FACULDADE REBOUÇAS

BACHARELADO EM FARMÁCIA

USO DE IMAGENS DIGITAIS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DE PASSIFLORA INCARNATA EM MEDICAMENTOS

LETICIA DO NASCIMENTO PINTO

Campina Grande

2022

LETICIA DO NASCIMENTO PINTO

USO DE IMAGENS DIGITAIS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DE PASSIFLORA INCARNATA EM MEDICAMENTOS

Trabalho de conclusão de curso na modalidade *artigo científico*, apresentado como requisito para obtenção do título de bacharel em Farmácia Generalista pela Faculdade Rebouças.

Orientador: Prof. Dra. Welma Thaíse Silva Villar

Campina Grande

2022

LETICIA DO NASCIMENTO PINTO

USO DE IMAGENS DIGITAIS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DE PASSIFLORA INCARNATA EM MEDICAMENTOS

Trabalho de Conclusão de Curso na modalidade *Artigo Cientifico*, apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Faculdade Rebouças.

DATA DA AVALIAÇÃO: 09 de dezembro de 2022.

BANCA EXAMINADORA:

_____

Profª. Drª. Welma Thaíse Silva Vilar
(Orientadora - Faculdade Rebouças)

_____

Profª. Drª. Dayanne Tomaz Casimiro da Silva
(Examinadora Interna - Faculdade Rebouças)



Prof. Dr. Gessenildo Pereira Rodrigues
(Examinador Interno - Faculdade Rebouças)

AGRADECIMENTOS

Gratidão ao astro rei, aquele que me auxiliou a chegar até aqui, se não fosse por sua infinita bondade me dando forças nos momentos que fraquejei, se não fosse meu joelho dobrado inúmeras vezes pedindo o seu amparo, talvez eu nem estivesse aqui escrevendo esses agradecimentos. Confio em seus propósitos na minha batalha aqui na terra, que em nem um momento foi e nem é fácil, mas com ele eu tudo posso, e não há nada que eu não alcance.

Agradeço a minha grande mãe, que está realização é nossa, sonhamos juntas, batalhamos juntas, choramos juntas e dela veio toda a minha garra e perseverança, ela foi muitas vezes o meu apoio, meu porto e minha motivação para conclusão do meu curso.

Não poderia deixar de mencionar a minha segunda maior motivadora *(in memoriam*) minha avó que sempre me falava para estudar, que um dia eu seria uma “doutora”, que me ensinou tantas coisas sobre a vida e uma delas é ser paciente, isso me fez confiar no meu processo.

A minha irmã Carolina, que em um momento muito difícil foi uma peça chave para que eu não desistisse dos meus sonhos, ela é meu exemplo de humanidade, luta e de esperança.

Ao meu amigo, companheiro, “pariceiro” e meu amor, Rodrigo José o qual sonha ao meu lado, me deu todo o apoio do início ao fim, esteve comigo em tantos momentos, me motivou e sempre me deu palavras de consolos, esperança e auxilio.

Também não poderia esquecer do meu pai do coração, Afonso Galvão que me abrigou na minha amada Campina Grande, muitas vezes me repassou sabedorias, palavras de esperança e sempre foi um grande motivador, esteve lá muitas vezes para me dá a sua mão quando eu precisei, e sempre com muito carinho e amor.

A minha segunda família, Laurita, Rubeny, Roseli e Renato que brinco muitas vezes dizendo que foram os meus primeiros pacientes, obrigada por tudo.

As minhas amigas, Cassia, Criz, Cristina que sempre me deram palavras de perseverança em tantos momentos que eu estava abatida, vocês são seres de luz.

Agradeço demais a minha querida orientadora Welma Vilar, por toda atenção, todo suporte, por responder as minhas mensagens até mesmo após o horário comercial, tenho certeza que escolhi a melhor orientadora.

As minhas professoras em especial Luciana Luna que talvez ela nem lembre, mas quando eu quis desistir do curso por não me identificar foi ela quem disse para que eu esperasse um pouco mais, e isso somou para que eu pudesse dar continuidade ao meu curso e me apaixonar completamente pela minha futura profissão.

Deborah e Raquel, não tenho nem palavras para agradecer por tudo que fizeram por mim e por todas as palavras que me disseram no decorrer desta graduação, por todas as vezes que ouviram meus desabafos, meus relatos e tenho certeza que sem vocês eu não conseguiria.

A professora Drª. Dayanne Cassimiro, obrigada por ter cedido a amostra de quercetina, com isso conseguimos colocar em pratica e ir em frente com o tema proposto do TCC.

A Assys Mota por todo o apoio e ajuda nos dada no laboratório.

Todas as pessoas que passaram pela minha trajetória acadêmica de certa forma somaram para que eu pudesse chegar aqui, agradecida demais a cada passo dado.

RESUMO

A *Passiflora incarnata L.* é uma planta medicinal usada desde os tempos primordiais por culturas antigas e se estende até os anos atuais. Por ser um fitoterápico, muitas vezes é usado de forma irracional, e comprado em lugares não confiáveis. Diante disso, surge a necessidade de um controle de qualidade mais rigoroso, já que podem ocorrer adulterações e consequentemente oferecendo riscos à saúde do paciente. O objetivo deste trabalho foi analisar os teores de quercetina em amostras medicamentos (diferentes concentrações) de *Passiflora incarnata L.* utilizando imagens digitais, calibração univariada e multivariada. Para esta finalidade foi desenvolvido modelo quimiométrico baseado em regressão linear múltipla com prévia seleção de variáveis pela formulação stepwise (MLR/SW). Resultados satisfatórios foram encontrados com RMSEP (raiz média quadrado erro de previsão) de 21,72 mg. Os resultados demonstraram o potencial das imagens digitais associada a calibração multivariada para determinar o teor de quercetina em medicamentos comerciais a base de *Passiflora incarnata L.* como uma estratégia rápida, simples e com boa correlação entre os valores preditos pelo modelo e os valores de referência.

Palavras-chave: Fitoterapia, *Passiflora incarnata L*., Imagens Digitais, Calibração Multivariada.

ABSTRACT

Passiflora incarnata L. is a medicinal plant used since early times by ancient cultures and extends to the present years. Because it is an herbal medicine, it is often used irrationally, and purchased in unreliable places. Therefore, there is a need for stricter quality control, since adulterations can occur and consequently offering risks to the patient's health. The objective of this study was to analyze the contents of quercetin in drug samples (different concentrations) of Passiflora incarnata L using digital images, univariate and multivariate calibration. For this purpose, a chemometric model based on multiple linear regression was developed with previous selection of variables by the stepwise formulation (MLR/SW). Satisfactory results were found with RMSEP (root mean square error of prediction) of 21,72 mg. The results demonstrated the potential of digital images associated with multivariate calibration to determine the content of quercetin in commercial drugs based on Passiflora incarnata L. as a rapid strategy, values predicted by the model and the reference values.

Keywords: Phytotherapy, *Passiflora incarnata L*., Digital Images, Multivariate Calibration.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 12

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA 15

2.1 Fitoterapia 15

2.2 Passiflora 16

2.3 Quercetina 19

2.4 Avaliação dos produtos fitoterápicos 20

2.5 Imagem digital 20

2.6 Quimiometria 21

3. METODOLOGIA 24

3.1 Amostras 24

3.2 Análise de Referência 24

3.3 Aquisição das Imagens 24

3.4 Procedimento Quimiométrico e Software 26

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 27

4.1 Curva de Calibração 27

4.2 Quantificação de Quercetina em amostras 28

4.3 Histogramas 29

4.4 Análise de Componentes Principais (PCA) 30

4.5 Modelo MLR/SW 31

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS 34

REFERÊNCIAS 35

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são utilizadas para fins terapêuticos. Na natureza existem grandes variedades de plantas fazendo com que o homem sempre busque alternativas para melhorar sua condição de vida, assim utilizando recursos naturais oferecidos por ela (BRASIL, 2006). O uso de plantas medicinais para tratamentos de enfermidades vem sendo relatado desde a antiguidade, tendo seu início na medicina chinesa, tibetana e indiana (BRASIL, 2012).

Os fitoterápicos têm finalidades profiláticas, paliativas e curativas e foi reconhecida pela OMS (Organização Mundial de Saúde) no ano de 1978, assim considerando as plantas medicinais essenciais na Assistência Farmacêutica (BRASIL, 2006). Constituem uma terapia alternativa, com isso o mercado mundial de fitoterápicos movimentem em torno de 22 milhões de dólares, o Brasil deveria ser um dos países mais privilegiados com essa movimentação econômica, devido a sua diversificada flora, contendo aproximadamente um terço da flora mundial (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO., 2001).

