

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

Bárbara Augusta Fraporti Rostignoli

Avaliação fitoquímica e da atividade antioxidante de *Equisetum giganteum* e *Tagetes minuta*.

Santa Maria,RS
2019

Bárbara Augusta Fraporti Rostignoli

Avaliação fitoquímica e da atividade antioxidante de *Equisetum giganteum* e *Tagetes minuta*.

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao curso de química, na área de orgânica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS). Como requisito parcial para obtenção do grau de **Bacharel em Química**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ionara Irion Dalcol

Santa Maria, RS
2019

Bárbara Augusta Fraporti Rostignoli

Avaliação fitoquímica e da atividade antioxidante de *Equisetum giganteum* e *Tagetes minuta*.

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao curso de química, na área de orgânica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS). Como requisito parcial para obtenção do grau de **Bacharel em Química**.

Aprovado em 25 de Dezembro de 2019

Comissão examinadora:

Ionara Irion Dalcol, Dr^a (UFSM)
Presidente/Orientadora

Frederico Luiz Reis, Ms. (UFSM)

Santa Maria, RS
2019

AGRADECIMENTOS

A minha família, meu pai, minha mãe e minha dinda, porque sem eles nada disso seria possível.

A Prof^a Ionara Dalcol, pela orientação, confiança, conhecimento e principalmente pela paciência.

Aos colegas do laboratório de produtos naturais, pela ajuda e pelos testes de atividade antioxidante.

Ao Frederico pela ajuda e paciência no dia a dia.

Aos professores do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, por todo o conhecimento.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

RESUMO

Avaliação fitoquímica e da atividade antioxidante de *Equisetum giganteum* e *Tagetes minuta*.

Autora: Bárbara Augusta Fraporti Rostignoli

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ionara Irion Dalcol

O óleo essencial da planta nativa do sul do Brasil *Tagetes minuta*, foi obtido no presente trabalho através de hidrodestilação e analisado quanto a sua composição química e quanto a seu potencial antioxidante. Juntamente com o óleo essencial, obteve-se também um extrato aquoso, que foi particionado por extração líquido-líquido com acetato de etila. O óleo da espécie foi submetido a um procedimento cromatográfico visando a identificação de seus constituintes, a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). Este óleo essencial apresentou em sua constituição 84% de diidrotagetona, composto este que deverá ser utilizado futuramente para continuidade dos estudos quanto a sua atividade biológica e para a obtenção de derivados ativos. Com a Fração AcOEt foi realizada um fracionamento em coluna cromatográfica. As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando padrões conhecidos indicaram a presença do flavonóide quercitina e do fitoesteroide sitosterol. Os ensaios de avaliação da atividade antioxidante foram realizados pelo método DPPH, que é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes. A fração AcOEt de *Tagetes minuta* apresentou elevada atividade antioxidante. As partes aéreas da planta *Equisetum giganteum* coletada no sul do Brasil foram secas em uma estufa a uma temperatura de 40° C. Em seguida a planta moída foi submetida a extração com metanol. A extração foi realizada em cinco ciclos de 12 horas. Após cada ciclo, o material foi filtrado e o solvente evaporado até a secura. Os extratos obtidos em cada ciclo foram reunidos, sendo o extrato bruto resultante suspenso em água e éter etílico, em um funil de separação. Após foi feita a extração ácido-base. Tal como descrito com *T. Minuta*, o extrato bruto de *E. giganteum* e suas frações (Fração éter ácida e frações F. Éter e F. AcOEt básicas) resultantes foram sujeitas a aplicação de testes fitoquímicos para a identificação das principais classes de metabólitos secundários presentes, bem como foram submetidos aos ensaios de avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH.

Palavras-chave: *Tagetes minuta*, *Equisetum giganteum*, atividade antioxidante, prospecção fotoquímica.

ABSTRACT

Phytochemical and antioxidant evaluation of *Equisetum giganteum* and *Tagetes minuta*.

Author: Barbara Augusta Fraporti Rostignoli
Advisor: Prof. Dr. Ionara Irion Dalcol

The essential oil of *Tagetes minuta* native from Southern Brazil was obtained through hydrodistillation and analyzed for its chemical composition and antioxidant potential. Along with the essential oil, an aqueous extract was also obtained, which was partitioned by liquid-liquid extraction with ethyl acetate. The oil of the species was submitted to a chromatographic procedure to identify its constituents by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). The essential showed in its constitution 84% of dihydrotagetonone, a compound that should be used in the future to continue studies on its biological activity and to obtain active derivatives. With the AcOEt Fraction, a chromatographic column separation was performed. Analyses by thin layer chromatography (TLC) of two fractions were indicative of quercetin (a flavonoid) and sitosterol (a phytosteroid) presence. Antioxidant activity assays were performed by the DPPH method, which is based on the capture of the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical by antioxidants. The AcOEt fraction of *Tagetes minuta* showed high antioxidant activity. The aerial parts of *Equisetum giganteum* collected in southern Brazil were dried in a greenhouse at a temperature of 40° C. Then the ground plant was subjected to extraction with methanol. Extraction was performed in five 12-hour cycles. After each cycle, the material was filtered and the solvent evaporated to dryness. The extracts obtained in each cycle were combined and the resulting crude extract suspended in water and ethyl ether in a extraction funnel. After, the acid-base extraction was done. As described with *T. Minuta*, the crude extract of *E. giganteum* and its resulting fractions (Acid ether fraction and F. Ether and F. AcOEt basic fractions) were subjected to phytochemical tests to identify the major classes of secondary metabolites and were submitted to antioxidant activity assays by the DPPH method.

Key-Words: *Tagetes minuta*, *Equisetum giganteum*, antioxidant activity, phytochemical prospecting.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Hierarquia taxonômica da família Asteraceae	13
Tabela 2 - Constituintes do óleo essencial de <i>Tagetes minuta</i> coletada no inverno .	28
Tabela 3 - Perfil cromatográfico (CG) do óleo essencial de <i>Tagetes minuta</i> coletada no inverno (julho de 2019) em Santana do Livramento-RS	30
Tabela 4 - Prospecção fitoquímica de <i>Tagetes minuta</i> e <i>Equisetum giganteum</i>	34
Tabela 5 Resultados dos testes de atividade antioxidante pelo método do DPPH ...	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Tagetes minuta</i>	14
Figura 2 - Exemplos de metabólitos isolados de <i>Tagetes minuta</i>	15
Figura 3 - <i>Equisetum giganteum</i>	16
Figura 4 - Exemplos de metabólitos isolados de <i>Equisetum giganteum</i>	17
Figura 5 Aparelho de Clevenger, utilizado na extração dos óleos essenciais	20
Figura 6 Óleo essencial da <i>Tagetes minuta</i>	21
Figura 7 - Coluna cromatográfica da fração acetato de etila	22
Figura 8 - Representação da redução do radical livre DPPH por um antioxidante....	27
Figura 9 - Principais constituintes do óleo essencial de <i>Tagetes minuta</i> coletada no inverno (julho de 2019) em Santana do Livramento-RS	29
Figura 10 - Extração de <i>Tagetes minuta</i>	31
Figura 11 - Placa cromatográfica de CCD do padrão quercetina e de amostra da F10 da coluna da Fração acetato de etila de <i>T. minuta</i>	32
Figura 12 Placa cromatográfica de CCD do padrão sitosterol e de amostra da F2-3 da coluna da Fração acetato de etila de <i>T. minuta</i>	32
Figura 13 - Extração de <i>Equisetum giganteum</i>	33
Figura 14 - Capacidade antioxidante da fração acetato de etila de <i>T. minuta</i> expressa como IC ₅₀ (µg/mL).....	36

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcOEt: Acetato

AlCl₃: Cloreto de alumínio

CCD: Cromatografia em camada delgada

CG-EM: Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa

DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

FeCl₃: Cloreto ferrico

HCl: Ácido clorídrico

NaOH: Hidróxido de sódio

NH₄OH: Hidróxido de amônio

P/v: peso/volume

Pb: Chumbo

R. : Reação

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	OBJETIVOS	12
2.1	OBJETIVO GERAL:	12
2.2	OBJETIVO ESPECIFICO:.....	12
3.	REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1	AS PLANTAS	13
3.1.1	A família Asteraceae	13
3.1.2	O gênero <i>Tagetes</i>	13
3.1.3	A espécie <i>T. Minuta</i>	13
3.1.4	Metabólitos secundários de <i>Tagetes</i>	14
3.2	FAMÍLIA EQUISETACEAE	15
3.2.1	O gênero Equisetum	15
3.2.2	Espécie <i>E. Giganteum</i>	16
3.2.3	Metabólitos secundários de <i>Equisetum</i>	16
3.3	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	17
4	PARTE EXPERIMENTAL	19
4.1.	MATERIAIS E MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS.....	19
4.2	TAGETES MINUTA.....	19
4.2.1	Obtenção do óleo essencial e do extrato aquoso de <i>Tagetes minuta</i> ... 19	
4.2.1.1	Obtenção do óleo essencial	19
4.2.1.2	Análise do óleo essencial para cromatografia gasosa- espectrometria de massas (CG-EM).....	21
4.2.2	Obtenção do extrato aquoso de <i>Tagetes minuta</i>	22
4.2.2.1	Coluna cromatográfica da fração acetato de etila de <i>Tagetes minuta</i>	22
4.3	EQUISETUM GIGANTEUM	23
4.3.1	Preparação do material vegetal de <i>Equisetum giganteum</i>	23
4.3.2	Obtenção do extrato metanólico e fracionamento	23
4.2	AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA DE TAGETES MINUTA E EQUISETUM GIGANTEUM.....	23
4.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE TAGETES MINUTA E EQUISETUM GIGANTEUM	26
5-	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	28
5.1.	ESTUDO DA TAGETES MINUTA	28
5.2.	ESTUDO DA EQUISETUM GIGANTEUM.....	33
5.3.	PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DE TAGETES MINUTA E EQUISETUM GIGANTUM E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.	34
6-	CONCLUSÃO	37
7-	ANEXOS	38
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas como medicamento está baseada em estudos que partindo do uso tradicional sobre suas propriedades farmacológicas (antiinflamatória, analgésica, antimicrobiana, entre outras) de certos compostos vegetais, indicam o potencial para o desenvolvimento de novos fitoterápicos (SCOPEL, 2005).

Antigamente, os químicos estudavam plantas conhecidas pelo uso popular, geralmente incorporadas às farmacopéias da época, limitando-se ao isolamento e à determinação estrutural de substâncias ativas. Dada a importância das plantas para a medicina da época, a Química e a Medicina passaram a ter uma estreita relação, o que permitiu um rápido desenvolvimento de seus campos específicos (VIEGAS & BOLZANI, 2006).

