

UNIVERSIDADE ANHANGUERA DE SÃO PAULO
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* E PESQUISA
MESTRADO EM FARMÁCIA

Karla de Pícoli Alexandre

**CARACTERIZAÇÃO FARMACODIAGNÓSTICA DE GUAÇATONGA (*Casearia
sylvestris* SW) E PORANGABA (*Cordia salicifolia* ou *Cordia ecalyculata* Vell. /
Boraginaceae)**

SÃO PAULO

2016

UNIVERSIDADE ANHANGUERA DE SÃO PAULO
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* E PESQUISA
MESTRADO EM FARMÁCIA

Karla de Pícoli Alexandre

CARACTERIZAÇÃO FARMACODIAGNÓSTICA DE GUAÇATONGA (*Casearia sylvestris* SW) E PORANGABA (*Cordia salicifolia* ou *Cordia ecalyculata* Vell. / Boraginaceae)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Farmácia, da Universidade Anhanguera de São Paulo, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina Marcucci Ribeiro

Coordenadora: Profa. Dra. Regina Mara Silva Pereira

SÃO PAULO

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Alexandre, Karla de Pícoli

Caracterização farmacodiagnóstica de guaçatonga (*Casearia sylvestris* SW) e porangaba (*Cordia salicifolia* ou *Cordia ecalyculata* Vell. / Boraginaceae)
Karla de Pícoli Alexandre

70 páginas

Área de concentração: Mestrado Profissional em Farmácia, área de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Maria Cristina Marcucci Ribeiro.

Dissertação de Mestrado – Coordenadoria de Pós Graduação, Universidade Anhanguera de São Paulo.

Palavra chave: 1. *C.sylvestris*; 2. *C.salicifolia*; 3. Controle de qualidade.

Dissertação apresentada à Banca Examinadora da Universidade Anhanguera de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Farmácia, e aprovada em 14 de dezembro de 2016, pela comissão examinadora.

CARACTERIZAÇÃO FARMACODIAGNÓSTICA DE GUAÇATONGA (*Casearia sylvestris* SW) E PORANGABA (*Cordia salicifolia* ou *Cordia ecalyculata* Vell. / Boraginaceae)

Karla de Pícoli Alexandre

Profa. Dra. Maria Cristina Marcucci Ribeiro

Orientadora

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Maria Cristina Marcucci Ribeiro

Presidente

Prof. Dr. Claudemir de Carvalho - FUNVIC

Profa. Dra. Marcela da Rocha Carrilho – UNIAN-SP

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho

A minha família, e a minha orientadora
Profa. Dra. Maria Cristina Marcucci Ribeiro
pelo apoio, força, incentivo e dedicação.
Sem eles nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

Nada foi fácil, nem tampouco tranquilo, mas cheguei até aqui.

A minha família.

Mãe, mulher incrível e inspiradora que me deu educação e ensinou valores. Que me alfabetizou e me fez acreditar que com persistência e perseverança alcançaria meus objetivos. Há tempos ela me falou: “Estude minha filha, porque o conhecimento ninguém pode tirar de você”. E eu acreditei!

A minha irmã, que apesar da distância me incentivou e sempre se dispôs em ajudar quando encontrei dificuldades. “É irmã, foi um longo e árduo caminho percorrido até aqui, mas conseguimos”!

Ao meu esposo e filho, pelo incentivo, paciência, e compreensão. Fatores essenciais para a concretização desse trabalho.

A Profa. Dra. Maria Cristina Marcucci Ribeiro, minha orientadora e exemplo de profissional que não permitiu que meu sonho fosse interrompido. Tem a minha gratidão!

Aos professores Dr. Luis Carlos Marques e Flavio Sussumu Yasuda que contribuíram para que este trabalho pudesse ser realizado. Às professoras Dra. Fatima Cristina Barreiro e Profa. Dra. Marcela da Rocha Carrilho, que aceitaram compor a minha banca de qualificação.

A todos os colegas e professores da pós graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, pelo convívio e aprendizado.
Ninguém vence sozinho. Obrigada a todos!

*“Talvez eu não tenha conseguido fazer o melhor,
mas lutei para que o melhor fosse feito.”*

ALEXANDRE, Karla de Pícoli. **Caracterização farmacodiagnóstica de guaçatonga (*Casearia sylvestris* SW) e porangaba (*Cordia salicifolia* ou *Cordia ecalyculata* Vell. / *Boraginaceae*).** 2016. 70fls. Dissertação de Mestrado – Programa de Mestrado Profissional em Farmácia – Universidade Anhanguera de São Paulo, São Paulo, 2016.