As indústrias que produzem fitoterápicos tem grande potencial de desenvolvimento e abrangência no mundo todo, pois se mostra como uma grande oportunidade de atingir grandes expansões no âmbito farmacêutico brasileiro (HASENCLEVER, et al., 2017). Com a pandemia da COVID-19, elevou os quadros de depressão e ansiedade com dados que demostram um problema a saúde pública, assim as plantas fitoterápicas vem sendo uma alternativa nos tratamentos por demostrarem eficácia, segurança e baixo custo (SILVA, et al., 2021). Por outro lado, adulterações de fitoterápicos são comuns e podem ocorrer assim como em outros produtos da indústria farmacêutica.

A denominação maracujá é oriunda de povos indígenas e empregada para designar as espécies do gênero Passiflora (LOPES; TYTO; ARANTES., 2017). A família da *Passiflora* vem ganhando cada vez mais espaço por apresentar potencial de matéria-prima para a criação de novos fármacos. Tendo cerca de 500 gêneros, a *Passiflora incarnata L.* é a que demostra maior ampliação clínica no mundo todo (DHAWAN et al., 2004).

A *Passiflora incarnata L.* é conhecida comumente pela nomenclatura de maracujá-vermelho (SANTOS; GALINDO; QUEIROZ., 2015) que apresenta efeitos ansiolíticos desde o século XVII, na Europa, mas algumas especulações relatam que

já era usado desde os tempos imemoriais (DHAWAN, et al., 2001). O seu nome em latim, Passiflora foi escolhido pelos sacerdotes espanhóis que tiveram como inspiração a flor que a planta contém, onde é considerada como flor da paixão, isso é, pois, sua forma se assemelha a uma coroa de espinhos, anteras, gavinha e estigmas centrais.

Sua atividade farmacológica se provém de partes da planta, onde tem o seu princípio ativo presente em flores e frutos. São relatados o uso de suas folhas e flores, através de sua extração e tomado de forma oral, essa espécie também é tida como um sedativo, e relatos demostram o uso para problemas intestinais que têm origem nervosa (BRASIL, 2021). Além disso, alguns estudos demostram efeitos anti-helmínticos, antiespasmódicos e ansiolíticos (KATARZYNA et al., 2020). A *Passiflora incarnata L.* faz parte da família Passifloracea e tem cerca de 520 espécies que à compõem. Ela é presente nas Américas Central e do Sul, é usada para finalidades analgésicas, sedativas e antiasmáticas. Apresenta uma boa função farmacológica e atividades terapêuticas (CORREIA, et al., 2021), podendo auxiliar nos tratamentos de ansiedade e sendo um fitoterápico de fácil acesso e se usado de forma correta pode não apresentar efeitos adversos (MENDONÇA, G. S. de. et al., 2021). A *Passiflora incarnata L.* está presente em diversas preparações farmacêuticas, juntamente com outras drogas (TANKANOW et al., 2003), tais como a *Valeriana officinalis*, vitaminas B1 e B2, papoila-da-califórnia, lúpulo, camomila e espinheiro-alvar (PEREIRA, S. 2014).

Diversos experimentos na sua fase pré-clínica demostram que a Passiflora apresenta potenciais para tratamento da insônia, e bem como o déficit de atenção, hiperatividade, hipertensão e câncer (MIRODDI, et al., 2013).

Verly e Dominato (2014) abordam que as adulterações nas composições dos fitoterápicos ocorrem de aumentar os seus efeitos sedativos e prolongarem sua ação. De acordo com a RDC 26/2014 (BRASIL, 2014) a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), responsável pela regularização também dos fitoterápicos define essa classe como o que é adquiridas exclusivamente da matéria prima vegetal.

Diante deste cenário, surge a necessidade de um método analítico para quantificação, que seja preciso, simples, confiável e de baixo custo, que possam atestar a segurança e qualidade de medicamentos fitoterápicos como *Passiflora incarnata L.* Além disso, esses métodos podem proporcionar aos órgãos públicos de fiscalização testagem, o que é de grande importância de saúde pública.

A literatura reporta um número elevado de trabalhos envolvendo imagens digitais combinados com análise multivariada no controle de qualidade de diversas matrizes como alimentos (SILVA, 2022) medicamentos (SABIN; FERRÃO; FURTADO. 2004) bebidas (MOREIRA, 2021) entre outros.

Assim, o objetivo deste trabalho é desenvolver uma metodologia analítica alternativa para quantificar a quercetina em medicamentos com *Passiflora incarnata L*. utilizando técnicas baseada em imagens digitais e calibração multivariada.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Fitoterapia

A fitoterapia é a terapêutica caracterizada pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes formas e existem a cerca de 8.500 a.C. demostra sua origem em duas vertentes, no senso comum que é passado de forma tradicional que se denomina de etnobotânica, e etnofarmacologia (DANTAS, 2018) foi verificado que as plantas apresentavam princípios ativos, o qual cura e trata muitas das doenças e com isso passou a existir a pratica de medicina alopática moderna.

O termo da palavra fitoterapia é oriundo do grego *therapeia* (tratamento) e da palavra *phyton* (vegetal) e se relaciona com o estudo das plantas medicinais.

Na China, a fitoterapia surgiu em 3.000 a.C. foi o imperador Cho-Chin-Kei que descreveu as propriedades da Cânfora e Giseng (CORREIA; LAUTERT, 2011). No século XVI, os naturalistas, chegaram ao Brasil, mas, ainda não haviam estudado a biodiversidade brasileira, até que no século XVII membros da comitiva de Maurício de Nassau se dedicaram a estudar cientificamente a essa biodiversidade, porém o estudo de forma sistemática da flora e fauna teve seu início apenas quando a Família Real veio para o Brasil, depois disso o país começou a receber os naturalistas de forma numerosa, oriundos de missões oficias, toda essa dedicação grande diversidade fez com que fossem um dos pontapés inicias para realizações de pesquisas e de maiores interesses nessas busca, e servem de base para a farmacologia dos produtos naturais e a química (ALVES. 2013).

No Brasil, a fitoterapia foi implantada pela Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos-PNPMF, (FIGUEREDO; GURGEL; JUNIOR., 2014) no ano de 2006, e destacou a importância de assegurar a eficácia e segurança na saúde pública, além de relacionar com o desenvolvimento socioeconômico e conservação ambiental, de forma com que fosse, respeitada toda diversidade e as individualidades regionais e ambientais (BRASIL, 2006). Com isso, o reconhecimento das práticas e saberes dessa medicina, assumiu assim uma demonstração de respeito a toda biodiversidade cultural brasileira, que abrange de comunidades locais até as indústrias nacionais (ARAÚJO, 2018).

Deste modo, o Decreto Nº 5.813, de 22 de junho de 2006, estabeleceu as diretrizes para o uso racional dos fitoterápicos, parâmetros para seus

desenvolvimentos e suas inovações (BRASIL, 2016). No ano de 2011, em novembro, a ANVISA através da Farmacopeia Brasileira, enviou o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira RDC nº 60 de 10 de novembro de 2011 com foco principal nas práticas de manipulações e na dispensação destes fitoterápicos, assim auxiliando com os Serviços de Fitoterapia e Farmácias Vivas pelo país.

A publicação do Memento Fitoterápico e desencadeou o amadurecimento de debates no tramite do registro dos fitoterápicos no Brasil, assim a ANVISA publicou a Resolução RDC nº 26 de 13 de maio de 2014, onde se apresenta a classe do Produto Tradicional Fitoterápico (BRASIL, 2016).

Buscando por esses tratamentos com fitoterápicos, no SUS (Sistema Único de Saúde) a procura aumentou bastante nos anos de 2020 a 2021 (CAMPOS; NASCIMENTO; SILVA., 2021).

Essas formas farmacêuticas podem ser, capsulas, comprimidos, pomadas, infusões, droga vegetal encapsulada, tinturas (BRASIL, 2016).

O uso das plantas para fins curativos é muito popular, porém por muitas vezes é administrado o uso de forma irracional, tendo em vista que muitas apresentam toxicidade. Assim, a classe dos fitoterápicos vem sendo uma alternativa, pois apresentam menores chances de dependência (LOPES; TYTO; ARANTES, 2017).

2.2 Passiflora

A *Passiflora incarnata L*. é uma grande família com cerca de 500 espécies (PEREIRA, S. 2014) e 19 gêneros que estão presentes em regiões tropicais e subtropical particularmente presentes na América e África.