Tagetes minuta L. (Asteraceae) é uma das plantas utilizadas nesse trabalho por causa de suas propriedades. A atividade do óleo essencial vem sendo pesquisada em diversos campos da química de produtos naturais, devido às suas propriedades bioativas, como aditivo antioxidante natural. Nos Andes, a planta é utilizada na alimentação e em diversas regiões do mundo é utilizada como planta medicinal no alívio de dores de cabeça, repelente, resfriados. (FONSECA, 2018).

O gênero *Equisetum*, pertencente ao filo Sphenophyta, é originário do fim da era paleozoica. São conhecidas aproximadamente 30 espécies. As espécies de *Equisetum* são utilizadas na medicina tradicional principalmente como anti-inflamatório e diurético. É considerada planta terrestre com maior quantidade de sílica, o que explica suas diversas aplicações (MELLO & BUDEL, 2013).

As pesquisas por agentes antioxidantes produzidos por plantas medicinais é um campo que mostra um interesse crescente. Os antioxidantes são substâncias que retardam as reações oxidativas, ou seja, reduzem a velocidade da oxidação, como por exemplo pelo método de inibição de radicais livres. Um dos métodos utilizados para o estudo de atividade antioxidante é o do Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), muito utilizado para se determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas como: compostos fenólicos, flavonóis, cumarinas, antocianinas, entre outros (CHOI et al., 2002).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

A investigação fitoquímica das plantas medicinais *Equisetum giganteum* e *Tagetes minuta*.

2.2 OBJETIVO ESPECIFICO:

- A obtenção dos extratos e frações de *E. giganteum* e *T. minuta*.
- A realização da prospecção fitoquímica dos extratos e frações de *Equisetum giganteum* e *Tagetes minuta*.
- A obtenção do óleo essencial de *Tagetes minuta* coletada no inverno em Santana do Livramento,RS.
- A avaliação das atividades antioxidantes pelo método do radical livre DPPH dos extratos e frações de *Equisetum giganteum* e *Tagetes minuta* e do óleo essencial de *Tagetes minuta*.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 AS PLANTAS

3.1.1 A família Asteraceae

A família Asteraceae é cosmopolita, contando com aproximadamente 1.100 gêneros e aproximadamente 25.000 espécies, encontradas em regiões tropicais, sendo mais abundantes nas regiões abertas e áridas do que nas florestas tropicais úmidas. No Brasil, está representada por cerca de 180 gêneros, que em sua grande maioria são constituídos de plantas herbáceas, anuais ou perenes, subarbustivas ou arbustivas e raramente arbóreas (HEEMANN, 2004).

A família Asteraceae está organizada na seguinte posição taxonômica:

Tabela 1- Hierarquia taxonômica da família Asteraceae

Níveis	Hierarquia Taxonômica
Classe	<i>Equisetopsida</i> C. Agardh
Subclasse	<i>Magnoliidae</i> Novák ex Takht
Superordem	<i>Asteranae</i> Takht
Ordem	<i>Asterales</i> Link
Família	<i>Asteraceae</i> Bercht. & J. Presl

Fonte: Ministério da Saúde e Anvisa, 2015.

3.1.2 O gênero *Tagetes*

O gênero *Tagetes* pertence a família das Asteraceae, tendo sua origem no México e introduzida no Brasil há muitos anos, onde se adaptaram. Esse gênero tem propriedades biológicas, incluindo atividades contra bactérias, vírus, fungos, ácaros e insetos (Ministério da Saúde e Anvisa, 2015).

3.1.3 A espécie *T. Minuta*

A espécie *Tagetes minuta* (Figura 1) faz referência ao tamanho das flores e não da planta, que pode alcançar até 2 metros de altura.

No Brasil é vulgarmente conhecida como “cravo de defunto”, “erva-fedorenta”,

“rosa-de-lobo”, “voadeira”; “chinchilla” sendo utilizada na medicina popular principalmente como antifúngico, anti-helmíntico, antisséptico, calmante, laxativo, inseticida, repelente, no tratamento de reumatismo, resfriado, e como sudorífico.

Tagetes minuta é uma planta reproduzida por semente, na Região Sul do Brasil. Ocorre em terrenos secos e desenvolve-se melhor naqueles cultivados, com boa fertilidade (OLIVEIRA,2012).

Figura 1 - *Tagetes minuta*



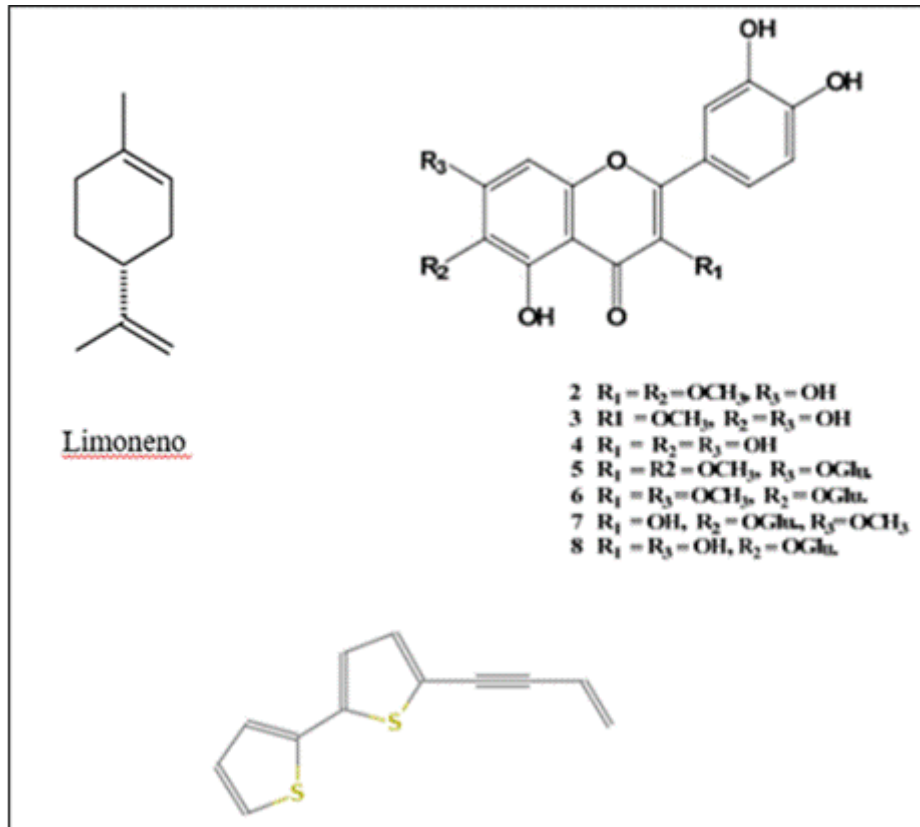
Fonte: Professor Ademir Morel (2019)

3.1.4 Metabólitos secundários de *Tagetes*

A composição química dos óleos essenciais pode variar pela influência de diversos fatores como, por exemplo, a época de coleta, técnica de extração utilizada, as condições climáticas e de solo. Esses compostos são constituídos, principalmente, por terpenos, fenilpropanóides, ésteres e outras substâncias de baixo peso molecular (TEIXEIRA, 2013). Segundo a monografia de *T. minuta* publicada pelo Ministério da Saúde e Anvisa em 2015, de seu extrato alcoólico foram isolados vários derivados de flavonoides e tiofenos, observados em *T. minuta* desde a década de 1960 (Figura 2). O limoneno, 4-isoprenil-1-metil-ciclo-hexeno com

fórmula molecular $C_{10}H_{16}$, é um monoterpreno monocíclico presente na composição dos óleos essenciais de diversas espécies de plantas aromáticas, como por exemplo na planta *Tagetes minuta*, além de ser encontrado nos óleos essenciais dos cítricos como limão, laranja e tangerina (TEIXEIRA, 2013).

Figura 2 - Exemplos de metabólitos isolados de *Tagetes minuta*



Fonte: Ministério da Saúde e Anvisa, 2015

3.2 FAMÍLIA EQUISETACEAE

3.2.1 O gênero Equisetum

O gênero *Equisetum*, pertencente ao filo Sphenophyta, é originário do fim da era paleozoica, cerca de 300 milhões de anos atrás. É o único gênero não extinto da classe Equisetopsida, e pode ser o gênero mais antigo não extinto da terra. São conhecidas aproximadamente 30 espécies, a maioria constituída de plantas pequenas, que raramente atingem um metro de altura. São uniformemente distribuídas no mundo e acredita-se que sua datação fóssil seja anterior a deriva dos

continentes e isso explicaria a sua alta adaptação a diferentes climas. Espécies de *Equisetum* são utilizadas na medicina tradicional principalmente como anti-inflamatório e diurético. É considerada planta terrestre com maior quantidade de sílica, o que explica suas diversas aplicações (MELLO & BUDEL, 2013).

3.2.2.1 Espécie *E. Giganteum*

No Brasil se encontra a espécie *Equisetum giganteum* (Figura 3), nativa de áreas pantanosas de todo o país. Esta espécie, conhecida localmente como "cavalinha", é uma espécie da flora nativa do Paraguai em risco de extinção, motivo pelo qual é importante que sejam estabelecidas medidas para sua conservação (ACHUCARRO *et al.*, 2019).

Figura 3 - *Equisetum giganteum*



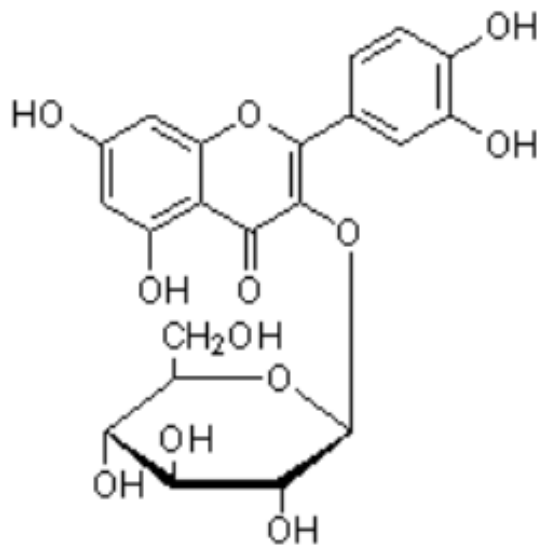
Fonte: Prof Ademir farias Morel (2019)

3.2.3 Metabólitos secundários de *Equisetum*

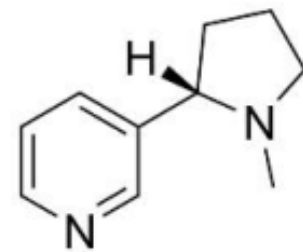
Espécies de *Equisetum* são utilizadas na medicina tradicional principalmente como diurético. É considerada a planta terrestre com maior quantidade de sílica.

A planta *E. giganteum* é uma erva que mede 1 a 2 m de altura, cujas hastes são divididas em nós. Dentre os metabólitos secundários produzidos pela espécie encontram-se flavonoides como a isoquercitrina, alcaloides e saponinas (Figura 4). Também são encontrados sais de potássio, magnésio, cálcio, fósforo, sódio, flúor e alumínio, apresentando mais de 10% dos constituintes inorgânicos (MELLO & BUDEL, 2013).

