

## Screening Cromatográfico de Acanthaceae Medicinais: *Justicia pectoralis* Jacq. e *J. gendarussa* Burm.

Oliveira, Antonio F.M.<sup>1</sup>; Xavier, Haroudo S.<sup>2</sup>; Silva, Nicácio H.<sup>3</sup>; Andrade, Laíse H.C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Botânica, <sup>2</sup>Departamento de Farmácia, <sup>3</sup>Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego s/n, Cidade Universitária, 50.670.920, Recife - PE.

**RESUMO:** A infusão metanólica das folhas de *J. pectoralis* e *J. gendarussa* foi investigada comparativamente quanto à presença de substâncias, que possam ter induzido o uso popular destas como analgésicas ou antiinflamatórias. Os infusos são distinguidos pela presença de cumarinas (1,2-benzopirona e umbeliferona), O-glicosídeos (quercetina e campferol) e estigmaterol em *J. pectoralis*; flavonóides C-glicosilados, simiarenol e  $\alpha$ -amirina foram identificados apenas em *J. gendarussa*. Os dados sugerem que as propriedades fitoterápicas atribuídas popularmente a essas espécies devem ser induzidas por diferentes princípios ativos, possivelmente cumarinas e flavonóides C-glicosilados devido a predominância, respectivamente, na infusão foliar de *J. pectoralis* e *J. gendarussa*.

**Palavras chave:** *Justicia pectoralis*, *Justicia gendarussa*, cumarinas, flavonóides, infusão.

**ABSTRACT:** Chromatographic screening of medicinal Acanthaceae: *Justicia pectoralis* Jacq. and *J. gendarussa* Burm. Methanolic leaf infusion of *J. pectoralis* and *J. gendarussa* was comparatively investigated for the presence of substances that could account for their popular uses as analgesics or anti-inflammatories. The infusions are distinguished by the presence of coumarins (1,2-benzopyrone and umbelliferone), O-glycosides (quercetin and kaempferol) and stigmaterol in *J. pectoralis*; flavonoids C-glycosides, simiarenol and  $\alpha$ -amyrina were identified only in *J. gendarussa*. The data suggest that the phytotherapeutic properties attributed popularly those species may be induced by different active components, possibly coumarins and flavonoids C-glycosides due to their respective predominance in the foliar infusions of *J. pectoralis* and *J. gendarussa*.

**Key words:** *Justicia pectoralis*, *Justicia gendarussa*, coumarins, flavonoids, infusion.

### INTRODUÇÃO

Na medicina tradicional é comum espécies distintas serem confundidas e conseqüentemente empregadas para um mesmo fim terapêutico, por compartilharem a mesma denominação popular. *Justicia pectoralis* e *J. gendarussa* são claros exemplos de plantas medicinais, que embora possam ser diferenciadas morfológicamente, por possuírem sinonímias populares, acabam tendo o mesmo uso fitoterápico. Decoctos ou infusões das folhas dessas espécies, popularmente conhecidas no Norte e Nordeste brasileiro como "anador", são utilizadas com fins analgésicos e antiinflamatórios (Oliveira, 1995).

Ainda que diferentes princípios ativos possam apresentar atividades terapêuticas semelhantes, nenhuma análise comparativa entre a composição química de fitoterápicos obtidos de *J. pectoralis* e *J. gendarussa* foi realizada. Métodos cromatográficos e espectrométricos de alta

resolução já foram utilizados para investigar os constituintes de *J. pectoralis* (Macrae & Towers, 1984; De Vries *et al.*, 1988) e dois derivados cumarínicos (1,2-benzopirona e umbeliferona) têm sido apontados como os mais prováveis princípios ativos (Koh & Willoughby, 1979; Mills *et al.*, 1986; Lino *et al.*, 1997). Sobre a química de *J. gendarussa*, não há estudos com técnicas refinadas de análises e atualmente nenhum constituinte bioativo tem sido referido. Aminas aromáticas, fitoesteróis e friedelina foram reportados para *J. gendarussa* (Govindachari *et al.*, 1969; Wahi *et al.*, 1974; Chakravarty *et al.*, 1982).