No neotrópico observa-se 5 gêneros e em torno de 400 espécies e no Brasil se tem 4 gêneros e uma média de 130 espécies (BERNACCI, et al., 2013). Em São Paulo, foram descritos 2 gêneros e 38 espécies, porém apenas dez delas fazem parte dos registros das novas ocorrências, que quantificam um total de 35% a mais para o Estado (LIMA, et al. 2022).

Passiflorácea é uma família de trepadeiras lenhosas ou herbáceas, que possuem em sua estrutura gavinhas axilares/subarbustos a árvores pequenas, hermafrodita e andromonóicas. Contém ramos que raramente podem ser achatados ou de forma angular. Suas folhas são alternas, lâmina simples, lobada de forma inteira ou composta, podem conter ocelos ou não. Inflorescências axilares, cimosas ou

racemosas, podendo ter 1 a 2 flores por nó, flores perígina ou hipóginas, actinomortas ou as zigomorfas (BERNACCI, et al., 2013).

Suas sementes foram descobertas a muitos anos atrás, em sítios arqueológicos na América do Norte e na Virgínia, essas evidencias demostram que a Passiflora já era presente nos anos pré-históricos e usada pelos denominados índios vermelhos (GREMILLION, 1989., apud DHAWAN, et al., 2001).

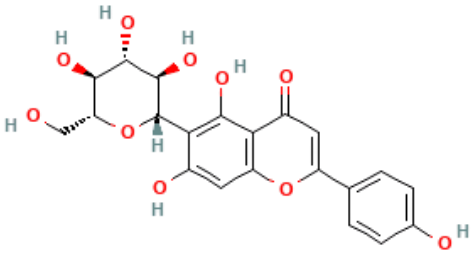
Essas espécies vêm ganhando cada vez, espaço na fitoterapia a sua variação na presença dos seus fitoconstituintes, que possuem uma grande gama de atividades terapêuticas, que podem abranger diversas áreas no tratamento de enfermidades, além de ser ótimo para a indústria na criação de novos fármacos (GAD, et al., 2022). Vários compostos podem ser encontrados na Passilfora, em uma realização de testes fitoquímocos obteve-se um resultado positivo para flavonoides, aminoácidos e aminas, além de açucares e oligossacarídeos (OLIVEIRA; FILHO; PORFIRO., 2020).

No ano de 2004 foi realizado um estudo para desenvolver um método cromatográfico que pudesse determinar de forma quantitativa o teor dos flavonoides nas folhas da *Passiflora incarnata L*.(MIRODDI, et al., 2013). A presença de compostos como, alcalóides, fenóis, glicosil flavonóides e os compostos cianogênicos se fazem presente nesse gênero. Os favonóides são abordados com um dos principais constituintes, deste modo se caracteriza por conjuntos de flavonoies C-glicolisados e isovitexina-2-O-glicosilada (DHAWAN, et al., 2004).

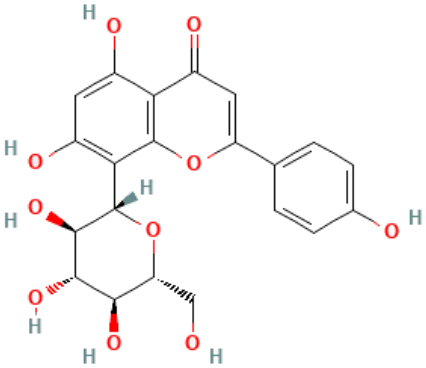
Os constituintes da planta aos quais é dada sua atividade farmacológica são os flavonóides, o maltol, os alcalóides indólicos e os glicósidos cianogénicos (PEREIRA, 2014).

De acordo com a Figura 1, a representação da estrutura química dos principais flavonoides;

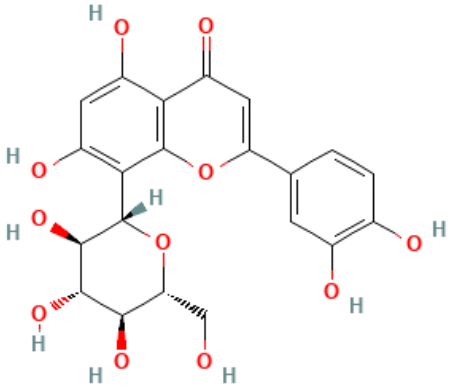
Figura 1: Estruturas quimicas dos principais flavonoides da *Passiflora incarnata L.* :



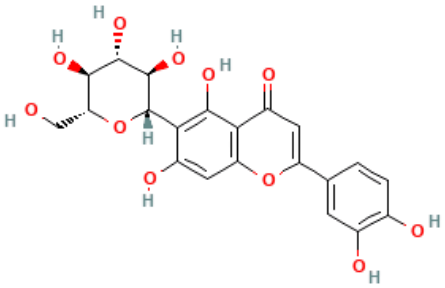
Isovitexina



Vitexina



Isoorientina.



Orientina

Fonte: PubChem, 2004.

A Passiflora tem substâncias que podem ser atuantes nos processos inflamatórios do nosso organismo como a rutina que diminuem a atividade imunológica do nosso organismo e inibindo a proliferação das células que conduzem este processo e toda a sua cascata, consequentemente diminui os sintomas que são decorrentes do processo infamatório (ANDRADE, et al., 2021).

Durante a pandemia da COVID-19 no Brasil teve um aumento duas vezes maior dos medicamentos a fins de sanar alguns quadros de ansiedades, e com enfoque na

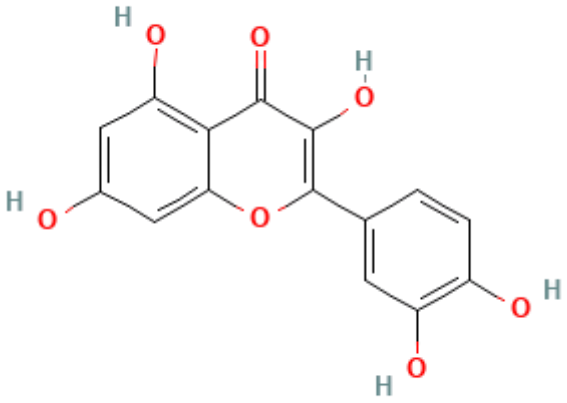
Passiflora incarnata L. para um tratamento alternativo e de fácil acesso já que pode ser vendido sem prescrição médica (PESSOLATO, et al., 2021)

A Passiflora pode ser usada no tratamento de ansiedade por agir no sistema nervosos central, de forma depressora inespecífica e assim tem ações ansiolíticas (LOPES; TYTO; ARANTES, 2017).

2.3 Quercetina

A quercetina é um flavonoide, antioxidante que pode ser encontrado em alimentos na forma de glicosilada ou β-glicosidase (BEHLING, et al., 2004). De acordo com a Figura 2, podemos visualizar sua estrutura molecular.

Figura 2: Mólecula da quercetina.



Fonte: PubChem, 2004.

Por apresentar funções farmacológicas devido a sua ação antioxidante e na remoção de radicais livres (TENÓRIO, P., 2014). Suas propriedades antioxidantes são configuradas por sua atuação inibidora das enzimas lipooxigenase e ciclooxigenase (ALVES, et al., 2010).

Como ações ansiolíticas, antidepressivas e anticonvulsivantes e até mesmo nas funções cognitivas, tem bases farmacológicas que se assemelham aos de medicamentos como os benzodiazepínicos (NICOLUCCI, 2019).

A quercetina na Passilfora tem atividades antirradicais e capturação dos radicais livres, sendo considerada a mais ativa dentre o grupo e diversas plantas medicinais tem suas atividades através do alto teor da quercetina (RUTA MASTEIKOVA et al., 2008).

Seu mecanismo de ação para inibição de formações de radicais livres se dá em três etapas, inicia-se na interação com o íons superóxidos na formação de radicais hidroxil e na peroxidação lipídica, por regirem com os radicais lipídeos e peroxi (BEHLING, 2004).

A padronização na quantificação de seus compostos se faz necessário com uso de processos analíticos para poderem avaliar a quantificação de forma adequada e levando em consideração toda sua complexidade (GOMES, 2013).

2.4 Avaliação dos produtos fitoterápicos

Uma pesquisa realizada por Verly e Dominato (2014) onde os comprimidos de *Passiflora incarnata L*. teriam em sua composição um ativo que não é permitido, o Diazepam, afim de intensificar a ação ansiolítica do fitoterápico. Além de ser contra a lei, a adulteração de medicamentos pode prejudicar a saúde de quem irá consumir esse produto com sua formulação irregular.