Figura 4 - Exemplos de metabólitos isolados de *Equisetum giganteum*



Isoquercitrina



Nicotina

Fonte: MELLO e BUDEL, 2013.

3.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Todas as plantas contêm uma variedade de moléculas de eliminação de radicais livres, como por exemplo, flavonóides, antocianinas, vitaminas e metabólitos endógenos. Demonstrou-se que esses antioxidantes derivados de plantas funcionam como inibidores de oxigênio, decompositores de peróxido, inibidores de enzimas, por isto as pesquisas por antioxidantes de origem natural são muito importantes.

Existem evidências de que os radicais livres induzem danos oxidativos às

biomoléculas (lipídios, proteínas e ácidos nucléicos), danos que podem causar aterosclerose, envelhecimento, câncer, diabetes mellitus, inflamação, AIDS entre outras doenças degenerativas em seres humanos (CHOI *et al.*, 2002).

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1. MATERIAIS E MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Todos os solventes utilizados foram de qualidade p.a.

Para a realização da coluna cromatográfica (CC) foi utilizada sílica gel, para a cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizada placas cromatofolhas de alumínio, para a cromatografia em placa preparativa (CCDP) foi utilizada sílica gel (Sorbent).

Como reveladores cromatográficos foram utilizados a lâmpada ultravioleta ($\lambda=254$ e 365 nm) e os reativos cloreto férrico 1 % (FeCl_3) em etanol, anisaldeído em ácido sulfúrico e ácido acético seguido de aquecimento.

4.2 TAGETES MINUTA

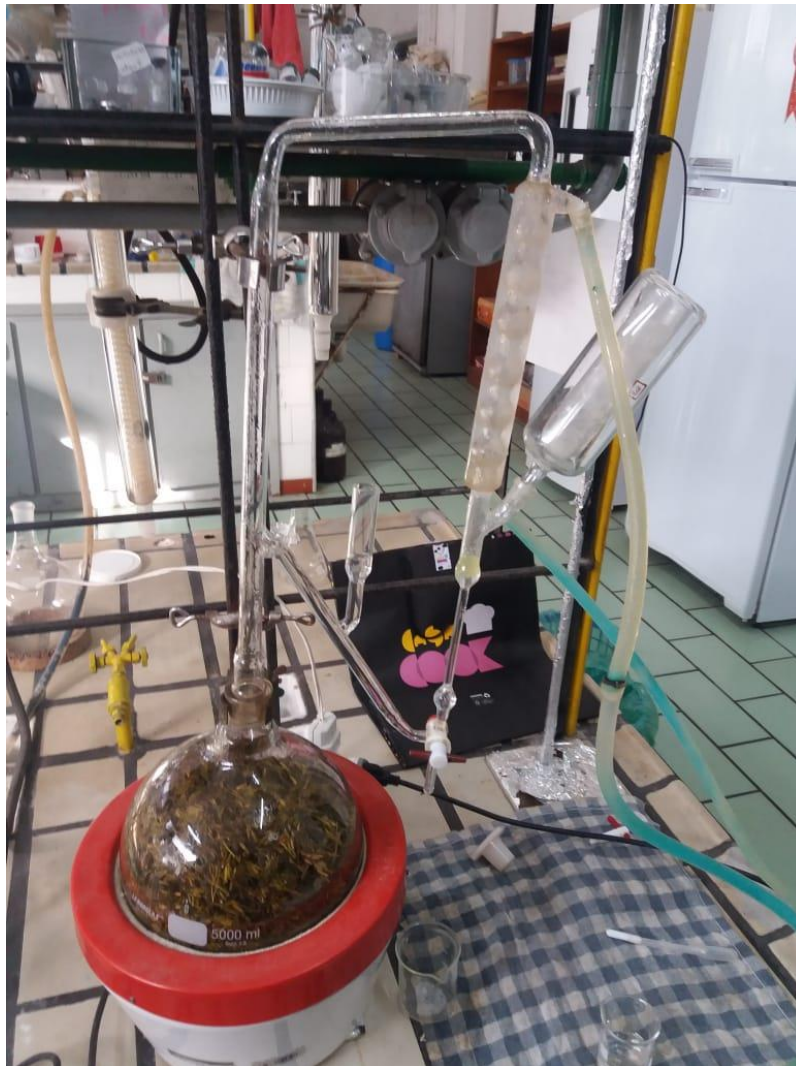
A espécie *Tagetes minuta*. foi coletada no município de Santanna do Livramento, Rio Grande do Sul/BR, no mês de julho de 2019. O material vegetal foi identificado pelo professora Dr^a. Thaís Scotti Canto Dorrow e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Maria sob nº SMDB 13711.

4.2.1 Obtenção do óleo essencial e do extrato aquoso de *Tagetes minuta*

4.2.1.1 *Obtenção do óleo essencial*

A extração do óleo essencial presente na planta em estudo foi realizada por hidrodestilação empregando-se um aparelho de Clevenger (Figura 5), onde a amostra fica imersa na água em um balão de fundo redondo de 2 litros.

Figura 5 - Aparelho de Clevenger, utilizado na extração dos óleos essenciais



Fonte: Autora (2019)

Em sequência, foi colocado em aquecimento o balão através de uma manta térmica, deixando destilar por 8 horas. Ao final do ensaio, o óleo essencial obtido (Figura 6) foi seco com sulfato de sódio, filtrado e guardado em frasco protegido da luz sob refrigeração a 4 °C, obtendo-se assim o respectivo óleo essencial.

Figura 6 - Óleo essencial da *Tagetes minuta*



Fonte: Autora (2019)

4.2.1.2 Análise do óleo essencial para cromatografia gasosa- espectrometria de massas (CG-EM)

A análise por cromatografia gasosa - espectrometria de massa (CG-EM) foi realizada em um sistema Shimadzu GC2010 Plus, compreendendo um modelo de autoinjeter AOC-5000 Plus e um modelo de detector de massa QP2110 Ultra, usando uma coluna capilar de sílica fundida Restek Rtx®-5MS (30 mx 0,25 mm id; espessura do filme de 0,25 μm). As condições cromatográficas foram: gás portador: hélio a 1,00 mL/ min de vazão; temperatura do forno: inicialmente a 50 ° C e aumentou 4 °C/ min até atingir 290 ° C; temperatura do injetor: 240 °C; modo de injeção: dividido com proporção 1:20 e purga de 3 mL/ min; Temperatura da interface MS: 280 °C; temperatura da fonte de íons: 260 °C; e energia de ionização: 70 eV. Amostras de óleo (15 mg) foram dissolvidas em 1,5 mL de acetato de etila purificado e alíquotas de 1 mL foram injetadas para análise. Os constituintes foram identificados para seus índices de retenção de Kovats (IR) usando como referência uma série de n-alcanos e comparando os dados espectrais de massa com os obtidos por padrões puros (ADAMS, 2009) e os armazenados nos espectros Wiley 8 e NIST11. bibliotecas do sistema analítico.

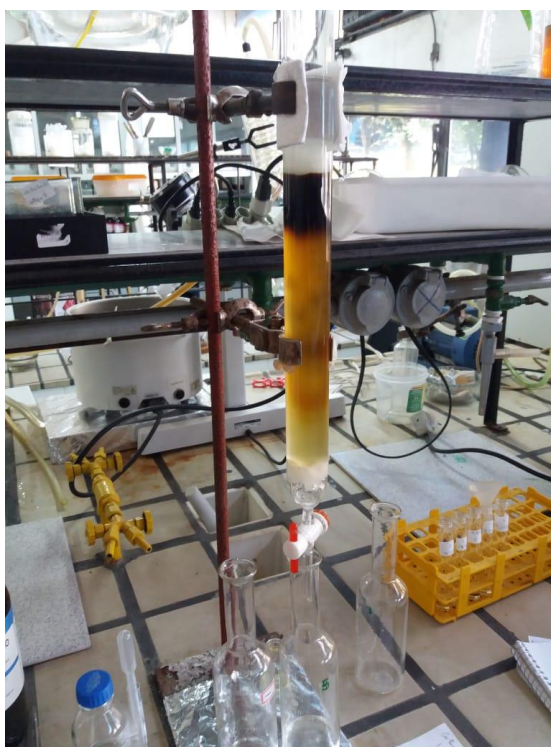
4.2.2 Obtenção do extrato aquoso de *Tagetes minuta*

No mesmo processo de obtenção do óleo essencial de *Tagetes minuta*, foi também obtido seu extrato aquoso. Este extrato aquoso foi extraído em ampola de extração com acetato de etila (5 vezes de 200 ml de acetato de etila cada vez). A fração orgânica foi seca com sulfato de magnésio e o solvente evaporado até a secura para a obtenção de 1,671 g de fração acetato de etila de *Tagetes minuta*.

4.2.1.2 Coluna cromatográfica da fração acetato de etila de *Tagetes minuta*

A fração acetato de etila de *T. minuta* foi submetida a um processo de separação cromatográfica em coluna de sílica gel (Figura 7), utilizando-se como sistema eluente diclorometano-acetato de etila e metanol, aplicados em gradiente de polaridade.

Figura 7 - Coluna cromatográfica da fração acetato de etila



Fonte: Autora. (2019)

4.3 EQUISETUM GIGANTEUM

4.3.1 Preparação do material vegetal de *Equisetum giganteum*

A espécie *Equisetum giganteum* foi coletada no município de Santanna do Livramento, Rio Grande do Sul/BR, no mês de junho de 2019. O material vegetal foi identificado pelo professor Dr. Renato Zacchia e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Maria.

A planta coletada foi seca em uma estufa de aproximadamente 40°C, após foi moído a fino grão em moinho Wiley.

4.3.2 Obtenção do extrato metanólico e fracionamento

As partes aéreas de *E. giganteum* moídas, totalizando 252,95 g, foram submetidas à extração com metanol (aproximadamente 3 litros) a temperatura ambiente (20°C/ 25 °C), em cinco ciclos de 12 horas cada. Após cada ciclo o material foi filtrado e o solvente evaporado até a secura. Os extratos obtidos em cada ciclo foram reunidos, sendo o extrato bruto resultante suspenso em água e éter etílico, em um funil de separação. Acidificou-se a suspensão com HCl 2M a pH aproximado de 2. Obteveram-se duas frações, a Fração éter ácida e a fase aquosa. A fração éter ácida (3,15 g) foi seca sob sulfato de magnésio e após foi evaporado o solvente. A fração aquosa foi alcalinizada com NH₄OH até pH 9, sendo então realizada uma segunda extração desta fase aquosa básica com éter etílico, seguido de acetato de etila. Assim, obtiveram-se as frações Fração éter básica e a Fração AcOEt básica. A fração éter básica foi seca com sulfato de magnésio e após foi evaporado o solvente, resultando no extrato fração éter básica 0, 12 g.