As técnicas de cromatografia em camada delgada (CCD) ou a cromatografia em papel (CP) constituem uma maneira fácil, rápida e eficiente de comparar qualitativamente e semiquantitativamente duas ou mais espécies. Esses métodos quando aliados a outras técnicas de

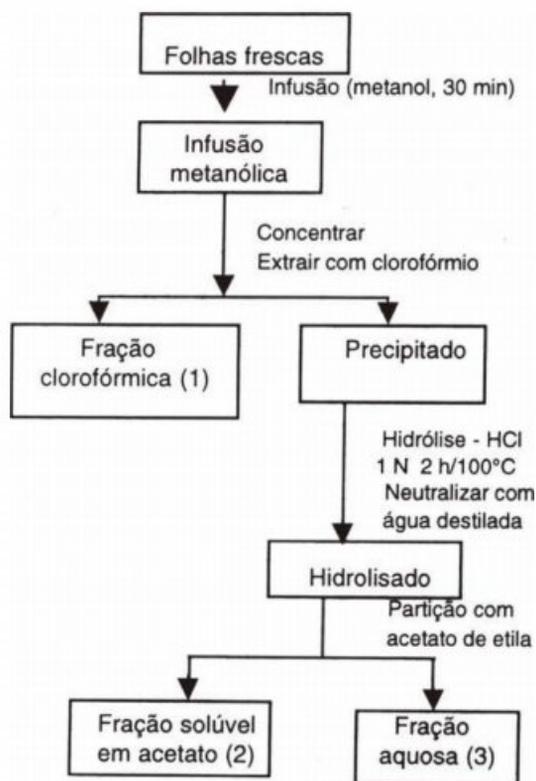
Recebido para publicação em 19.6.00 e aceito para publicação em 28.8.00.

maior resolução como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), a cromatografia a gás (CG) e a espectrometria de massas (EM) tornam-se de grande ajuda na detecção e identificação de substâncias biologicamente ativas. Neste estudo, a infusão metanólica foliar de *J. pectoralis* e *J. gendarussa* foi investigada com o objetivo

de identificar metabólitos que possam ter induzido o uso popular dessas plantas contra dores e inflamações.

## MATERIAL E MÉTODO

**1. Material Botânico.** Folhas de indivíduos adultos de *J. pectoralis* e *J. gendarussa* foram coletadas após 90 dias, em condições padronizadas de cultivo (solo, luz e regime hídrico). *Voucher* das espécies encontram-se depositados no Herbário UFP (Universidade Federal de Pernambuco), sob os números 10465 e 08961, respectivamente.



**FIGURA 1.** Esquema de extração de metabólitos secundários a partir da infusão metanólica foliar de *Justicia pectoralis* e *J. gendarussa*.

**2. Preparação dos Extratos.** Folhas de *J. pectoralis* e *J. gendarussa*, recém coletadas, foram trituradas e submetidas a infusão metanólica (1:2 g.mL<sup>-1</sup>), durante 30 min. Após evaporação do metanol sob pressão reduzida, o resíduo foi reextraído exaustivamente com clorofórmio (fração 1). O material insolúvel em clorofórmio foi submetido a hidrólise com HCl 1N, durante 2 h a 100°C e o hidrolisado resultante foi neutralizado e particionado com acetato de etila (fração 2). As frações 1 e 2 e uma terceira aquosa, resultante da hidrólise (fração 3) foram submetidas a *screening* cromatográfico (CCD e CP). Um esquema geral do procedimento de extração encontra-se ilustrado na Figura 1.