Para garantir um produto seguro e que tenha eficácia, a ANVISA publicou no ano de 2009 (BRASIL, 2009) uma atualização para insumos e produtos farmacêuticos, que na falta da inscrição do produto na farmacopéia brasileira poderá ser seguidos os parâmetros de outras monografias de outros países quando nas suas últimas edições, quando algumas substâncias não estiverem descritas na Brasileira (BRASIL, 2009).

2.5 Imagem digital

Uma imagem digital é a representação bidimensional através de números binários codificados de modo a permitir o armazenamento, transferência, impressão, reprodução e processamento de dados por meios eletrônicos (MARQUES FILHO, O.; VIEIRA NETO, H., 1999)

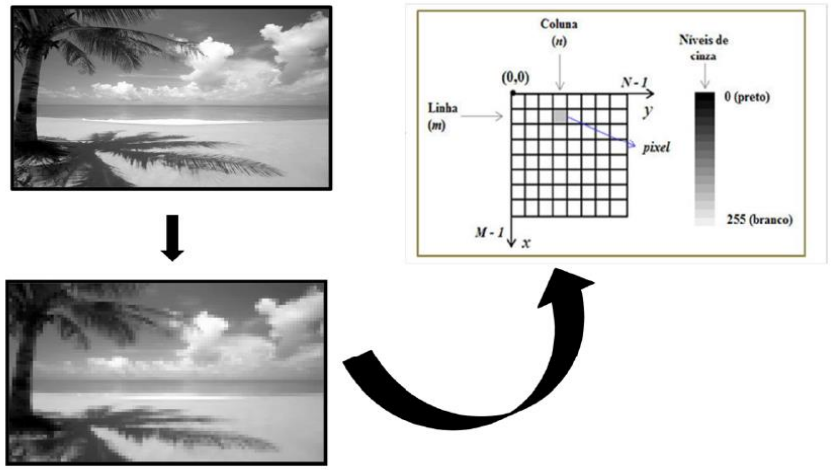
A imagem analógica, monocromática ou colorida, capturada por algum dispositivo eletrônico, não pode ser processada pelos computadores, a não ser por

meio de matrizes com números digitais. Por isso, a imagem analógica precisa ser convertida em imagem digital a partir da construção de uma matriz com M por N pontos, em que cada ponto dessa matriz é chamado de pixel (MARQUES FILHO, O.; VIEIRA NETO, H., 1999; QUEIROZ, J.E.R.; GOMES, H.M. 2001).

Um pixel é a menor unidade de uma imagem digital, geralmente em formato quadrado, e que descreve a cor e o brilho característico de uma célula de imagem. Em uma imagem digitalizada cada pixel tem um valor numérico, correspondendo ao nível de sinal naquele ponto (MILANEZ, 2013).

Uma imagem analógica monocromática quando convertida a imagem digital , gera uma matriz em que cada ponto representa o nível de cinza da imagem naquele ponto. Se os valores de M e N são elevados, pode-se afirmar que a imagem possui alta resolução, ou seja, existe um grande número de pixels e, portanto, maior será a qualidade da imagem. De acordo com a Figura 3.

Figura 3. Imagem monocromática e sua representação em imagem digital



Fonte: VILAR, 2014.

2.6 Quimiometria

As análises seletoras e discriminatórias (Análise screening) são alternativas de substituição de análises químicas complexas por métodos mais simples e adequados na resolução de problemas como será que esse vegetal contém pesticida, esse aguardente foi adulterado, essa água está contaminada, esse alimento contém esse

composto na faixa de concentração adequada, essa urina contém esse princípio ativo, são questionamentos levantados que podem ser resolvidos usando a quimiometria.

Em outras palavras, trata-se de um procedimento preliminar de análise onde é possível a tomada de decisões com base nos resultados: Sim/Não, Presente/Ausente, continue/Pare, etc.

Para que uma análise dessa natureza seja aplicada de forma confiável e eficiente, torna-se necessário o emprego de métodos estatísticos de tratamento de dados. Neste contexto, as técnicas de reconhecimento de padrões (RP) se destacam quanto à grande aplicabilidade em Química, identificando similaridades e diferenças entre grupos de amostras que foram submetidas a algum tipo de análise (BEEBE, K. R., Pell, R. J., SEASHOLTZ, M. B., 1998).

Os métodos multivariados, provavelmente a que tem atraído mais interesse em aplicações analíticas, é a Calibração Multivariada (FERREIRA, et al., 1999). O processo geral de calibração consiste em duas etapas, uma que estabelece o modelo de calibração, obtido relacionando-se a matriz de dados das variáveis medidas (Matriz X) com a matriz de dados das propriedades de interesse (Matriz Y), e outra que utiliza o modelo estabelecido para estimar propriedades de amostras desconhecidas, a partir do seu sinal analítico.

Desta forma, o propósito da calibração é estabelecer uma relação matemática quantitativa que relacione, por exemplo, o espectro de infravermelho/ histograma e o parâmetro químico de interesse previamente determinado por uma técnica independente.

Uma vez estabelecido o modelo matemático, a análise de amostras pode ser feita com base no seu espectro. Existem várias técnicas de calibração multivariada, sendo as mais comuns a Regressão Linear Múltipla (MLR – Multiple Linear Regression), Regressão em Componentes Principais (PCR – Principal Component Regression) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS – Partial Least Squares Regression) (NASIR S., et al. 2021., WOLD, S. 1976). Neste trabalho foi utilizado MLR com seleção de variáveis stepwise.

Os modelos baseados em análise multivariada (tanto qualitativos como quantitativos) são construídos para serem empregados por um longo período de tempo, uma vez que necessitam de um número grande de amostras representativas (para incluir variabilidade ao modelo), e as mesmas precisam ser determinadas qualitativamente ou quantitativamente por algum método de referência, para tanto,

após essa calibração, o método de análise multivariada pode ser utilizado a partir desta análise sem a necessidade de voltar aos métodos de referência.

3. METODOLOGIA

3.1 Amostras

Para este trabalho foram utilizadas nove amostras de comprimidos comerciais de lotes, marcas e concentrações diferentes. As amostras foram adquiridas em farmácias locais de Campina Grande-PB, e nas concentrações do princípio ativo *Passiflora incarnata L.* variaram de 50 mg até 840 mg. As amostras foram acondicionadas em temperatura ambiente e diluídas com metanol e cloreto de alumínio, utilizando os parâmetros da curva de calibração, em seguida agitada em vórtex por cerca de 60 segundos.

3.2 Análise de Referência

Os valores de referência foram obtidos através do equipamento ultravioleta da marca Med Steel, foi realizado uma curva de calibração nas concentrações de 11 a 35 ppm de acordo com o indicado previamente na literatura (SANTANA, et al. 2017; SILVA, 2018).

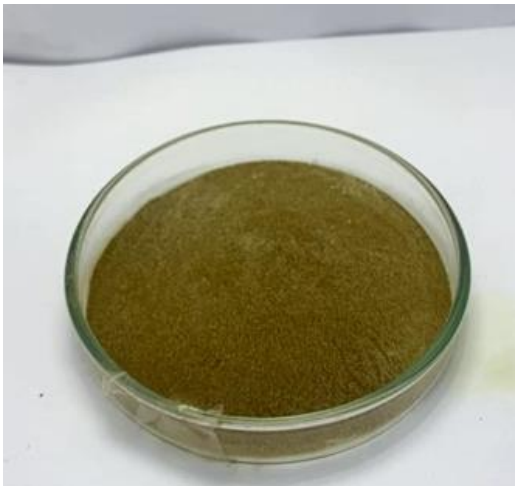
Foi construída a curva de calibração utilizando como padrão de Quercetina da Florien®. Selecionamos o comprimento como se deu na análise de referência em 415 mn, e uma varredura espectrométrica com uma solução de quercetina presente, a solução foi de cloreto de alumínio a 2% em metanol (SANTANA, et al. 2017).

3.3 Aquisição das Imagens

Para o processo de análise e obtenção das imagens, as amostras foram maceradas com auxílio de um almofariz e pistilo, como mostrado na Figura 4, e espalhados em placa de petri para aquisição nas imagens.

Nesta etapa maceramos o comprimido com grau e pistilo e após alguns segundos com a amostra preparada verificamos que se trata de uma substância higroscópica e que dificultou um pouco para ser retirada para inserir na placa.