4.2 AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA DE *TAGETES MINUTA* E *EQUISETUM GIGANTEUM*

A prospecção fitoquímica dos extratos e frações de *Tagetes minuta* e *Equisetum giganteum* foi realizada a partir de testes qualitativos com o objetivo de se identificar a presença de classes de substâncias determinadas.

Sendo assim, foram utilizados reagentes específicos visando a identificação das principais classes de metabólitos secundários. Também foram realizadas análises por CCD com revelação através de lâmpadas UV a 254 e 365 nm. Foram realizados testes qualitativos para identificação de alcaloides, esteroides / triterpenos, fenóis / taninos, cumarinas, flavonoídes, taninos, antraquinonas, anticianinas e saponinas.

Todos os ensaios foram realizados em placa de porcelana de 12 poços, tubos de ensaio e/ou cromatoplasmas de sílica gel. Os extratos foram dissolvidos em metanol ou água, em uma concentração entre 1-5 % (p/v). Todos os testes foram comparados sempre com o branco do extrato.

- Alcaloides:

Uma gota do extrato ou fração a ser analisada foi adicionada em um dos poços da placa de porcelana. A seguir, foram adicionadas 2 gotas do ácido clorídrico a 1% e 2 gotas do reagente revelador de alcaloides: Reagente de Dragendorff (*Iodo bismutato de potássio*) ou Reagente de Wagner (*Iodo-iodeto de potássio*).

Resultado positivo se obtém quando ocorre precipitado na cor laranja para o reagente de Dragendorff e precipitado alaranjado com o reagente de Wagner.

- Esteroides e Triterpenos:

Foi realizado o teste de Liberman-Bouchard, sendo adicionada 1 gota do extrato ou fração a ser analisado no poço da placa de porcelana, seguido de 2 gotas de clorofórmio e 2 gotas de anidrido acético. Em seguida adicionou-se cuidadosamente 1 gota de ácido sulfúrico concentrado.

Resultado positivo: coloração rósea ou azul esverdeada indica presença de esteroide;

Coloração der vermelha, púrpura ou violeta indica presença de triterpenos.

- Fenóis e Taninos:

Em um dos poços da placa de porcelana foi colocado o branco e em outro poço foi adicionado 1 gota da amostra a ser analisada (extrato ou fração). Sob a amostra foram adicionadas duas gotas de solução de cloreto ferrico (FeCl_3) a 2%, observando-se se houve alteração visual na mistura reacional.

O resultado positivo do teste se dá pelo desenvolvimento de coloração verde a

marrom ou formação de precipitado.

- Cumarinas:

Os testes para cumarinas foram realizados em CCD, sendo aplicada a amostra em uma cromatoplaça de sílica gel eluída com éter etílico como fase móvel, e após reveladas em câmara de UV.

Resultado positivo ocorre quando a manchas com fluorescência azul.

- Flavonoides:

Para a identificação de flavonoides foram realizados dois testes distintos. No teste de Shinoda, adicionou-se 1 gota de extrato ou fração a ser analisado, seguido de duas gotas de HCl concentrado e um fragmento de magnésio. Observa-se o resultado positivo quando se dá pelo desenvolvimento de coloração rosa-avermelhada e liberação de H₂.

A reação com cloreto de alumínio foi realizada sob uma tira de papel de filtro-umedecida com duas gotas (em regiões diferentes do papel) de extrato ou fração a ser analisada. Uma das gotas foi utilizada como branco e, sob a outra gota, foi adicionada uma gota de solução de cloreto de alumínio (AlCl₃) a 5%. O resultado positivo se dá pela observação de intensificação de fluorescência com mudança de cor para verde amarelo.

-Taninos:

Para a pesquisa de taninos foram realizadas três reações distintas. Na primeira reação foi adicionou-se uma gota do extrato ou fração a ser analisada, seguida de 1 gota de solução de HCl a 2% e duas gotas de uma solução de gelatina a 2,5%. Esta reação foi feita e microtubos de ensaio. O resultado positivo se dá a formação de precipitado.

Na segunda reação, sob uma gota do extrato ou fração a ser analisada adicionou-se 2 gotas de ácido acético 10% e em seguida 2 gotas de uma solução saturada de acetato de chumbo. O aparecimento de precipitado identifica taninos totais.

Na terceira reação, também realizada em placa de porcelana com 1 gota do extrato ou fração a ser analisada, adicionou-se 1 gota de HCl concentrado e 2 gotas de solução de vanilina a 1% em metanol. A reação positiva é indicada pelo

aparecimento de coloração vermelha.

- Antraquinonas:

A amostra foi colocada em um dos poços da placa de porcelana. Sob a amostra foram adicionadas duas gotas de hidróxido de amônio. Na reação ocorrerá a ionização das hidroxilas fenólicas para fenolatos hidrossolúveis. A reação é positiva quando aparece coloração rósea ou avermelhada.

- Antocianinas:

Foi colocada uma gota do extrato ou fração a ser analisada em cada um de três poços da placa de porcelana. O primeiro poço foi considerado o branco; ao segundo poço adicionaram-se 3 gotas de solução de NaOH 10% até pH 10 e ao terceiro poço adicionaram-se 3 gotas de ácido sulfúrico 1N até pH 1. A presença de antocianinas é observada pelo aparecimento de coloração que variam de acordo com o pH do meio.

- Saponinas:

Esta reação foi feita em microtubos de ensaio. O primeiro microtubo foi considerado o branco; ao segundo adicionaram-se 3 gotas de solução de NaOH 10% até pH 10 e ao terceiro microtubo adicionaram-se 3 gotas de ácido sulfúrico 1N até pH 1. Os tubos contendo as soluções foram agitados energeticamente por 5 minutos. Após mediu-se a altura da espuma formada em cada tubo. A presença de espuma persistente indica a presença de saponinas.

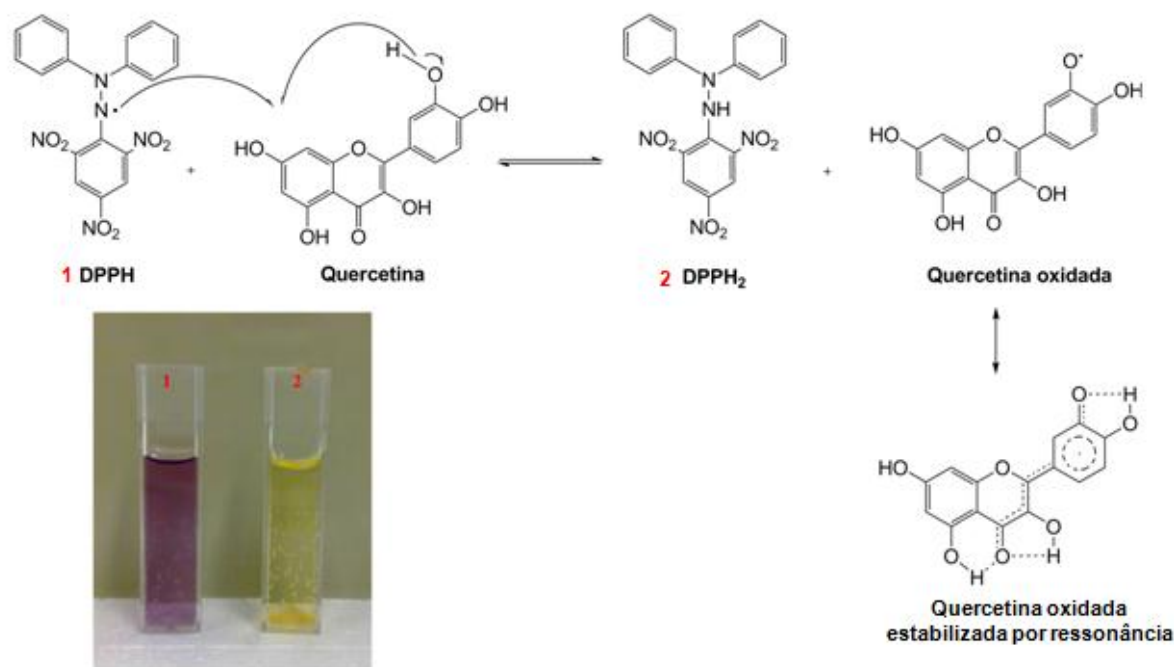
4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE TAGETES MINUTA E EQUISETUM GIGANTEUM

O método utilizado se baseia na transferência de elétrons, sendo conhecido como o método do DPPH. Neste método, o DPPH que possui cor púrpura é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determinou-se a porcentagem de

atividade antioxidante dos extratos / frações analisadas.

O ensaio foi realizado em microplacas de 96 poços. Uma solução-mãe de cada amostra (extrato ou fração) foi diluída em metanol para concentrações finais nos poços de 1000, 500, 250, 100, 50 e 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Em cada poço foram adicionados 100 μL de MeOH, 100 μL da solução de extrato ou fração e 100 μL de DPPH. Foram realizados em paralelo testes somente com a amostra e somente com solvente como branco. As placas foram deixadas a temperatura ambiente por 30 minutos. Após este período, foram medidas as absorvâncias a 518 nm e os valores obtidos convertidos em porcentagem de atividade antioxidante, usando a seguinte equação: Capacidade de sequestro % = $100 - [(\text{Abs da amostra} - \text{Abs do controle}) \times 100 / \text{Abs do controle}]$. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Figura 8 - Representação da redução do radical livre DPPH por um antioxidante



Fonte: http://qnint.sbg.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=4J4NcOscwSWQozPv_U900znaLVcJT9yuEtosdRR_6-OUaLje9-uzD1r0zo9HWIFqxKcELr89FjeGeQhTJYPGT2Q (acessado em 16/11/2019)

5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1. ESTUDO DA TAGETES MINUTA

A *T. minuta* foi escolhida para este estudo neste trabalho por ser muito comum no RS e por ser uma espécie utilizada popularmente como medicinal e muito aromática. Foi utilizada 626,2 g da planta (partes aéreas), coletada em Santana do Livramento-RS no inverno. Esta planta havia sido estudada por OLIVEIRA (2012), sendo na ocasião coletada na primavera. No presente trabalho realizou-se a coleta do material no mesmo local descrito por OLIVEIRA (2012), em solo pobre em nutrientes, isto é, campos esgotados pela cultura ou entre eucaliptos, o que limita o crescimento da planta (entre 20-30 cm).

No óleo obtido por Oliveira (2012), observou-se a presença de onze constituintes, sendo os majoritários diidrotagetona (57,15%), tagetona E (9,89%), β -ocimeno (6,63%), óxido de cariofileno (5,39%). No mesmo local de coleta, mas em outra estação do ano (inverno), observou-se um perfil cromatográfico do óleo essencial de *T. minuta* marcadamente diferente (Figura 9 e Tabela 2).