RESUMO

O mercado varejista de plantas medicinais composto por farmácias, drogarias e ervanarias, e atualmente sem mínima regulamentação em feiras-livres, não está livre de adulteração e/ou confusão de plantas e espécies. No comércio de plantas as Rubiáceas são habitualmente usadas como adulterantes das *Cordia salicifolia* Cham. A *C.sylvestris* é utilizada como adulterante de *C.salicifolia*, conhecida popularmente como porangaba, a qual é comercializada com suposta ação emagrecedora, aumentando desta forma, a ação antrópica sobre a espécie. Baseado no exposto, a proposta deste trabalho foi a de analisar o padrão de qualidade de drogas vegetais de guaçatonga e porangaba encontradas no mercado e utilizadas para fins terapêuticos. Para tanto, avaliou-se as amostras atendem aos requisitos de qualidade, referentes à autenticidade das plantas, determinou-se as características macroscópicas e organolépticas das drogas vegetais, avaliou-se o teor de extrativos, perda por dessecação e umidade, realizou-se uma análise fitoquímica preliminar no intuito de averiguar a presença de classes de marcadores e o teor de fenóis e flavonoides totais nas duas drogas vegetais estudadas. Com respeito às características macroscópicas e microscópicas, concluiu-se que as amostras comercializadas tratavam-se de verdadeiras espécimes de guaçatonga e porangaba. Com respeito ao controle de qualidade, o teor de cinzas totais, foi de 8,91% e 10,99% para a guaçatonga e a porangaba, respectivamente. Os códigos oficiais estabelecem o valor máximo de 10,0%, concluindo que a amostra de porangaba estaria fora desses padrões. Os parâmetros encontrados para a *C.sylvestris* estavam dentro da normalidade. O teor de extrativos determina a quantidade de substâncias com possibilidade de serem extraídas por um determinado solvente, no caso a água quente. O resultado obtido para guaçatonga foi de 15,42% e de 15,00% para a porangaba. Os valores de umidade para ambas as plantas foram menores empregando-se a técnica de infravermelho, quando comparada à de perda por dessecação em estufa. Os dados obtidos mostram grupos de substâncias que podem ser empregadas na caracterização da matéria-prima e mesmo de produtos acabados, como flavonoides, alcaloides, saponinas, dentre outros. O teor de fenóis totais na *C.sylvestris* foi muito maior quando comparado ao encontrado na *C.salicifolia*, enquanto que o teor de flavonoides totais foi muito similar entre as duas plantas analisadas. Os resultados apresentados contribuíram para estabelecer alguns parâmetros de qualidade das drogas vegetais analisadas.

Palavras-chave: *C.sylvestris*; *C.salicifolia*; Controle de qualidade.

ALEXANDRE, Karla de Pícoli. **Pharmacodiagnostic characterization of guaçatonga (*Casearia sylvestris* SW) and porangaba (*Cordia salicifolia* or *Cordia ecalyculata* Vell./Boraginaceae).** 2016. 70 pages. Master Thesis - Master Professional Program in Pharmacy - University Anhanguera of São Paulo, São Paulo, 2016.

ABSTRACT

The market of medicinal plants, consisting of pharmacies, drugstores and herbal stores and without minimum regulation in fairs, is not free of adulteration and/or confusion of plants and species. In plant trade, Rubiaceae are commonly used as adulterants of *Cordia salicifolia* Cham. *C. sylvestris* is used as an adulterant of *C. salicifolia*, popularly known as porangaba, which is marketed with a supposed of dietary action, increasing in this way, the anthropic action on the species. Based on the mentioned above, the proposal of this work was to analyze the quality parameters of guaçatonga and porangaba found on the market and used for therapeutic purposes. For that, the samples were evaluated with respected to the quality requirements, regarding the authenticity of the plants. The macroscopic and organoleptic characteristics of the vegetal drugs were determined, extractive content, desiccation loss and humidity were evaluated. Preliminary phytochemical analysis in order to identify the presence of classes of markers and the total phenol and flavonoid content in the two studied plant drugs was developed. With respect to the macroscopic and microscopic characteristics, it was concluded that the samples commercialized were true specimens of guaçatonga and porangaba. With regard to quality control, the total ash content was 8.91% and 10.99% for guaçatonga and porangaba, respectively. The official codes establish the maximum value of 10.0%, showing the porangaba would be outside these standards. The parameters found for *C. sylvestris* were within normal range. The extractive content determines the amount of substances that can be extracted by a certain solvent, in this case, hot water. The result obtained for guaçatonga was 15.42% and 15.00% for porangaba. The values of humidity for both plants were smaller using the infrared technique, when compared to the loss by oven desiccation. The data obtained show groups of substances that can be used in the characterization of the raw material and even finished products, such as flavonoids, alkaloids, saponins, among others. The content of total phenols in *C. sylvestris* was much higher when compared to that found in *C. salicifolia*, while the total flavonoids content was very similar between the two plants analyzed. The results presented contributed to establish some quality parameters of the vegetal drugs analyzed.