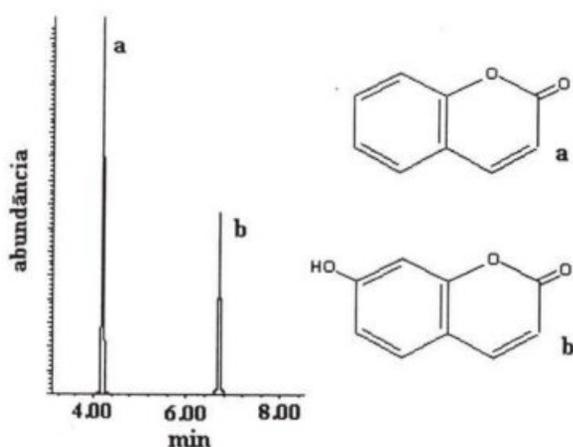
**3. Detecção dos Constituintes.** Os infusos foram ensaiados quanto a presença de alcalóides, cumarinas, flavonóides, glicosídeos cianogênicos, triterpenos, esteróides e saponinas. As análises cromatográficas foram realizadas em placas de gel de sílica G (Merck), com e sem impregnação de fluoresceína sódica 0,02% (Sigma) e em papel Whatman 3MM. As fases móveis foram definidas de acordo com as classes de substâncias ensaiadas, segundo os métodos convencionais (Markhan, 1982; Wagner & Bladt, 1996; Harborne, 1998). Para detecção de heterosídeos cianogênicos utilizou-se papel de picrato de sódio (0,05N de ácido pícrico). Os *spots* foram monitorados baseados na coloração e nos valores de Rf's.

**4. Identificação dos Constituintes.** Os flavonóides foram identificados através de suas propriedades cromatográficas e espectrais (Mabry et al., 1970; Markhan, 1982). Os demais constituintes, exceto glicosídeos cianogênicos, foram identificados através de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas num aparelho HP 5989B (Hewlett Packard). Os constituintes, derivados quando necessários, foram solubilizados em clorofórmio e analisados em modo split (1:30) numa coluna capilar HP 5MS (30 m comp. x 0,25 mm. dia), tendo hélio como gás de arraste a um fluxo de 1 cm<sup>3</sup>.min<sup>-1</sup>. A temperatura foi programada inicialmente em 150°C durante 3 min, aumentando de 10°C até 300°C. O espectrômetro de massas foi operado no modo de impacto eletrônico (70 eV) e a identificação dos compostos realizada por comparação com amostras autênticas e com os espectros de massas obtidos da biblioteca Wiley275-pc.

**TABELA 1.** Metabólitos secundários detectados por cromatografia planar (CCD e CP) na infusão metanólica foliar de *Justicia pectoralis* e *J. gendarussa*.

Espécie/fração Metabólito	<i>Justicia pectoralis</i>			<i>Justicia gendarussa</i>		
	1	2	3	1	2	3
Cumarinas	+++	+	-	-	-	-
Flavonas	-	-	-	-	-	+++
Flavonóis	-	-	++	-	-	-
Esteróides	+	-	-	+	-	-
Triterpenóides	+	-	-	+	-	-

(-) ausente, (+) fraco, (++) médio, (+++) forte



**FIGURA 2.** Cromatograma em fase gasosa das cumarinas detectadas na infusão metanólica foliar de *Justicia pectoralis*. a = 1,2-benzopirona, b = umbeliferona.

## RESULTADO

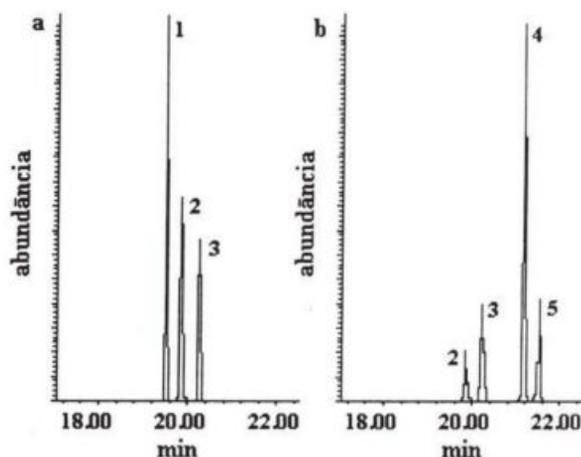
De um modo geral, os ensaios fitoquímicos revelaram ausência de alcalóides, heterosídeos cianogênicos e saponinas, independente do táxon analisado. Os testes foram positivos para cumarinas, flavonóides, triterpenóides e esteróides (Tabela 1).