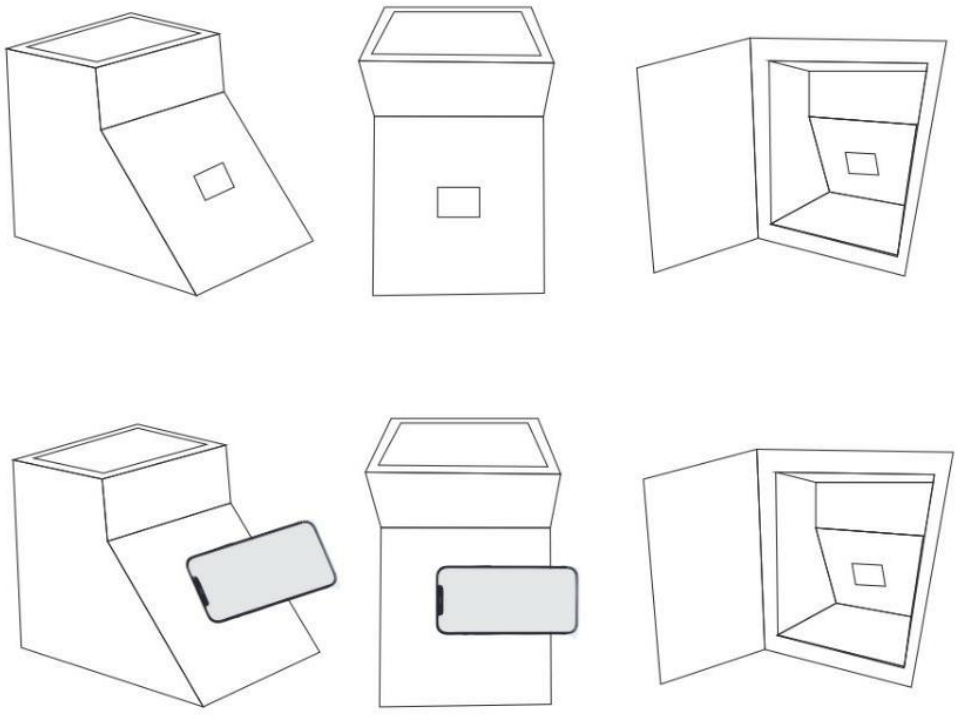
Figura 4. Amostra de medicamento *Passiflora incarnata L.*



Fonte: próprio autor, 2022.

A aquisição foi realizada com um smartphone em um compartimento de madeira devidamente iluminado com um celular smartphone conforme a Figura 5, a caixa é de madeira, forrada com folhas de oficio branca com suas dimensões 22 cm de largura e 25 cm altura.

Figura 5. Representação de sistema de aquisição de imagens.



Fonte: próprio autor, 2022.

3.4. Procedimento Quimiométrico e Software

Para determinação do teor de quercetina em medicamentos comerciais à base de *Passiflora incarnata L*. foram desenvolvidos modelos de calibração multivariada utilizando histogramas de imagens digitais e valores de referência adquiridos por ultravioleta.

Todo o procedimento de modelagem foi realizado utilizando as amostras de calibração com MLR utilizando seleção de variáveis (SW) e PLS aplicados ao espectro completo com determinação de fatores (variáveis latentes). A comparação dos modelos foi realizada para avaliação final empregando as amostras de predição.

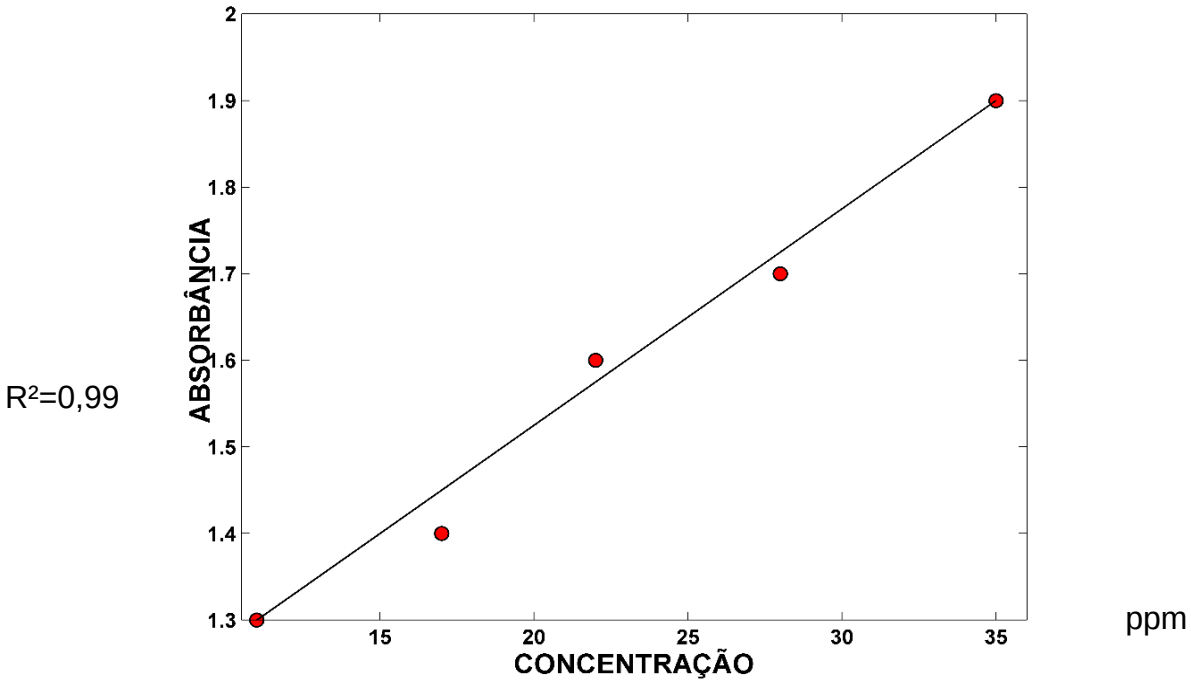
Os procedimentos de pré-processamento foram realizados utilizando o Unscrambler® X.1. Os algoritmos SPXY como usado na avaliação (RAMOS, 2015.) PLS e MLR/SPA foram realizados com algoritmos R2010 b (Mathworks, EUA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Curva de Calibração

Uma curva de calibração foi construída afim de avaliar os teores de quercetina nos medicamentos, a curva analítica pode ser observada na Figura 6;

Figura 6. Curvas analíticas obtidas para a quercetina.



Fonte: próprio autor, 2022.

Os parâmetros de regressão para o analito é mostrado na Tabela 1. Assim, como os valores de inclinação que estão associados à sensibilidade do modelo, o coeficiente de determinação (R^2) foi maior que 0,98 para a quercetina.

Tabela 1. Parâmetros analíticos para a curva de calibração de quercetina

	Equação de Regressão			
Analito	**Faixa linear de trabalho (mg L^{-1})**	**Intercepto (a)**	**Inclinaçao (b)[a]**	**R^{2} [b]**
QUERCETINA	11 – 35,00	0,0254	1,0066	0,986

[a]Análise de regressão linear usando a equação y = a + bx, onde x é a concentração em mg L^{-1}. [b]R^2 é o coeficiente de determinação.

4.2 Quantificação de Quercetina em amostras

Como apresentado na tabela 2 os valores de quercetina em 9 amostras foram inferiores aos indicados no rótulo. De fato, o monitoramento de medicamentos fitoterápicos é importante porque, quando o valor da concentração é inferior ao indicado no rótulo do produto, o tempo de ação destes pode ser reduzido e, consequentemente, a eficácia do produto pode ser diminuída. O tempo de ação que o medicamento leva no nosso organismo está relacionado com sua ação no mesmo, para chegar a seu sítio de ação um fármaco passa por alguns processos como o de biotransformação e mecanismos de primeira passagem em alguns casos, caso não se desintegre nas suas vias direcionadas e ocorra alguma interferência como por exemplo uma dose menor, que quando desintegrada perde sua ação antes mesmo de chegar ao seu alvo específico.

Tabela 2: Valores descritos no rótulo e encontrados através da técnica de espectrofotometria no ultravioleta.

As concentrações em parêntesis em mg.