Tabela 2 - Constituintes do óleo essencial de *Tagetes minuta* coletada no inverno

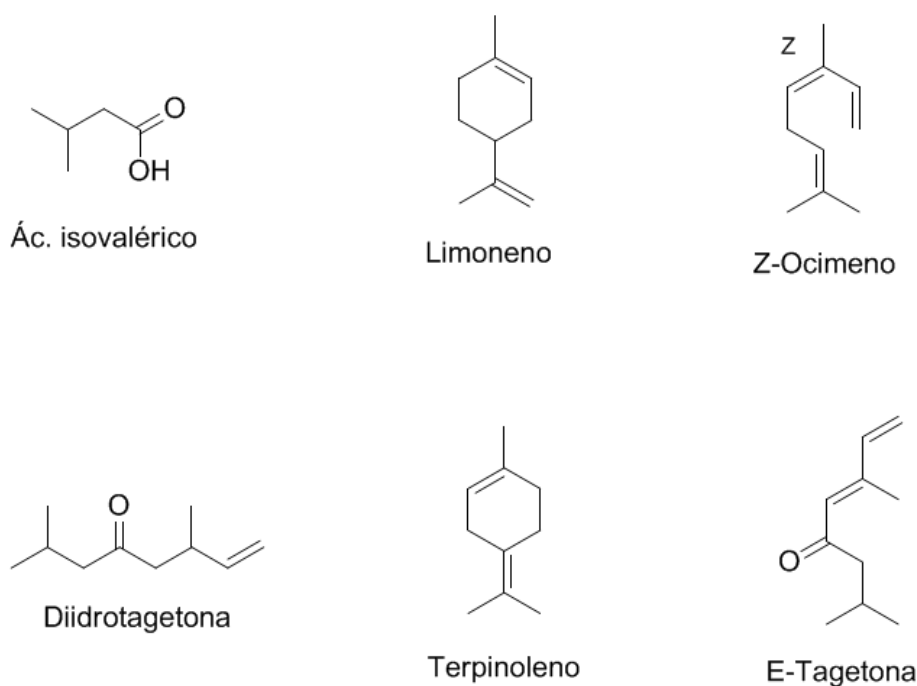
Pico	Componente	IK <u>calc</u>	IK lit ^a	% no OE	Identificação ^b
<u>1</u>	<u>ácido isovalérico</u>	821	827	1,85	CG-EM
<u>2</u>	<u>Limoneno</u>	1024	1024	3,37	CG-EM
<u>3</u>	<u>(Z)-β-Ocimeno</u>	1032	1032	1,55	CG-EM
<u>4</u>	<u>diidrotagetona</u>	1047	1046	84,00	CG-EM
<u>5</u>	<u>α-Terpinoleno</u>	1073	-	2,91	c
<u>6</u>	N.I.	1094	-	1,43	-
<u>7</u>	<u>(E)-Tagetona</u>	1141	1139	1,97	CG-EM
<u>8</u>	N.I.	1599	-	2,92	-
Total				100,00	
Total identificado				92,74	

N.I. Não identificado.

Fonte: ADAMS, R., 2017; ^b CG-EM: cromatografia gasosa-espectrometria de massas; em Comparação com OLIVEIRA, C.Q. 2012.

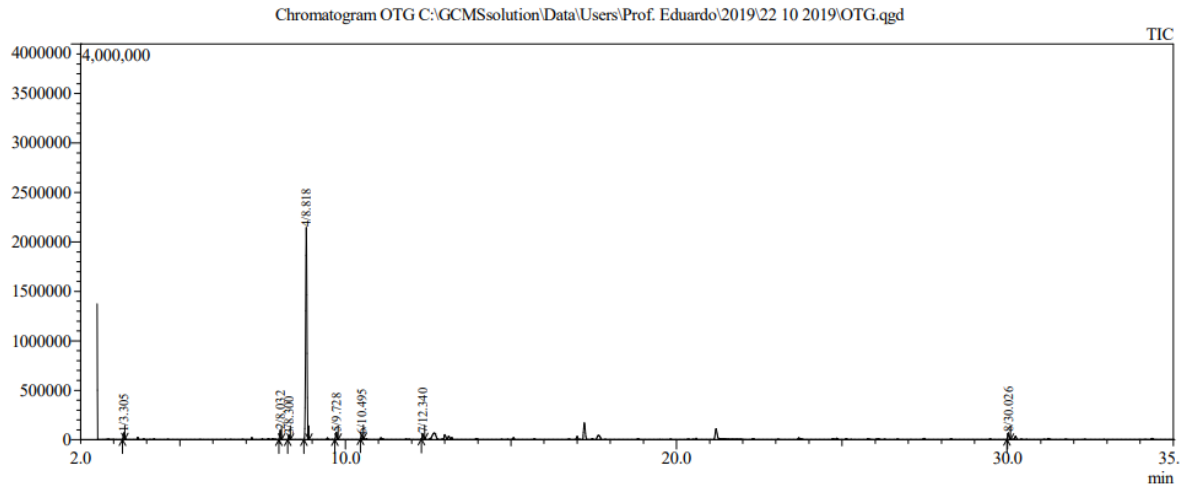
A diidrotagetona também foi o componente majoritário do óleo essencial oriundo da planta coletada no inverno, tal como no trabalho de Oliveira (2012). Entretanto, no óleo essencial obtido no presente trabalho, o conteúdo de diidrotagetona foi significativamente maior, pois este metabólito constituiu 84% do óleo essencial da planta coletada no inverno, sendo considerado o único constituinte majoritário, uma vez que os demais constituintes do óleo essencial do inverno se apresentaram em percentuais abaixo de 4%. Esta diferença na constituição dos óleos de *T. minuta* coletados em diferentes estações do ano era esperado, pois a produção de óleo essencial por uma planta depende de fatores como a temperatura, incidência de luz e da ocorrência de chuvas, dentre outros fatores.

Figura 9 - Principais constituintes do óleo essencial de *Tagetes minuta* coletada no inverno (julho de 2019) em Santana do Livramento-RS



Fonte: Autora (2019).

Tabela 3 - Perfil cromatográfico (CG) do óleo essencial de *Tagetes minuta* coletada no inverno (julho de 2019) em Santana do Livramento-RS



Fonte: Centro tecnológico de pesquisa e produção de alimentos – Ctpa parque científico e tecnológico do vale do Taquari – Tecnovates.

No mesmo processo de obtenção do óleo essencial da *Tagetes minuta*, foi obtido também o extrato aquoso. Este extrato aquoso passou por um processo de extração líquido-líquido (Figura 10) em ampola de extração com acetato de etila (5 extrações de 200 ml de cada vez). A fração orgânica foi seca com sulfato de magnésio e o solvente evaporado até a secura, para a obtenção de 1,671 g de fração acetato de etila de *Tagetes minuta*.

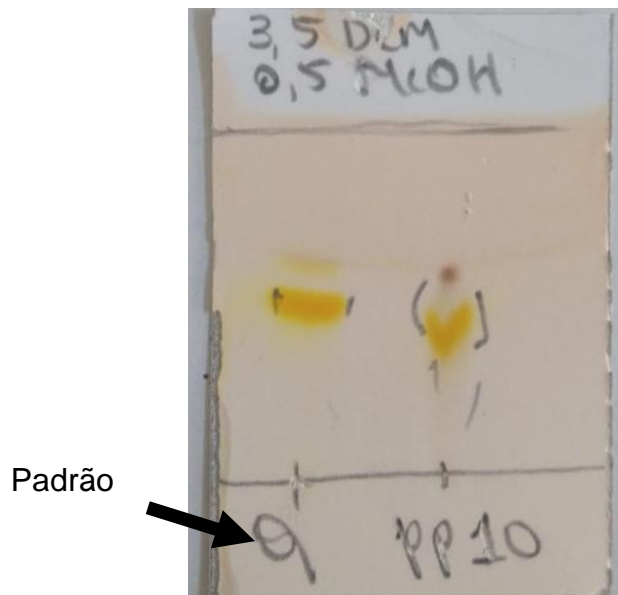
Figura 10 - Extração de *Tagetes minuta*

Fonte: Autora (2019)

Com a fração acetato de etila de *T. minuta* obtida pelo processo de extração acima, foi realizada uma tentativa de separação de constituintes fixos por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando-se como sistema eluente diclorometano-acetato de etila e metanol, aplicados em gradiente de polaridade.

Apesar de não haver sido possível obter-se nenhum constituinte puro, as análises de duas das frações da coluna cromatográfica indicam a presença do flavonoide quercetina e do fitoesterol sitosterol (Figuras 11 e 12). Estes compostos foram identificados por CCD em vários sistemas de solventes com o auxílio de padrões existentes nos laboratórios do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais da UFSM.

Figura 11 - Placa cromatográfica de CCD do padrão quercetina e de amostra da F10 da coluna da Fração acetato de etila de *T. minuta*



Fonte: Autora (2019)

Figura 12 - Placa cromatográfica de CCD do padrão sitosterol e de amostra da F2-3 da coluna da Fração acetato de etila de *T. minuta*.

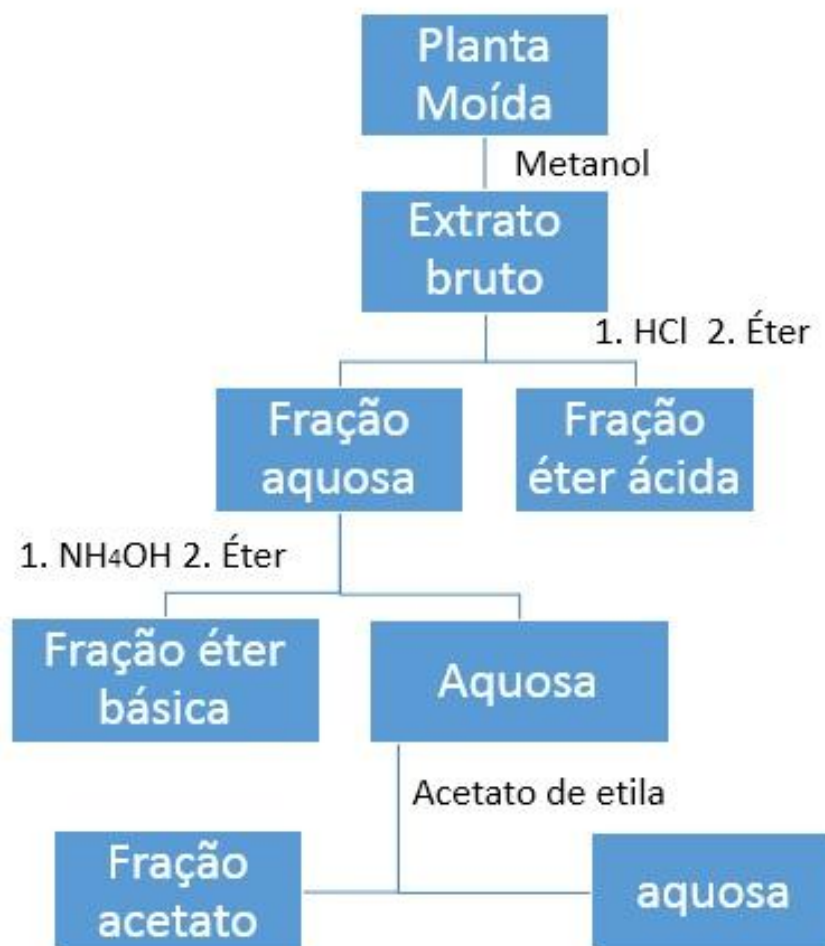


Fonte: Autora (2019)

5.2. ESTUDO DA EUISETUM GIGANTEUM

As partes aéreas de *E. giganteum* (252,95 g) secas e moídas foram submetidas a extração com metanol (aproximadamente 3 litros) a temperatura ambiente (20°C / 25 °C), em cinco ciclos de extração de 12 horas cada. Após cada extração o material foi filtrado e o solvente evaporado até a secura. Os extratos obtidos em cada ciclo foram reunidos, sendo o solvente orgânico evaporado a vácuo em evaporador rotatório. O extrato bruto resultante foi suspenso em água e éter etílico, em um funil de separação. A seguir, foi realizada a extração ácido-base mostrada na Figura 13.