### 1. *Justicia pectoralis* Jacq.

Duas cumarinas, 1,2-benzopirona e umbeliferona, foram os principais constituintes identificados na infusão metanólica foliar de *J. pectoralis*. A presença de umbeliferona foi confirmada por CG-EM após metilação com diazometano (Figura 2). Dentre os flavonóides, a quercetina e campferol foram as principais agliconas identificadas na fase orgânica (acetato) do extrato hidrolizado de *J. pectoralis*.

### 2. *Justicia gendarussa* Burm.

Esta espécie apresentou um perfil cromatográfico muito diferente do táxon anterior. Em *J. gendarussa*, não foi encontrado nenhum derivado



**FIGURA 3.** Cromatograma em fase gasosa dos triterpenos e esteróides detectados na infusão metanólica foliar de *Justicia pectoralis* (a) e *J. gendarussa* (b). 1 = estigmasterol, 2 =  $\beta$ -sitosterol, 3 =  $\beta$ -amirina, 4 =  $\alpha$ -amirina, 5 = simiarenol.

cumarínico e os flavonóides detectados são C-glicosídeos. Enquanto que  $\alpha$ -amirina foi o principal triterpeno identificado, seguida por simiarenol,  $\beta$ -amirina e  $\beta$ -sitosterol (Figura 3).

## DISCUSSÃO

A presença de 1,2-benzopirona e umbeliferona na infusão metanólica foliar de *J. pectoralis*, detectada por CCD e CP, foi confirmada através de seus tempos de retenção e padrão de fragmentação com o de substâncias autênticas. A ocorrência dessas duas cumarinas em *J. pectoralis* é amplamente referida na literatura, as quais são citadas como os mais prováveis constituintes bioativos da espécie (Macrae & Towers, 1984; De Vries, 1988; Schultes, 1979; Schultes, 1990; Barros et al., 1997; Leal et al., 2000). Na infusão foliar de *J. gendarussa*, por outro lado, nenhum derivado cumarínico foi identificado. Contudo, a ausência de

cumarinas em *J. gendarussa* já havia sido reportada por Govindachari *et al.* (1969). desde que a ocorrência de cumarinas em Acanthaceae é restrita a poucas espécies (Gibbs, 1974; Murray *et al.*, 1982), *J. pectoralis* constitui no único representante do gênero, até o presente, a possuir tais substâncias.

Embora hajam registros sobre a ocorrência de triptaminas em *J. pectoralis* (Duke, 1987), o que justificaria seu uso em rapés alucinógenos por tribos indígenas da Amazônia (Prance, 1972a,b; Schultes, 1979; Schultes, 1990), os testes realizados não detectaram alcalóides nessa espécie, resultados esses que corroboram com os trabalhos de Macrae & Towers (1984) e Melo & Andrade (1989). A ausência de alcalóides em *J. gendarussa* também foi confirmada nesse estudo, embora existam informações sobre sua presença (Wahi *et al.*, 1974).

A ocorrência de luteolina em *Justicia* (Gibbs, 1974) e C-glicoflavonas em *J. pectoralis* (Joseph *et al.*, 1988) não foi evidenciada em *J. pectoralis*. Por outro lado, O-glicosídeos de quercetina e campferol identificados nessa espécie, não foram reportados na literatura consultada. Nair *et al.* (1965) mencionaram as flavonas como agliconas características de Acanthaceae. Também reportaram luteolina nos extratos brutos e hidrolisados de *J. gendarussa*, flavona esta não identificada no material estudado. Os flavonóides de *J. gendarussa* resistiram a todas as tentativas de hidrólise, não havendo diferenças entre os cromatogramas e os espectros de ultravioleta dos extratos brutos e dos mesmos após hidrólise. Os espectros de ultravioleta sugeriram a presença de flavonas C-glicosiladas.