Key-words: *C. sylvestris*; *C. salicifolia*; Quality control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Aspectos da <i>C.sylvestris</i>	21
Figura 2 – Estrutura química da rutina identificada em <i>C.sylvestris</i>	22
Figura 3 – Diterpenos clerodânicos isolados de <i>C. sylvestris</i>	23
Figura 4 – CCD da análise dos extratos de flores e folhas de <i>C. sylvestris</i>	24
Figura 5 – Estrutura química do α -zingibereno, componente majoritário do óleo das folhas de <i>C.sylvestris</i>	25
Figura 6 – Aspectos da <i>C.salicifolia</i>	28
Figura 7 – Estruturas químicas do espatulenol (1) e do β -sitosterol (2).....	30
Figura 8 – Estruturas químicas da alantoína e do ácido gamalinolênico, encontrados em <i>C.salicifolia</i>	30
Figura 9 – Estrutura química do (+)-espatulenol encontrado em <i>C.salicifolia</i>	31
Figura 10 – Margens foliares de <i>Casearia sylvestris</i> e <i>Casearia</i> spp.....	44
Figura 11 – Características macroscópicas da <i>Casearia sylvestris</i>	45
Figura 12 –Imagens com detalhes ampliados das folhas de <i>C.salicifolia</i>	46
Figura 13 – Microscopia da folha de <i>C.sylvestris</i>	47
Figura 14 – Primórdio foliar de <i>C.sylvestris</i> mostrando glândulas sobmicroscopia óptica (A, B, G e H) e microscopia eletrônica de varredura (C-F).....	48
Figura 15 – Microscopia da folha de <i>C.salicifolia</i>	50
Figura 16 – Descrição microscópica da <i>C.salicifolia</i>	51
Figura 17 – Teor de fenóis e flavonoides totais (%) na <i>C.sylvestris</i> e na <i>C. salicifolia</i>	54
Figura 18 – Cromatograma em UHPLC-UV de uma amostra de <i>C. sylvestris</i> .	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –Constituintes principais no óleo de folhas de <i>C.sylvestris</i>	22
Tabela 2 – Relação de reagentes utilizados nas análises.....	34
Tabela 3 – Relação dos equipamentos utilizados nas análises.....	35
Tabela 4 – Resumo da análise microscópica da <i>C.salicifolia</i>	51
Tabela 5 – Resultado dos testes físicos da <i>C.sylvestris</i> Sw e da <i>C. salicifolia</i>	52
Tabela 6 – Resultados da abordagem fitoquímica preliminar	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CE 50	Concentração que elimina 50% dos radicais livres
DPPH	Radical livre 2,2–difetil–1–picril–hidrazila
EM	Espectrômetro de massas
EMA	Adulteração Economicamente Motivada
FDA	Food and Drug Administration – Órgão dos Estados Unidos controlador de alimentos e medicamentos
FID	Flame Ionization Detector – Detector de Ionização de Chama
g	Grama
g/mL	Gramas por mL
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HPLC-DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de Arranjos Diodo
HPLC-DAD-IES-MS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de Arranjos Diodo, utilizando a interface <i>electrospray</i> como fonte de íons e Espectrômetro de Massas
HPLC-MS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplado ao Espectrômetro de Massas
HPLC-UV	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de Ultravioleta
MPa	Mega Pascal
MS	Espectrometria de massas
MS/MS	Espectrometria de Massas Tandem
nm	Nanômetro
PCA	Análise de Componentes Principais – Principal Component Analysis
PCR	<i>Principal Component Analysis</i> – Regressão por análise dos componentes principais.
PHAs	Hidrocarbonetos poliaromáticos
UHPLC-MS/MS	Cromatografia líquida de Ultra Eficiência com Espectrômetro de Massas em Tandem
µg/mL	Microgramas por mililitro
µm	Micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Objetivo.....	18
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1 <i>Casearia sylvestris</i>	19
2.1.1 Composição química da <i>C.sylvestris</i>	21
2.1.2 Atividade biológica da <i>C.sylvestris</i>	26
2.1.3 Segurança de uso da <i>C.sylvestris</i>	26
2.2. <i>Cordia salicifolia</i>	27
2.2.1 Composição química da <i>C.salicifolia</i>	29
2.2.2 Atividade biológica da <i>C.salicifolia</i>	31
2.2.3 Segurança de uso da <i>C.salicifolia</i>	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1 Reagentes e equipamentos.....	34
3.2 Coleta, identificação e processamento do material vegetal.....	35
3.2.1 Obtenção do material botânico.....	35
3.2.1.1 <i>C.salicifolia</i>	35
3.2.1.2 <i>C.sylvestris</i>	35
3.2.2 Caracterização macroscópica.....	35
3.2.3 Análise organoléptica e morfoanatômica.....	35
3.2.3.1 Testes histoquímicos.....	36
3.2.3.2 Aspectos morfológicos.....	36
3.2.4 Aspectos gerais de pureza.....	36
3.3 Análises físico-químicas.....	37
3.3.1 Determinação do teor de cinzas totais.....	37
3.3.2 Análise química preliminar.....	37
3.3.2.1 Identificação de flavonoides.....	37
3.3.2.2 Identificação de taninos.....	38
3.3.2.3 Identificação de saponinas.....	39
3.3.2.4 Identificação de antracênicos livres.....	39
3.3.3 Análises quantitativas.....	39