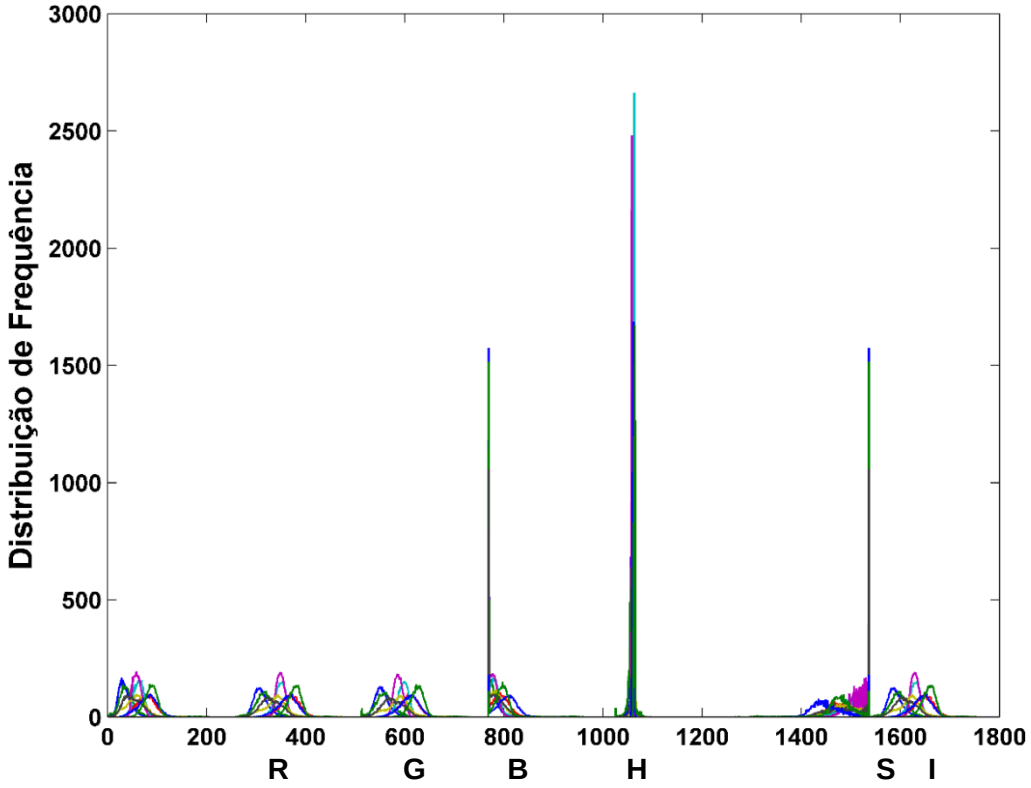
AMOSTRAS	CURVA UNIVARIADA (mG)
1 (420)	426
2 (420)	223,3
3 (320)	273,9
4 (525)	416,66
5 (182,93)	40,13
6 (50)	122
7 (260)	167,62
8 (600)	406
9 (260)	283,85

[a]Valor da concentração do princípio ativo indicado no rótulo do medicamento.

4.3 Histogramas

A figura 7 apresenta os histogramas para as 9 amostras dos medicamentos comerciais. Os histogramas foram obtidos em diferentes níveis de cores como cinza, R, G, B, H, S e I, estes histogramas foram decompostos através das imagens em quantidades de pixel em cada cor que existem 256 níveis, variando em um intervalo de 0 a 255 onde um total de 654 níveis de cores foram empregados para o cálculo, pois os números zeros foram retirados das matrizes.

Figura 7. Histogramas das nove amostras de medicamentos comerciais (*Passiflora incarnata L*.)



Fonte: próprio autor, 2022.

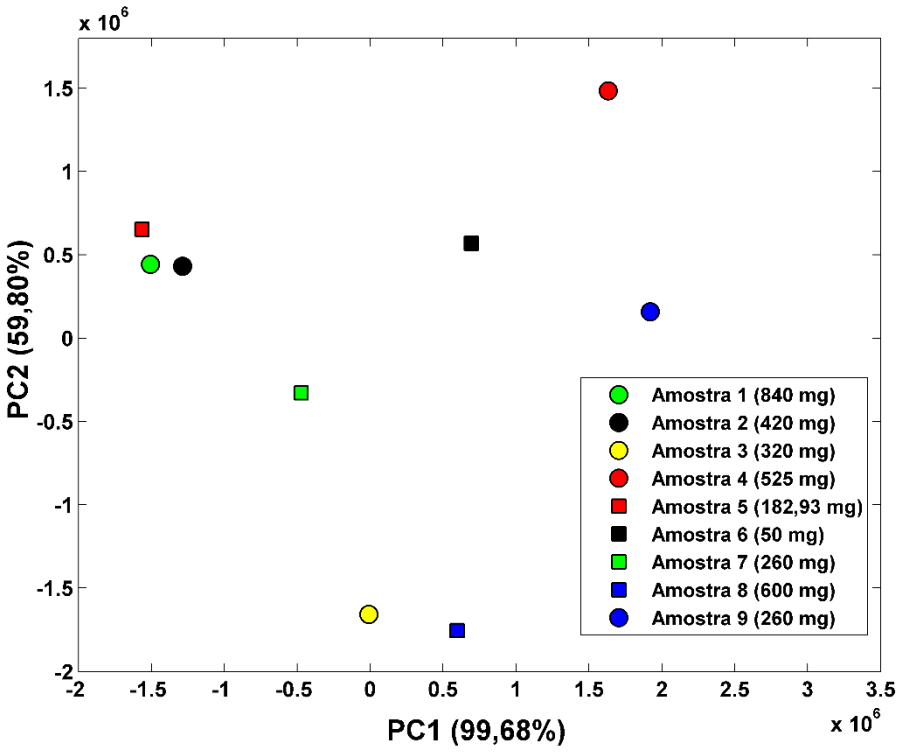
Como pode ser observado na Figura 7 os canais que apresentam uma maior informação são os canais B, H e S. O canal B, que representa a cor azul forma a cor secundária violeta que absorve na região de 415 nm no ultravioleta, sua cor complementar é amarelo-esverdeado (COSTA, 2008; SOUZA; MELLO; LOPES, 2011;

), o histograma obtido portanto existe uma relação entre as cores representadas nos histogramas com os medicamentos que tem uma tonalidade verde em sua cor complementar. Esta cor esverdeada refere-se a presença de flavonoides existente na *Passiflora incarnata L.*, apresentando assim uma relação com a quercetina.

4.4 Análise de Componentes Principais (PCA)

Foi realizada uma PCA a fim de verificar se existia uma tendência de separação pela concentração de passiflora nos medicamentos comerciais, o resultado pode ser observado na Figura 8.

Figura 8. Análise de componentes principais



Fonte: próprio autor, 2022.

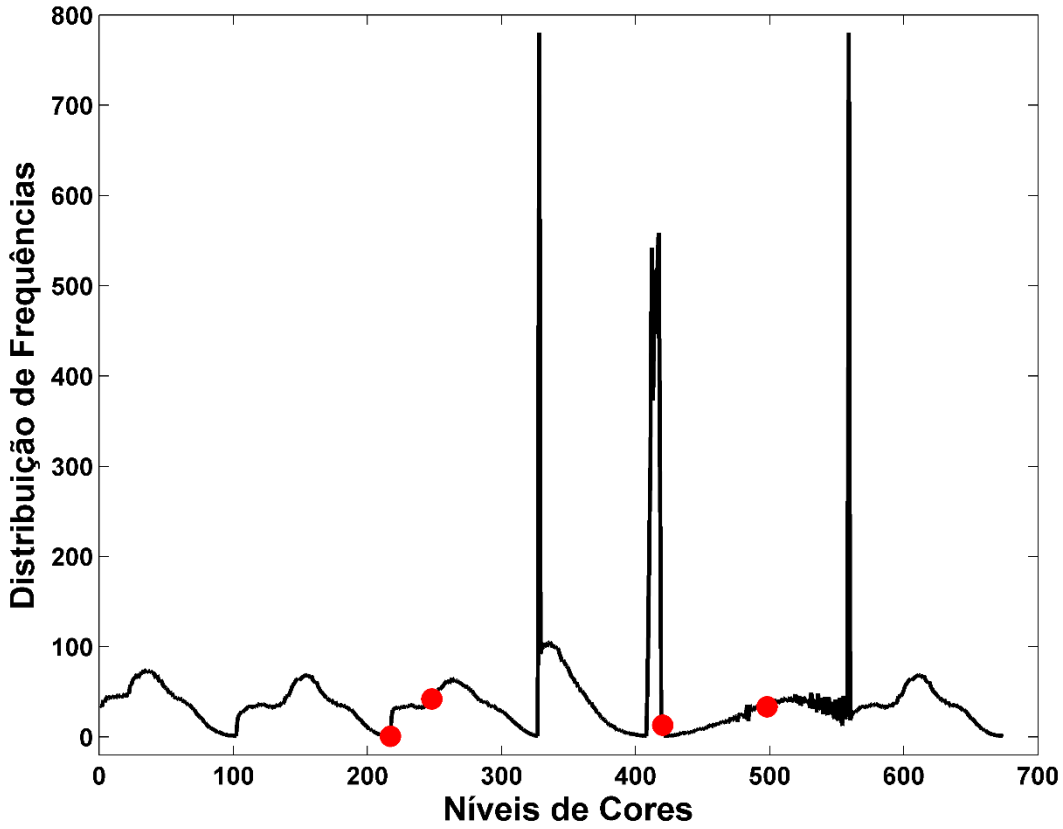
A PCA apresenta uma mistura entre os medicamentos de diferentes concentrações, portanto não há uma tendência de agrupamento apresentada, portanto torna-se necessário o auxílio de modelos de calibração para analisar o teor de quercetina nos medicamentos.