A presença de diferentes tipos de triterpenóides e esteróides em *J. gendarussa* é contraditória. Apenas o  $\beta$ -sitosterol, identificado neste estudo, é apontado pela maioria dos autores (Govindachari *et al.*, 1969; Wahi *et al.*, 1974; Chakravarty *et al.*, 1982), inclusive ocorrendo em outras espécies do gênero (Olaniyi, 1980; Domíniguez *et al.*, 1990). Os triterpenos lupeol e friedelina, referidos na literatura para *J. gendarussa* (Chakravarty *et al.*, 1982), não foram detectados no presente estudo. Como não há referências sobre a composição de triterpenos e esteróides em *J. pectoralis*, estigmasterol,  $\beta$ -amirina e  $\beta$ -sitosterol são aqui referidos pela primeira vez para essa espécie.

## CONCLUSÃO

A presença majoritária de cumarinas no infuso foliar de *J. pectoralis* reforça o uso popular dessa espécie como analgésica e antiinflamatória.

Os flavonóides detectados em *J. pectoralis*, embora possuam tais propriedades, ainda precisam ser ensaiados em laboratório para a confirmação de sua bioatividade. Quanto a *J. gendarussa*, devido a carência de estudos químicos e farmacológicos, nenhum constituinte bioativo tem sido sugerido para a espécie. A presença majoritária de flavonóides C-glicosilados no infuso foliar de *J. gendarussa* no entanto, pode vir a ser um bom indício de possíveis princípios ativos da espécie.

## AGRADECIMENTO

Os autores agradecem o auxílio da Dr<sup>a</sup>. Sheila Regina Proficie do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Brasil) pela identificação das espécies, ao Prof. Dr. Antonio Salatino do Departamento de Botânica-IBUSP pela permissão no uso do CG-EM e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- CHAKRAVARTY, A.K., DASTIDAR, P.P.G., PAKRASHI, S.C. Simple aromatic amines from *Justicia gendarussa*. C<sup>13</sup>NMR spectra of the bases and their analogues. *Tetrahedron*, v.38, p.1797-802, 1982.
- BARROS, R.F.M., ANDRADE, L.H.C., DA SILVA, N.H. Coumarin concentration in leaves of *Justicia pectoralis* var. *stenophylla* Leonard with different pigmentation. *Phyton*, v.60, p.141-45, 1997.
- DE VRIES J.X. TAUCHER, B., WURZEL, G. Constituents of *Justicia pectoralis* Jacq. 2. Gas chromatography/mass spectrometry of simple coumarins, 3-phenylpropionic acids and their hydroxy and methoxy derivatives. *Biomedical and Environmental Mass Spectrometry*, v.15, p.413-7, 1988.
- DOMÍNIGUEZ, X.A., ACHENBACH, H., GONZALES, C.C., FERRE-D'AMARE, A.R. Chemical study of "mutle" (*Justicia spicigera*). *Revista Latinoamericana de Química*, v.21, p.142-3, 1990.
- DUKE, J.A. *Handbook of medicinal herbs*. Florida: CRC Press, 1987. 677p.
- GIBBS, R.D. *Chemotaxonomy of Flowering Plants*. Montreal: McGill-Queens's University Press, 1974. v.3, 1274-980.
- GOVINDACHARI, T.R., JADHAV, S.J., JOSHI, B.S. Chemical investigation of some indian plants: Part IV. *Indian Journal of Chemistry*, v.7, p.308-10, 1969.
- HARBORNE, J.B. *Phytochemical Methods*. 3.ed. London: Kluwer Academic Publishers, 1998. 320p.
- JOSEPH, H., GLEYE, J., MOULIS, C., FOURASTE, I., STANISLAS, E. O-methoxilated C-glycosylflavones from *Justicia pectoralis*. *Journal of Natural Products*, v.51, p.804-5, 1988.