3.3.3.1 Determinação do teor de extrativos.....	39
3.3.3.2 Quantificação de fenóis totais.....	40
3.3.3.2.1 Curva padrão.....	40
3.3.3.3 Quantificação de flavonoides totais.....	40
3.3.3.3.1 Determinação do teor de flavonoides totais – expressos em quercetina.	41
3.3.3.3.2 Determinação de flavonoides totais nos extratos.....	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1 Caracterização organoléptica e macroscópica da <i>C.sylvestris</i> e da <i>C.salicifolia</i>	42
4.2 Descrição microscópica da <i>C.sylvestris</i> e da <i>C.salicifolia</i>	46
4.3 Aspectos de pureza.....	51
4.4 Análise fitoquímica preliminar.....	52
4.5 Quantificação de fenóis e flavonoides totais.....	52
5 CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS.....	57
ANEXO 1 - Teores de cinzas, umidade e extrativos.....	65
ANEXO 1 - Teores de cinzas, umidade e extrativos (cont.).....	66
ANEXO 2 - Resultados da determinação de fenóis totais (%) para a <i>C.sylvestris</i> e <i>C.ecalyculata</i>	67
ANEXO 3 - Resultados da determinação de flavonoides totais para a <i>C.sylvestris</i> e <i>C.ecalyculata</i>	68

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a comunidade científica vem ampliando gradativamente as pesquisas em relação ao potencial terapêutico das plantas. Ao mesmo tempo, o interesse pela ecologia, assim como uma procura cada vez maior pelas terapias alternativas faz com que a divulgação dos resultados dessas pesquisas tenha uma repercussão muito maior do que anteriormente (SOEJARDO, 1996; CARNEIRO et al., 2014; VENDRAMINI et al., 2014).

Entretanto, o controle de qualidade é imprescindível quando se trata de plantas medicinais, este deve ser feito desde o plantio, colheita e até que a droga vegetal esteja apta para o consumo. Devem ser verificados os constituintes químicos da espécie que caracterizam as atividades farmacológicas e suas possíveis reações adversas, deve ser identificada a espécie botânica para evitar fraudes e contaminações com materiais estranhos, realizar estudos microbiológicos, pois, podem existir alguns micro-organismos patogênicos para o homem ou que sejam responsáveis pela diminuição da eficácia do material vegetal (NASCIMENTO et al., 2005; SOUSA-MOREIRA et al., 2010; DE SOUZA, 2015).