Figura 13 - Extração de *Equisetum giganteum*



5.3. PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DE TAGETES MINUTA E EQUISETUM GIGANTUM E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.

A prospecção fitoquímica dos extratos e frações das plantas estudadas foi realizada a partir de testes qualitativos como o objetivo de identificar a presença de classes de substâncias determinadas. Assim, verificou-se no extrato bruto de *E. giganteum* a presença de alcaloides, esteroides, fenois, taninos, flavonides. Na fração de *E. giganteum* éter ácida apresentou presença de alcaloides, fenois, flavonides, esteroides, antocianinas e taninos. Na fração éter básica de *Equisetum* foi possível de determinar alcaloides. Na fração acetato de etila de *Tagetes minuta* observou-se alclaoides, flavonides, esteroides e taninos (Tabela 4).

Tabela 4 - Prospecção fitoquímica de *Tagetes minuta* e *Equisetum giganteum*

TESTES	<i>Equisetum giganteum</i>			<i>Tagetes minuta</i>
	FEB (10%)	FEA (10%)	FEB (3%)	Facetato (10%)
<i>Alcaloides Dragendorff</i>	+	+	+	+
<i>Wagner</i>	+	-	+	+
<i>Esteroides e triterpenos R. Libermann-Bun.</i>	+	+	NT	+
<i>R. com anisaldeido</i>	+	Não conclusivo	NT	Não conclusivo
<i>Fenois</i>	+	+	NT	-
<i>Cumarinas</i>	não conclusivo *	Não conclusivo	NT	Não conclusivo
<i>Flavonoides R. de Shinoda</i>	+	-	NT	+
<i>R. AlCl₃</i>	+	-	NT	+

Taninos				
R. Gelatina	+	+	NT	+
R. Acetato de Pb	+	+	NT	+
R. Vanilina	-	-	NT	-
Antraquinonas	-	Não conclusivo	NT	Não conclusivo
Antocianinas	+	+	NT	+
Saponinas	-	-	NT	-

NT: não testado.

Fonte: Autora (2019)

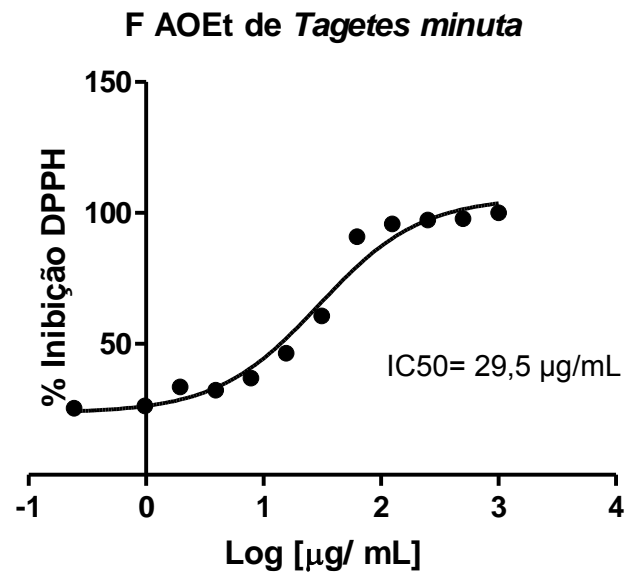
Nos ensaios de atividade antioxidante pelo método do DPPH, o óleo essencial de *Tagetes minuta* apresentou baixa capacidade de sequestro do radical (20,4% a uma concentração de 500 µg/ mL), enquanto que a fração acetato de etila de *T. minuta* apresentou elevado potencial antioxidante (97,8% a 500 µg/ mL). Tanto o extrato bruto como a fração éter ácida de *Equisetum giganteum* mostraram moderada atividade antioxidante na concentração de 500 µg mL, sendo a capacidade de sequestro do radical DPPH de 54,2 e 53,6%, respectivamente, enquanto que a fração éter básica desta planta demonstrou fraco potencial antioxidante (Tabela 5). Com base no resultado de atividade antioxidante da fração acetato de etila de *T. minuta*, foi determinada sua IC₅₀, utilizando-se para isto o programa GraphPad Prisma. Obteve-se um resultado de IC₅₀ de 29,5 µg/mL (Figura 14) caracterizando-se assim que esta fração possui um elevado potencial antioxidante e deve ser objeto de estudos futuros para o isolamento dos compostos mais ativos.

Tabela 5 - Resultados dos testes de atividade antioxidante pelo método do DPPH.

AMOSTRA [500 µg/ mL]	% INIBIÇÃO DO DPPH
Óleo essencial de <i>Tagetes minuta</i>	20,4
Fração acetato de etila de <i>Tagetes minuta</i>	97,8
Extrato bruto metanólico de <i>Equisetum giganteum</i>	54,2
Fração éter ácida de <i>Equisetum giganteum</i>	53,6
Fração éter básica de <i>Equisetum giganteum</i>	20,8

Fonte: Autora (2019)

Figura 14 - Capacidade antioxidante da fração acetato de etila de *T. minuta* expressa como IC₅₀ (µg/mL).



Fonte: Prof^a. Dr^a. Ionara Irion Dalcol (2019)

5- CONCLUSÃO

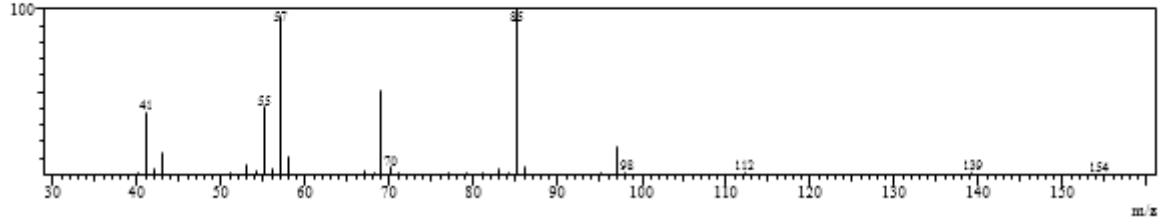
De acordo com os objetivos propostos, obteve-se o óleo essencial da *Tagetes minuta* coletada no inverno em Santana do Livramento, RS. Este óleo essencial apresentou em sua constituição 84% de diidrotagetona, composto este que deverá ser utilizado futuramente para continuidade dos estudos quanto a sua atividade biológica e para a obtenção de derivados ativos.

Foram realizadas as avaliações das atividades antioxidantes pelo método do radical livre DPPH dos extratos e frações de *Equisetum giganteum* e *Tagetes minuta* e do óleo essencial de *Tagetes minuta*. Dentre os extratos e frações analisados, o melhor resultado de atividade antioxidante foi obtido com a fração acetato de etila de *T. minuta*, que apresentou uma IC₅₀ de 29,5 µg/mL.

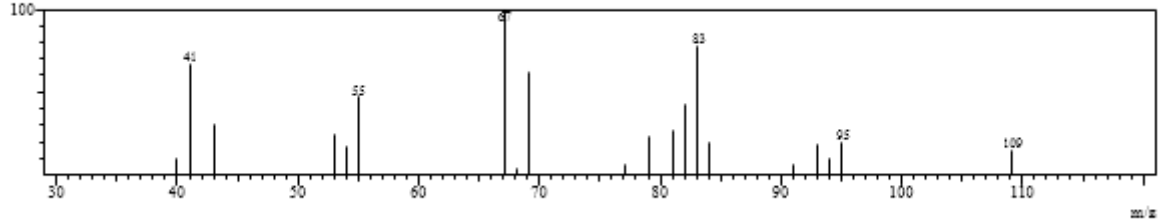
Os testes fitoquímicos de *Tagetes minuta* na fração acetato apresentou a presença de alcaloides, flavonoides, esteroides e taninos e na planta *E. giganteum* foi possível observar mais classes no extrato bruto metanólico, sendo elas alcaloides, esteroides, fenóis, taninos, flavonoides. Na fração éter ácida observou a presença de alcaloides, fenóis, esteroides, antocianinas e taninos. Na fração éter básica de *Equisetum* foi possível determinar a presença de alcaloides.