4.5 Modelo MLR/SW

Foi analisado o modelo de MRL com seleção de variável SW para análise dos teores de quercetina em medicamentos com *Passiflora incarnata L*. Outros métodos foram usados para avaliação mas o MRL foi o que se saiu melhor.

Na Figura 9 pode ser observada a curva o gráfico das variáveis que foram selecionadas.

Figura 9. Histograma médio com variáveis selecionadas.



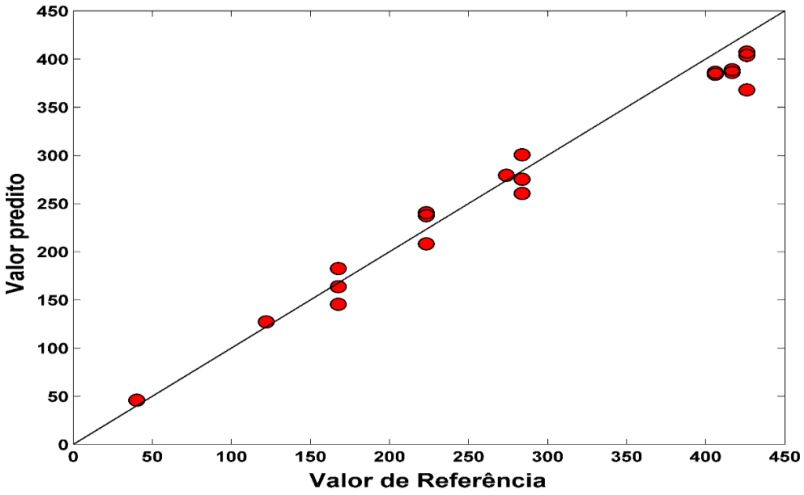
Fonte: próprio autor, 2022.

Conforme observado no gráfico das variáveis selecionadas (Figura 9), foram selecionadas 4 variáveis sendo duas no canal G referente ao verde, e duas sendo no

canal H e no S. Corroborando com a curva de calibração univariada realizada no ultravioleta na região amarelo- esverdeado em torno de 415 nm.

O modelo MLR/SW (Figura 10) apresentou, no geral, parâmetros satisfatórios com uma correlação para as amostras de predição aceitável (r=0,98968 e r^2= 0,96458) parâmetros estes que estão concatenados com os parâmetros da curva univariada (Tab. 1).

Figura 10.



Fonte: próprio autor, 2022.

Os valores de RMSEP foi de 21,72 mg, demonstrando a capacidade preditiva do modelo, apesar do valor elevado de RMSECV de 56,6968 mg (Figura 9). A fim de aumentar a variabilidade do modelo foi adicionada todas as 5 medidas das nove amostras.

Na tabela 3 estão dispostos os valores de concentração encontrados pela curva de calibração univariada e os estimados pelo modelo MLR/SW assim como os teores de passiflora que conta no rótulo do fabricante.

Tabela 3. Valores descritos no rótulo, encontrados através de método ultravioleta. E valores medidos por MLR/SW. As concentrações em parêntesis em mg.

AMOSTRAS	CURVA UNIVARIADA (mG)	MLR/ SW (mG)
1 (420)	426	407.2901
2 (420)	223,3	237.5100
3 (320)	273,9	279.3616
4 (525)	416,66	388.8069
5 (182,93)	40,13	45.9242
6 (50)	122	127.2919
7 (260)	167,62	145.4519
8 (600)	406	386.2086
9 (260)	283,85	260.5399

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho propôs uma metodologia simples, rápida e eficaz baseada em imagens digitais para o estudo do teor de quercetina em medicamentos comerciais à base de *Passiflora incarnata L*.

O modelo de calibração multivariada MLR/SW aplicada aos dados de imagens digitais versus o teor de quercetina encontrado, demonstrou ser promissor com erro de predição RMSEP relativamente baixo para os teores, bem como os valores de r, R^2 indicou uma correlação satisfatória entre os valores preditos pelo modelo e os valores encontrados pela curva de calibração univariada.

Se compararmos ao modelo de referência, notamos que esse método é bem mais fácil e se assemelha os resultados com o espectro.

A metodologia proposta tem como vantagens ser simples, rápida, necessita de quase nenhum preparo de amostra, não utilizar reagentes, ser de baixo custo e com resultados concordantes com os obtidos pelo método de referência. Tais características a tornam interessante, tanto para auxiliar no controle de qualidade de medicamentos por parte da indústria, quanto para a utilização por órgãos fiscalizadores dada a necessidade de métodos alternativos eficientes que proporcionem agilidade e redução de custos de produção.

REFERÊNCIAS

ALVES, A. M. P.; ALVES E. P. B.; BUTTOW, N. C.; PERLES, J. V. C. M.; ZANONI, J. N.; STABILLE, S. R. **Aspectos gerais e abordagem terapêutica da quercetina sobre as complicações do diabetes causadas pelo estresse oxidativo**. Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR, Umuarama, v. 14, n. 2. 2010

ALVES, L. F. **Produção de fitoterápicos no Brasil: história, problemas e perspecivas.** Revista Virtual de Química, v. 5, n., 2013.

ANDRADE, O. L.; HOLANDA, B. F. D. L. A.; DOS ANJOS, N. S.;MELO, J. A., DA SILVA, I. A.;SILVA, J. G.; MELO, E. R. D. **Análise da atividade anti-inflamatória da espécie passiflora incarnata linnaeus.(Maracujá Vermelho)**. Brazilian Journal of Development. 2021.

ARAÚJO, K. A. **Conhecimento local e o uso de plantas medicinais em Boa Vista/Roraima: novas estratégias em saúde coletiva**. Manaus, 2018.

BRASIL. **Medicamentos genéricos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa Brasília-DF, 2020.

BRASIL. **Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2016.

BRASIL. **Monografia da espécie *Passiflora incarnata linnaeus* (maracujá-vermelho).** Ministério da Saúde e Anvisa. Brasília-DF, 2015.

BRASIL. **Primeiro Suplemento do Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília-DF, 2018.

BRASIL. **Programa de Plantas Medicinais e Terapias Não-convencionais**. Governo Federal, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde Departamento de atenção Básica. **Práticas Integrativas e Complementares Plantas Medicinais e Fitoterapia na Atenção Básica**. Brasília-DF, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde Secretaria de Ciência **Tecnologia e insumos estratégicos departamento de assistência farmacêutica.** Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília-DF, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 14, de 31 de Março de 2010, dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos**. Diário Oficial da União.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 37, de 06 de Julho de 2009, trata da admissibilidade das Farmacopéias estrangeiras**. Diário Oficial da União.

BEHLING, E. V.;SENDÃO, M. C.;FRANCESCATO, H. D. C.;ANTUNES, L. M. G., ;BIANCHI, M. D. L. P. **Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas**. 2008.

BERNACCI, L. C.; WANDERLEY, M.G. L.; SHEPHERD, G.J.; GIULIETTI, A. M.; MELHEM, T. S. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo, 2003.

BERMUDEZ, J. **Generic drugs: an alternative for the Brazilian market.** Rio de Janeiro,1994.

BEEBE, K. R.;PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B**. Chemometrics a practical guide. New York: John Wiley Y Sons,** 1998.

CAMPOS, G. L. R.; DO NASCIMENTO, L. M. F.;DA SILVA, M. T. **Medicamentos Fitoterápicos mais comercializados de 2020 a 2021 em uma drogaria situada em Manaus-AM–Brasil**. 2021.

CARVALHO, A. C. B.;BRANCO, P. F.;FERNANDES, L. A.;MARQUES, R. F. D. O., CUNHA, S. C.; PERFEITO, J. P. S. **Regulação brasileira em plantas medicinais e fitoterápicos**. 2013.

COSTA, A. R. T. **Aplicação do ensaio de dissolução na avaliação da qualidade de medicamentos fitoterápicos à base de Passiflora sp.** 2008.