A *Casearia sylvestris* (*C. sylvestris*) é vastamente utilizada na medicina popular da América Latina, sendo de aplicação diversa, principalmente em comunidades indígenas. O uso dessa planta é descrito como cicatrizante para doenças da pele (HOWARD, 1989; USDA, 2004) anestésico tópico, antidiarreico, antiespasmódico, antihemorrágico, antimicrobiano, antiofídico, antirreumático, antisséptico, antiulcerogênico, antioxidante, anti-inflamatório, calmante, depurativo do sangue, diurético, estimulante da circulação e fungicida (SCAVONE et al., 1979; BASILE et al., 1990; ITOKAWA et al., 1990; CARVALHO et al., 1998; BORGES et al., 2000; SANTOS et al., 2010; ANTINARELLI et al., 2015).

A porangaba (*Cordia salicifolia* Cham., *C. salicifolia*) da família *Boraginaceae*, cujo nome botânico também é aceito como *Cordia ecalyculata* Vell., pode ser chamada popularmente de: bugrinho, café-do-mato, cafezinho, caraíba, chá-de-bugre, chá-de-frade, chá-de-soldado, laranja-do-mato, laranjinha-do-mato, lourosalgueiro, rabugem, *lbugre-tea*, *araticú*, *bois d'Inde* (CORRÊA, 1984). Poucos estudos estão registrados na literatura sobre a *Cordia salicifolia*. Foram encontrados cafeína, sais de potássio, alantoína, ácido, hidróxiésteres alifáticos, tritriacontano, além de flavonoides,

saponinas, taninos e mucilagens (SAITO, 1986). Também foram encontrados o (+) espatulenole α -sitosterol (MENGHINI et al., 2008). Existem poucos relatos na literatura sobre a atividade biológica da *C. salicifolia*. Alguns destes informam sobre a sua ação sobre o vírus herpes 1 (HAYASHIET AL., 1990) e uma atividade muito fraca como inibidor do crescimento de *Helicobacter pylori in vitro* (MENGHINI et al., 2008).

A porangaba tem sido utilizada popularmente como promotora de emagrecimento (CAPARROZ-ASSEF et al., 2005; ASSONUMA, 2009; PELIZZA, 2010; ARALDI et al., 2014).

No comércio de plantas, as Rubiáceas são habitualmente usadas como adulterantes das *Cordia salicifolia* Cham. descrita por Alves (2004). Segundo DA SILVA (2003) a *C. sylvestris* é utilizada como adulterante de *Cordia salicifolia*.

Além da confusão gerada pelas características morfológicas semelhantes, a possibilidade de adulteração de preparações vegetais pode estar também ligada a diversidade de nomes vernaculares que são atribuídos às plantas, que podem variar para cada região do Brasil (LORENZI; MATOS, 2002). Nomes populares (vulgares ou regionais) variam de local para local, de região para região, de um país para outro, podendo uma mesma planta ter diversas denominações e uma denominação ser comum para diversas plantas. No Brasil, diversas espécies são denominadas “guaçatonga”, uma das plantas avaliadas no presente estudo, sendo que a mesma denominação popular somada à semelhança vegetativa entre as espécies ocasiona, muitas vezes, dificuldades na sua identificação. Algumas espécies (por exemplo, *Casearia sylvestris* Swartz, *Casearia obliqua* Spreng. e *Casearia decandra* Jacq.) são muito semelhantes vegetativamente (TORRES; YAMAMOTO, 1986).

A maioria dos produtos é comercializada a partir de plantas secas, que são consumidas sob as formas de infuso e decocto, principalmente, seguidas de formas líquidas como tinturas e extratos fluidos. Nesse contexto, tem sido comum a detecção de problemas de qualidade nos produtos comerciais ofertados à população em todo o país. Assim, vários autores e grupos de pesquisa têm apontado a ocorrência, no mercado brasileiro, de diversos problemas de qualidade, desde problemas de identidade, teor de princípios ativos até presença de sujidades e contaminação microbiana (AMARAL, 2003; MELO, 2004; MARTINS, 2006; LUCCA et al., 2010; BARROS, 2015; DOS SANTOS, 2014; DE SOUZA, 2015).

Baseado no exposto, a proposta deste trabalho foi a de analisar o padrão de qualidade de drogas vegetais de guaçatonga e porangaba encontradas no mercado e utilizadas para fins terapêuticos.

