 1990.
- ZHANG, A.; SUN, H.; WANG, X. Mass spectrometry-driven drug discovery for development of herbal medicine. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 37, p. 307, 2018

GLOSSÁRIO

CLAE-EM (Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas)

- Técnica analítica que combina cromatografia líquida com espectrometria de massas para separar e identificar compostos em uma amostra.

EMn (Espectrometria de Massas em Tandem)

- Técnica de espectrometria de massas que utiliza múltiplas etapas de análise de massa, geralmente envolvendo fragmentação de íons para obter informações estruturais detalhadas.

Feature-Based Molecular Networking (FBMN)

- Módulo de análise no GNPS que requer experimentos quantitativos e uma etapa de pré-processamento de dados espectrais para converter espectros de massa em uma "feature".

GNPS (Global Natural Products Social Molecular Networking)

- Plataforma online e gratuita para armazenamento, processamento e análise de dados de espectrometria de massas, focada na anotação e descoberta de novos produtos bioativos.

Ionização por Electrospray (ESI)

- Técnica de ionização utilizada na espectrometria de massas em que uma solução é pulverizada em um campo elétrico para produzir íons.

Dissociação Induzida por Colisão (CID)

- Técnica de fragmentação de íons na espectrometria de massas, onde íons colidem com moléculas de gás neutro para produzir fragmentos.

Espectro Consenso

- Conjunto de características combinadas de diferentes fontes de dados, representado por um único nodo em uma rede molecular.

MZmine

- Ferramenta de software amplamente utilizada para o pré-processamento de dados espectrais em espectrometria de massas.

Espectrometria de Massas (EM)

- Técnica analítica utilizada para medir a massa de partículas e determinar a composição química de uma amostra.

Redes Moleculares

- Ferramenta computacional usada para organizar e visualizar grandes conjuntos de dados espectrais, facilitando a identificação de padrões e a anotação de compostos.

Aquisição Dependente de Dados (DDA)

- Método em espectrometria de massas onde íons são isolados previamente para experimentos de EMn.

Aquisição Independente de Dados (DIA)

- Método em espectrometria de massas onde os espectros de EMn são adquiridos sem o isolamento prévio dos íons precursores.

Ionização por Impacto Eletrônico (EI)

- Técnica de ionização na espectrometria de massas onde elétrons são usados para ionizar as moléculas da amostra.

HPLC (High-Performance Liquid Chromatography)

- Técnica de cromatografia líquida de alta eficiência usada para separar, identificar e quantificar componentes em uma mistura.

Isótopos

- Variantes de um elemento químico que possuem o mesmo número de prótons, mas diferentes números de nêutrons, resultando em diferentes massas atômicas.

Cosseno de Similaridade

- Medida utilizada para determinar a similaridade entre espectros, onde valores próximos de 1 indicam alta similaridade e valores próximos de 0 indicam baixa similaridade.

Precusores e Produtos de Íons

Íons que são fragmentados (precusores) e os fragmentos resultantes (produtos) na espectrometria de massas em tandem.

MassIVE (Mass Spectrometry Interactive Virtual Environment)

- Repositório de dados comunitário parte do consórcio global ProteomeXchange, utilizado como suporte para a criação do GNPS.