CORREIA, T. P. C.;RAMOS; M. E., DA SILVA, B. R.;BRAGANÇA, C.;CRUZ, A. U.; DE MENDONÇA, G. S. **A utilização da *Passiflora incarnata L*. No tratamento da ansiedade.** 2021.

CORREIA, C. C. M. **As plantas medicinais: o resgate da sabedoria popular**. Matinhos, 2011.

DANTAS, LP; DE OLIVEIRA;RIBEIRO, A; DE ALMEIDA; SOUZA LM. **Effects of passiflora incarnata and midazolam for control of anxiety in patients undergoing dental extraction**. 2017.

DANTAS, M. M. **Formas farmacêuticas fitoterápicas de uso tópico: uma revisão bibliográfica.** Cuité-PB 2018.

OLIVEIRA, LUCAS; FILHO, ANTONIO; PORFIRO, CINTHIA. **Uso da *Passiflora incarnata L.* no tratamento alternativo de ansiedade generalizada**. São Paulo, 2020.

DE SANTANA, A. R., DE JESUS, O. N., BRANDÃO, H. N., & ALVES, C. Q. **Quantificação de flavonoides e fenólicos totais em extratos de folhas de acessos de Passiflora suberosa e híbrido.** 2017.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. **Anti-anxiety studies on extracts of Passiflora incarnata Linneaus.** Journal of ethnopharmacology, v. 78, n. 2-3, 2001.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. **Passiflora: a review update**. Journal of ethnopharmacology, v. 94, n. 1, 2004.

GOMES, S. V. F. **Aplicação do planejamento Box-Behnken na otimização de método de extração de flavonoides usando extração acelerada com solventes (ASE) e quantificação de marcadores químicos por CLAE-DAD-UV em espécies do gênero Passiflora.** 2014.

SOUZA, G. H. B.; MELLO, J. C. P.; NORBERTO P. L.**Farmacognosia: coletânea científica**. Ouro Preto-MG, 2011.

HASENCLEVER, L.;PARANHOS, J.; COSTA, C. R., CUNHA, G.;VIEIRA, D.**The Brazilian phytotherapics industry: challenges and opportunities.** Ciencia & saude coletiva, v.22, 2017.

FERREIRA, M., ANTUNES, A. M., MELGO, M. S., & VOLPE, P. L. **Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial**. Química Nova, v. 22. Campinas – SP, 1999.

FIGUEREDO, C. A. D., GURGEL, I. G. D., & GURGEL JUNIOR, G. D. **A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios**. Physis: Revista de Saúde Coletiva, 2014.

FONSECA, L. R. D. **Desenvolvimento de solução oral a base de *Passiflora incarnata L*.** Dissertação (Mestrado em Gestão, Pesquisa e Desenvolvi mento na Indústria Farmacêutica) Instituto de Tecnologia em Fármacos/Farmanguinhos, Rio de Janeiro, 2013.

JANDA, K.; WOJTKOWSKA, K.; JAKUBCZYK, K.; ANTONIEWICZ, J.; SKONIECZNA-ŻYDECKA, K. **Passiflora incarnata in Neuropsychiatric Disorders-A Systematic Review**. 2020

LIMA, J. Q. A. D. **Revisão da literatura sobre o gênero Neosilba (Tephritoidea: Lonchaeidae) e a probabilidade de ocorrência em pomares de goiaba**. 2022.

LOPES, MAYKE WILLIAN; TIYO, ROGERIO; ARANTES, VINICIUS PEREIRA. **Utili-**

zação de passiflora incarnata no tratamento da ansiedade. Uningá Review, v. 29, n.2, 2017.

MARQUES, F.;VIEIRA, N.; HUGO. **Processamento Digital de Imagens**, Rio de Janeiro. 1999.

MAGALHÃES, B. S.; ROCHA, M. S. D. **A presença do Medicamento Similar na intercambialidade.** Revista Acadêmica Oswaldo Cruz, v. 3, n. 11, 2016.

RUTA, M.; JURGA, B.; RUTA, B.;SAULE, V. **Antiradical activities of the extract of Passiflora incarnata. Acta Pol Pharm**, v. 65, n. 5. 2008.

MILANEZ, K. D. T. D. M. **Classificação de óleos vegetais comestíveis usando imagens digitais e técnicas de reconhecimento de padrões**. 2013.

MIRODDI, M.; CALAPAI, G.; NAVARRA, M.; MINCIULLO, P.L.; GANGEMI, S. **Passiflora incarnata L.: Ethnopharmacology, clinical application, safety and evaluation of clinical trials.** Journal of Ethnopharmacology. 2013.

WALACE M. M. **Modificação de matrizes em análise espectroscópica por Raman e infravermelho médio.** 2021.

NASIR, S.; MAJEED, MI.; NAWAZ, H.; RASHID, N.; ALI, S.; FAROOQ, S.; KASHIF M; RAFIQ, S.; BANO, S.; ASHRAF,MN.; ABUBAKAR, M.; AHMAD, S.; REHMAN, A.; AMIN, I.; **Surface enhanced Raman spectroscopy of RNA samples extracted from blood of hepatitis C patients for quantification of viral loads.** Photodiagnosis Photodyn Ther. v. 33. 2021.

NICOLUCCI, C. **Avaliação funcional da quercetina como potencial agente psicoterapêutico em modelo animal de exposição aguda por cocaina.** Bragança Paulista, 2019.

INÊS, D. A.; SOUSA;NORTE. **Desenvolvimento e caracterização de sistemas automicroemulsificantes a partir de um extrato seco de Passiflora incarnata L**. Universidade de Coimbra, 2016.

PEREIRA, G. S. **Ação inibitória dos flavonoides quercetina e rutina sobre a ativação de neutrófilos humanos**. 2017.

PEREIRA, S. M. T. **O uso medicinal da Passiflora incarnata L.** Universidade de Coimbra, 2014.

PESSOLATO, J. P.;DE PAULA RODRIGUES, S.; SOUZA, D. A.; BOIATI, R. F. **Avaliação do consumo de Valeriana e Passiflora durante pandemia COVID-19.** Brazilian Journal of Health Review. 2021.

PUBCHEM. **National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information.** 2004.

RAMOS, J. S. **Algoritmo co-evolutivo para particionamento de dados e seleção de variáveis em problema de calibração multivariada.** Goiânia, 2015.

QUEIROZ, J. E. R.; GOMES, H. M. **Introdução ao Processamento Digital de Imagens**. v. 8, n. 1, 2001.

GAD, R. A.,; ABDEL-REHEIM, E. S.; EBAID, H.; ALHAZZA, I. M.; ABUELSAAD, A. S. **Mitigating effects of Passiflora incarnata on oxidative stress and neuroinflammation in case of pilocarpine-Induced status epilepticus model**. Journal of King Saud University-Science. 2022.

SABIN, J. G.;FERRÃO, M. F.; FURTADO, J. C. **Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 2004.

SANTOS, A. P. M.; GALINDO, A. S.; DE SOUZA QUEIROZ, E. **Propriedades neuropsicos e farmacológicas, compostos quimicamente ativos e uso**

medicinal da passiflora incarnata. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 12. 2020.

KEILA, C. D. S. **Imagens digitais e térmicas, espectroscopia NIR e calibração multivariada na avaliação de parâmetros de textura de farinhas**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2022.

SILVA, F. E. P. D. **Avaliação de parâmetros físico químicos de qualidade de medicamentos fitoterápicos a base de passiflora SSP**. Cuité-PB, 2018.

TANKANOW, R;TAMER, HR; STREETMAN, DS; SMITH,SG; WELTON, JL; ANNESLEY, T; AARONSON, KD; BLESKE, BE. **Interaction Study between digoxin and a preparation of hawthorn (Crataegus oxyacantha).** J Clin Pharmacol. 2003.

TENÓRIO, P. K. C. **O efeito antioxidante da quercetina em doenças crônicas não transmissíveis: uma revisão de literatura.** João Pessoa, 2014.

VERLY, BIANCA SANT'ANA; DOMINATO, ANGÉLICA AUGUSTA GRIGOLI. **Identificação de adulterantes benzodiazepínicos em medicamentos fitoterápicos.** São Paulo, 2014.

VILAR, W. T. S. **Classificação individual de sementes de mamona usando espectroscopia de reflectância no visível, imagens digitais e análises multivariadas.** Dissertação de Mestrado (Mestrado em Química) – Laboratório de Automação e Instrumentação em Química Analítica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

WOLD, S. **Pattern recognition by means of disjoint principal component models.** 1976.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó, 2001.