7- ANEXOS

Line# 4 R.Time: 8.817(Scan#: 759)
 MassPeaks: 43
 RawMode: Averaged 8.808-8.825(758-760) BasePeak: 85(477996)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1

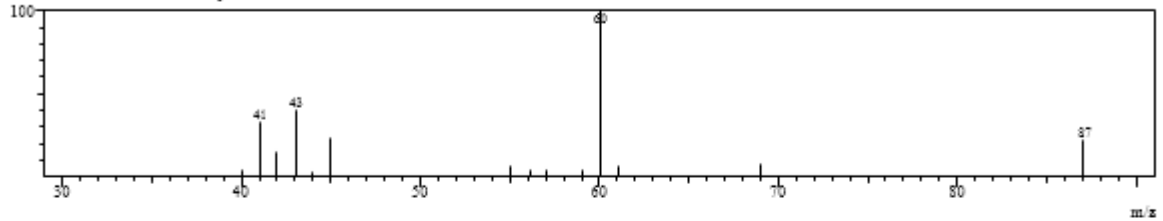


Line# 5 R.Time: 9.725(Scan#: 868)
 MassPeaks: 20
 RawMode: Averaged 9.717-9.733(867-869) BasePeak: 67(11423)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1

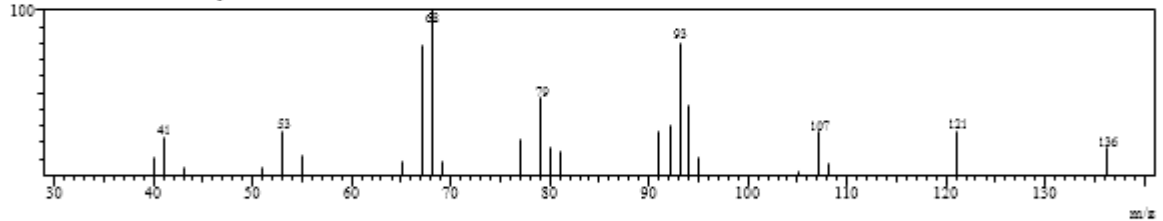


Spectrum

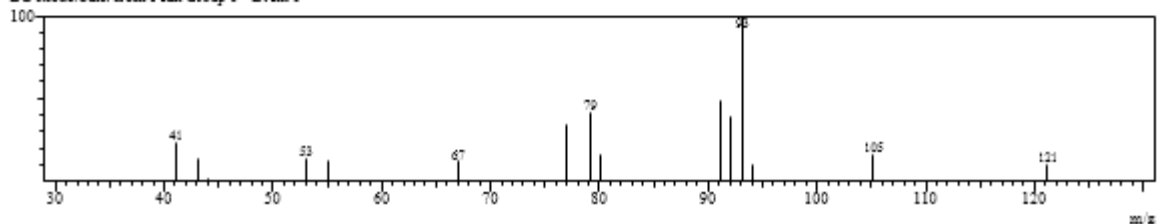
Line# 1 R.Time: 3.308(Scan#: 98)
 MassPeaks: 14
 RawMode: Averaged 3.300-3.317(97-99) BasePeak: 60(20738)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



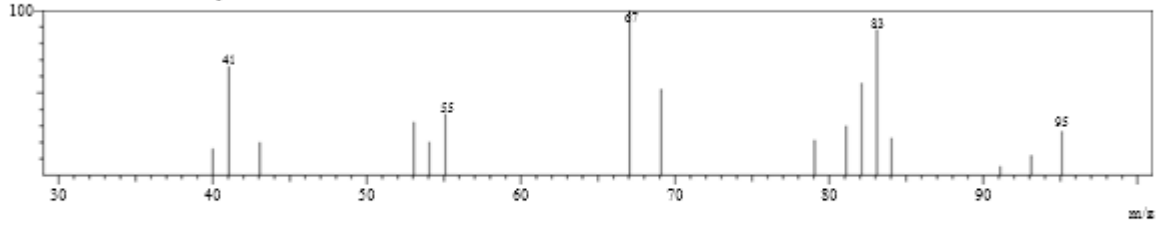
Line# 2 R.Time: 8.033(Scan#: 665)
 MassPeaks: 24
 RawMode: Averaged 8.025-8.042(664-666) BasePeak: 68(13893)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



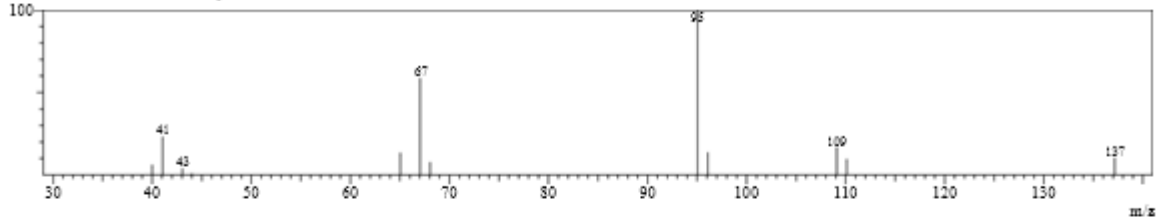
Line# 3 R.Time: 8.300(Scan#: 697)
 MassPeaks: 15
 RawMode: Averaged 8.292-8.308(696-698) BasePeak: 93(11056)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



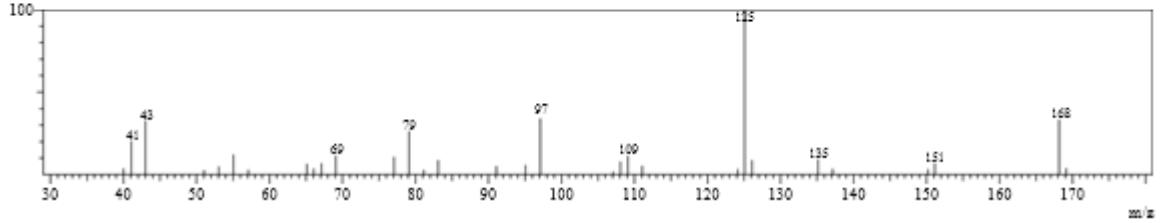
Line# 6 R.Time:10.492(Scan#960)
 MassPeaks:16
 RawMode:Averaged 10.483-10.500(959-961) BasePeak:67(6479)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



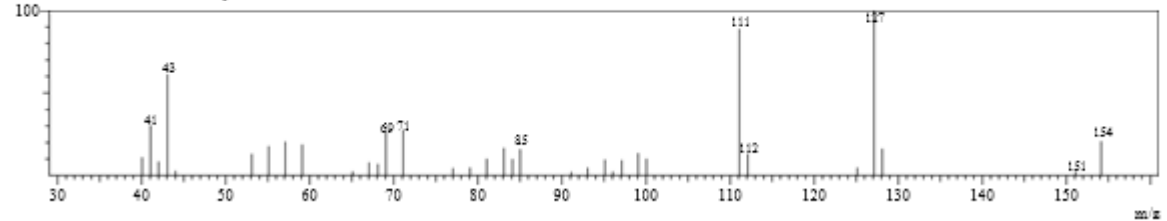
Line# 7 R.Time:12.342(Scan#1182)
 MassPeaks:12
 RawMode:Averaged 12.333-12.350(1181-1183) BasePeak:95(18519)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



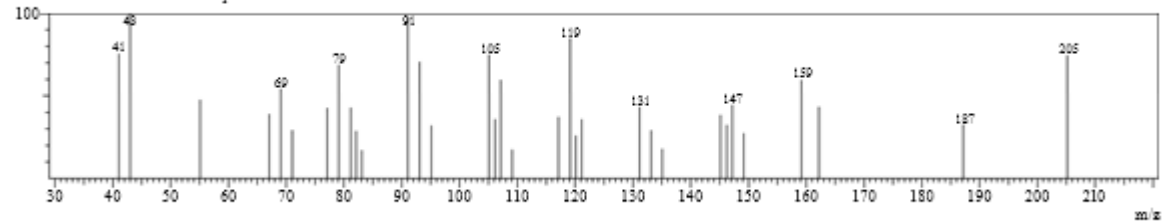
Line# 8 R.Time:17.217(Scan#1767)
 MassPeaks:32
 RawMode:Averaged 17.208-17.225(1766-1768) BasePeak:125(40241)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line# 9 R.Time:21.200(Scan#2245)
 MassPeaks:34
 RawMode:Averaged 21.192-21.208(2244-2246) BasePeak:127(15631)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line# 10 R.Time:30.025(Scan#3304)
 MassPeaks:33
 RawMode:Averaged 30.017-30.033(3303-3305) BasePeak:43(4137)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

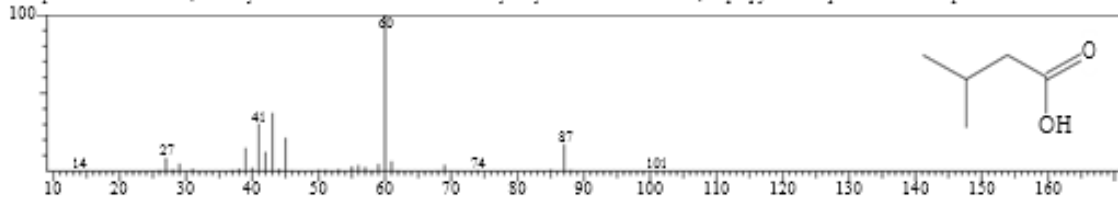


Library

Hit#1 Entry:2266 Library:NIST11c.lib

SI:96 Formula:C₅H₁₀O₂ CAS:303-74-2 MolWeight:102 RetIndex:811

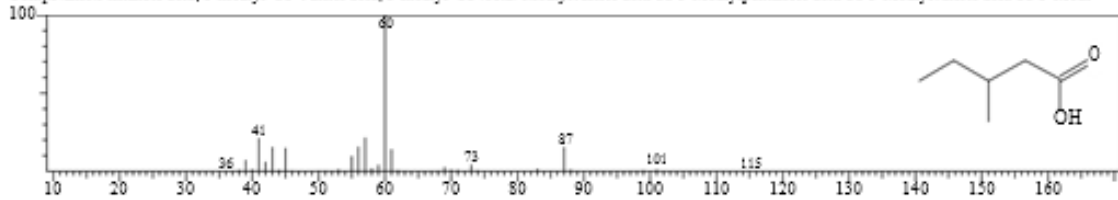
CompName:Butanoic acid, 3-methyl- \$\$ Isovaleric acid \$\$.beta.-Methylbutyric acid \$\$ Acetic acid, isopropyl- \$\$ Delphinic acid \$\$ Isopentanoic acid \$\$ Is



Hit#2 Entry:3616 Library:NIST11c.lib

SI:87 Formula:C₆H₁₂O₂ CAS:105-43-1 MolWeight:116 RetIndex:910

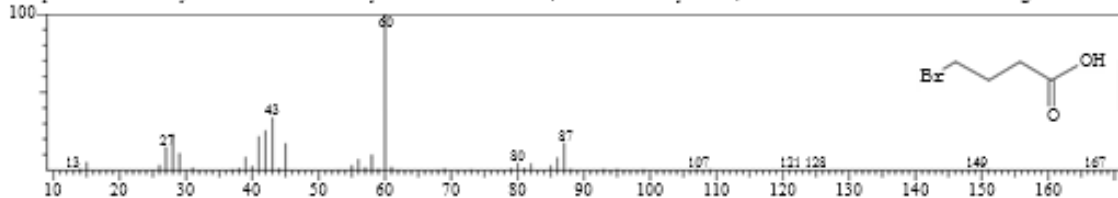
CompName:Hexanoic acid, 3-methyl- \$\$ Valeric acid, 3-methyl- \$\$.beta.-Methylvaleric acid \$\$ 3-Methylpentanoic acid \$\$ 3-Methylvaleric acid \$\$ 3-Meth