- KOH, M.S., WILLOUGHBY, D.A.A. Comparison of coumarins and levamisole parameters of the inflammatory response. **Agents Actions**, v.9, p.284-8, 1979.
- LEAL, L.K.A.M. FERREIRA, A.A.G., BEZERRA, G.A., MATOS, F.J.A., VIANA, G.S.B. Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v.70, p.151-9, 2000.
- LINO, C.S., TAVEIRA, M.L., VIANA, G.S.B., MATOS, F.J.A. Analgesic and antiinflammatory activities of *Justicia pectoralis* Jacq. and its main constituents: coumarin and umbelliferone. **Phytotherapy Research**, v.11, p.211-5, 1997.
- MABRY, T.J., AMRKHAM, K.R., THOMAS, M.B. **The systematic identification of flavonoids**. Berlin: Springer-Verlag, 1970, 354p.
- MACRAE, W.D., TOWERS, G.H.N. *Justicia pectoralis*: a study of the basis for its use as a Hallucinogenic snuff ingredient. **Journal of Ethnopharmacology**, v.12, p.93-111, 1984.
- MARKHAN, K.R.P. **Techniques of Flavonoid Identification**. London: Academic Press, 1982. 113p.
- MELO, R.F., ANDRADE, L.H.C. Contribuição ao estudo farmacognóstico do **chambá** *Justicia pectoralis* Jacq (Acanthaceae). **Biologica Brasilica**, v.1, p.195-207, 1989.
- MILLS, J., PASCOE, K.O., CHAMBERS, J., MELVILLE, G.N. Preliminary investigations of the wound-healing properties of a Jamaica folk medicinal plant (*Justicia pectoralis*). **West Indian Medical Journal**, v.35, p.190-3, 1986.
- MURRAY, R.D.H., MÉNDEZ, J., BROWN, S.A. **The Natural Coumarins: occurrence, chemistry and biochemistry**. Chinchester: John Wiley & Sons, 1982. 702p.
- NAIR, A.G.R., NAGARAJAN, S., SUBRAMANIAN, S.S. Luteolin as a characteristic flavone of Acanthaceae. **Current Science**, v.34, p.79-80, 1965.
- OLANIYI, A.A. *Justicia flava* Vahl: studies on the petroleum ether extract of the leaves, steams and roots. **Niger Journal Pharmacology**, v.11, p.133-4, 1980.
- OLIVEIRA, A.F.M. **Caracterização de Acanthaceae medicinais conhecidas como anador no nordeste do Brasil**. Recife, 1995. 125p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco.
- PRANCE, G.T. An ethnobotanical comparison of four tribes of amazonian indians. **Acta Amazonica**, v.2, p.7-28, 1972a.
- PRANCE, G.T. Ethnobotanical notes from Amazonian Brasil. **Economic Botany**, v.26, p.221-37, 1972b.
- SCHULTES, R.E. Evolution of the identification of the Myristicaceous hallucinogens of South America. **Journal of Ethnopharmacology**, v.1, p.211-39, 1979.
- SCHULTES, R.E. De plants toxicaris and mundo novo tropicale commentations XXXVI. *Justicia* (Acanthaceae) as a source of an hallucinogenic snuff. **Economic Botany**, v.44, p.61-70, 1990.
- WAGNER, H., BLADT, S. **Plant drug analysis : A thin layer chromatography atlas**. 2 ed. Berlim: Springer-Verlag, 1996. 384p.
- WAHI, S.P., WAHI, A.K., KAPOOR, R. Chemical study of the leaf of *Justicia gendarussa* Burm. **Journal Research Indian Medical**, v.9, p.65-6, 1974.