Hit#3 Entry:22958 Library:NIST11c.lib

SI:86 Formula:C₄H₇BrO₂ CAS:2623-87-2 MolWeight:166 RetIndex:1071

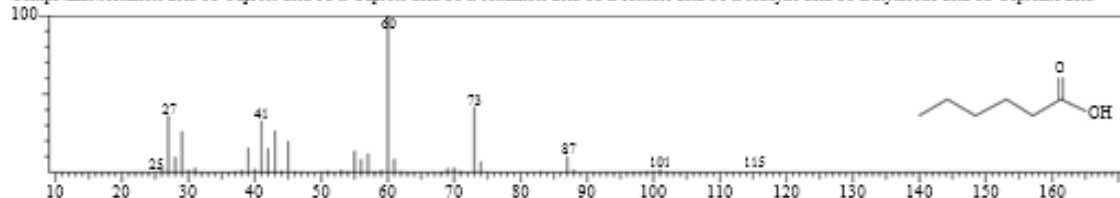
CompName:4-Bromobutyric acid \$\$ 4-Bromo-n-butyric acid \$\$ Butanoic acid, 4-bromo- \$\$ Butyric acid, 4-bromo- \$\$ 4-Bromobutanoic acid \$\$.gamma.-B



Hit#4 Entry:3617 Library:NIST11c.lib

SI:83 Formula:C₆H₁₂O₂ CAS:142-62-1 MolWeight:116 RetIndex:974

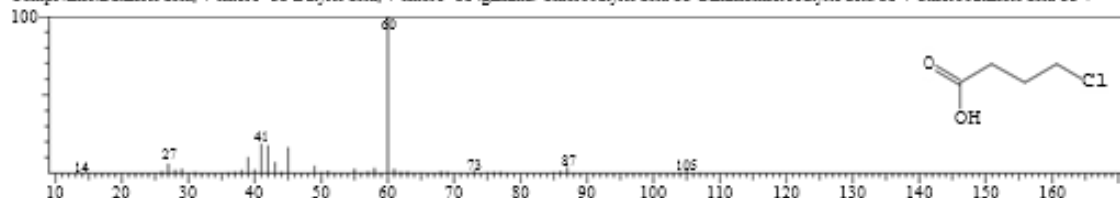
CompName:Hexanoic acid \$\$ Caproic acid \$\$ n-Caproic acid \$\$ n-Hexanoic acid \$\$ n-Hexotic acid \$\$ n-Hexylic acid \$\$ Butylacetic acid \$\$ Caproic acid



Hit#5 Entry:5471 Library:NIST11c.lib

SI:83 Formula:C₄H₇ClO₂ CAS:627-00-9 MolWeight:122 RetIndex:1000

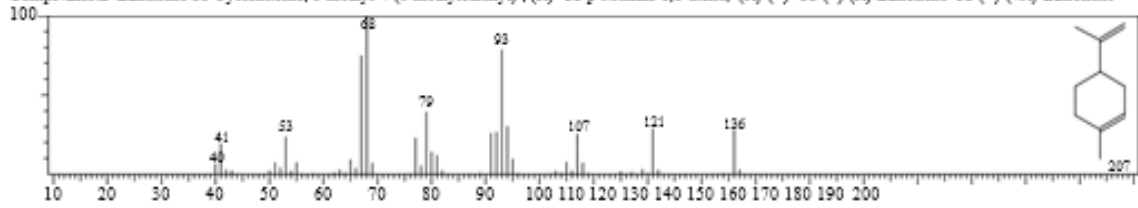
CompName:Butanoic acid, 4-chloro- \$\$ Butyric acid, 4-chloro- \$\$.gamma.-Chlorobutyric acid \$\$ Gamma-chlorobutyric acid \$\$ 4-Chlorobutanoic acid \$\$ 4



Hit#1 Entry:6621 Library:NIST11a.lib

SI:93 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RefIndex:1013

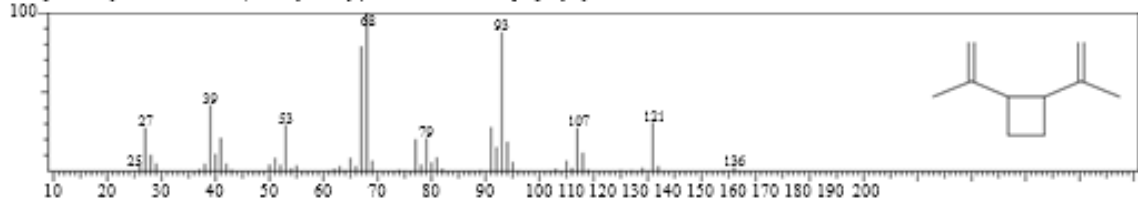
CompName:D-Limonene SS Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- SS p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- SS (+)-Limonene SS (+)-(+R)-Limonene



Hit#2 Entry:9746 Library:NIST11a.lib

SI:91 Formula:C10H16 CAS:19465-02-2 MolWeight:136 RefIndex:934

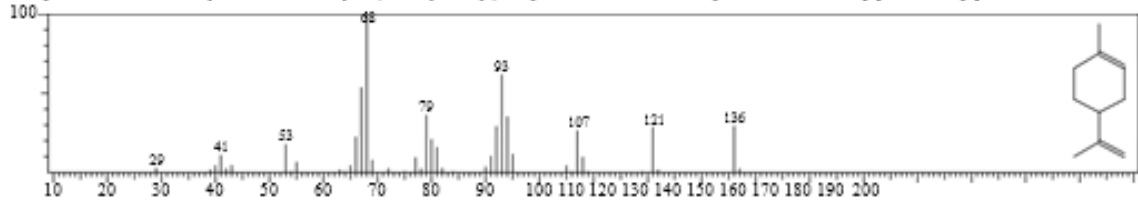
CompName:Cyclobutane, 1,2-bis(1-methylethenyl)-, trans- SS 1,2-Diisopropenylcyclobutane # SS



Hit#3 Entry:6618 Library:NIST11a.lib

SI:90 Formula:C10H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RefIndex:1013

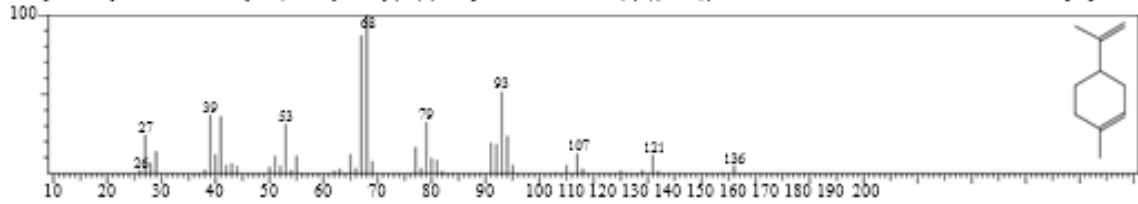
CompName:Limonene SS Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- SS p-Mentha-1,8-diene SS alpha-Limonene SS Cajuputene SS Cajuputene SS Cinen S



Hit#4 Entry:6615 Library:NIST11a.lib

SI:39 Formula:C10H16 CAS:5989-54-8 MolWeight:136 RefIndex:1013

CompName:Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (S)- SS p-Mentha-1,8-diene, (S)-(-)- SS (-)-Limonene SS L-Limonene SS Limonene SS 4-Isopropene



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHUCARRO; Rodríguez; Ortiz. Dueñas. **Estrategias de adaptación al cambio climático de la especie *Equisetum giganteum* en la Reserva Natural Tapytá, Paraguay, 2019.**

ADAMS, R. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry.** 4.1 ed. 2017.

ALVES, C. F. S. **Composição fitoquímica e atividade biológica do extrato bruto e frações da *Equisetum hyemale*.** Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Maria, 2015.

BARROS, J.C., GARCIA, M.V., ANDREOTTI, R. **Óleo essencial de *Tagetes minuta* como fitoterápico no controle dos carrapatos.** Capítulo 13 em livro científico, 2019.

CHOI, CHANG W, *et al.* **Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison.** *Plant Science* 2002, 163, 1161-1168.

CRAMER L., *et al.* **Structural and quantitative analysis of *Equisetum* alkaloids.** *Phytochemistry* 116, 2015.

FARINON, M. **Efeito do extrato aquoso de cavalinha (*Equisetum giganteum* L.) em modelo de monoartrite induzida por antígeno.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013.

FONSECA, C. **Fenologia e caracterização fitoquímica do óleo essencial de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae).** Dissertação de mestrado em Sistemas de Produção Agrícola Familiar da Universidade Federal de Pelotas, 2018.

FRANCESCATO, L. ***Equisetum giganteum* L.: parâmetros de controle de qualidade, análise química e desenvolvimento de extrato seco por *spray drying*.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012.

JABEUR, I, *et al.* **Contribution of the phenolic composition to the antioxidant, anti-inflammatory and antitumor potential of *Equisetum giganteum* L. and *Tilia platyphyllos* Scop.** *Food Funct.*, 2017, 8, 975–984 This journal is © The Royal Society of Chemistry 2017 Published on 20 January 2017.

HEEMANN, Ana Carolina Winkler; MIGUEL, Obdulio Gomes. **REVISÃO DO GÊNERO *Pterocaulon* - Aspectos fitoquímicos e Atividades Biológicas,** 2004.

MALDANER C. **Estudo dos metabólitos secundários de *Scutia Buxifoliae* suas atividades biológicas.** Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Maria, 2010.

MELLO & BUDEL; **Equisetum I. (equisetaceae): uma revisão, equisetum I. (equisetaceae): a review**, Cadernos da Escola de Sa úde, Curitiba, 9: 1-15, 2013.
Ministério da Saúde e Anvisa, monografia da espécie *tagetes minuta* L. (cravodedefunto), 2015.

Núcleo de Estudos e Pesquisas de Plantas Mediciniais, <http://www.neplame.univasf.edu.br/atividade-antioxidante.html> - acessado em 17/11/2019.

OLIVEIRA C.Q. **Constituintes químicos de óleos voláteis de plantas medicinais do sul do brasil: isolamento, determinação estrutural e atividade biológica.** Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria, 2012.

PERREIRA, O.A. **Estudos das atividades antimicrobiana, de inibição enzimática e análise fitoquímica de *Aristolochia triangularis* Cham. E *Aristolochia gigantea* Mart.**, Universidade Federal de Santa Maria, 2015.

Química Nova interativa, Sociedade Brasileira de química; http://qnint.sbq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=4J4NcOscwSWQozPv_U900znaLVcJT9yuEtosdRR6-OUaLje9-uzD1r0zo9HWIFgxKcELr89FjeGeQhTJYPGT2Q - acessado em 16/11/2019

SCOPEL, M. **Análise Botânica. Química e Biológica Comparativa entre Flores das Espécies *Sambucus nigra* L. e *Sambucus australis* Cham. & Schltidl. e Avaliação Preliminar da Estabilidade.** 2005.

SIMÕES, C M, *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**; 5º edição; editada da UFRGS e editora da UFSC, 2004.

TEIXEIRA A.C. **Efeito dos monoterpenóides limoneno, carveol e álcool perílico no músculo liso vascular.** Universidade estadual do Ceará, 2013.

VIEGAS Jr & BOLZANI. **Os produtos naturais e a química medicinal moderna.** *Quim. Nova*, Vol. 29, No. 2, 326-337, 2006.