1.1 Objetivo

Este trabalho teve a finalidade analisar drogas vegetais vendidas em casa de produtos naturais, guaçatonga e porangaba, utilizadas para fins terapêuticos, com respeito a confirmação botânica através de uma análise farmacodiagnóstica. Além disso, foram avaliados alguns parâmetros de qualidade físicos e químicos, para se confirmar se as espécies comercializadas se tratavam das verdadeiras. Para tanto, objetivou-se:

1. Avaliar as amostras de drogas vegetais de guaçatonga e porangaba, com respeito à autenticidade das plantas, desenvolvendo-se análises macroscópicas e microscópicas das mesmas;
2. Determinar as características organolépticas das drogas vegetais;
3. Avaliar o teor de extrativos, perda por dessecação e umidade;
4. Realizar uma triagem fitoquímica preliminar no intuito de averiguar a presença de classes de marcadores químicos existentes nas plantas em questão;
5. Determinar o teor de fenóis e flavonoides totais nas duas drogas vegetais estudadas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Um dos objetivos da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) é o de ampliar as opções terapêuticas aos usuários, com garantia de acesso a plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados a fitoterapia, com segurança, eficácia e qualidade, na perspectiva da integralidade da atenção à saúde, considerando o conhecimento tradicional sobre plantas medicinais (ANVISA, 2014). Porém, o mercado varejista de plantas medicinais, composto, segundo a Lei 5991/73, por farmácias, drogarias e ervanarias, e atualmente sem mínima regulamentação em feiras-livres, não está livre de adulteração e/ou confusão de plantas e espécies.

Há alguns anos, a Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA, 2010) determinou normas a fim de regulamentar a produção, distribuição e uso de plantas medicinais, particularmente sob a forma de drogas vegetais, a partir da experiência da sociedade civil nas suas diferentes formas de organização, com o intuito de garantir e promover a segurança, a eficácia e a qualidade no acesso a esses produtos.

Com este marco regulatório o uso das drogas vegetais, planta medicinal ou suas partes, que contenham as substâncias, ou classes de substâncias, responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta ou colheita, estabilização, secagem, podendo ser íntegra, rasurada ou triturada, poderá oferecer maior segurança ao usuário. Entretanto, o comércio da planta *in natura* em estabelecimentos que não possuem condições físicas e interesse para confirmação da qualidade, através de análises de controle, muitas vezes adquiridas diretamente do produtor ou de intermediários, recebe processamento mínimo, podendo oferecer grandes riscos (ANVISA, 2014).

Trabalhos realizados com intuito de identificar espécies e avaliar a qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializadas tem demonstrado problemas em relação a pureza e autenticidade das mesmas. Tobias e colaboradores (2007) em um trabalho de controle de qualidade de drogas vegetais comercializadas em farmácias com manipulação em Maringá- PR encontraram um índice de 28,3% de reprovação em função de problemas relacionados à identidade (38,5%), pureza (15,4%) e qualidade química (46,1%). (MELO et al.,2004), em um estudo com o objetivo de avaliar a qualidade de produtos à base de plantas medicinais, analisaram dez amostras de castanha-da-índia, onze de capim-limão e seis de centella,

comercializadas em farmácias da cidade do Recife, provenientes de indústrias de várias partes do país, encontrando autenticidade em todas as amostras, porém 59,26% foram reprovadas quanto à pureza, devido, principalmente, ao elevado teor de umidade e cinzas totais. Destaca-se, portanto a importância de um controle de qualidade adequado, para que a população possa ter produtos fitoterápicos e drogas vegetais confiáveis para o seu consumo.

São relatadas a seguir, algumas características morfológicas, composição química, atividade biológica e segurança de uso das plantas estudadas no presente trabalho.

2.1. *C. sylvestris*

No Brasil, o gênero *Casearia* é representado por aproximadamente setenta espécies (MAISTRO et al., 2004) sendo que encontram-se onze espécies de *Casearia* no Estado de São Paulo (TORRES, RAMOS, 2007 apud CAVALLARI, 2008). As *Casearias* apresentam grande dimorfismo foliar sendo a espécie *C. sylvestris* a que melhor demonstra essa variação. Segundo além de ocupar diferentes ambientes, a *C. sylvestris* apresenta grande variação com relação ao tamanho, forma e textura das folhas, à pilosidade dos ramos mais jovens e da inflorescência e no comprimento dos pedicelos (TORRES; YAMAMOTO, 1986). Nas folhas e casca da *Casearia* são encontrados flavonoides, óleos essenciais, saponinas, taninos, resinas e antocianosídeos (SILVA, BAUER, 1970; SCAONE, 1970; LUZ, 1988; YAMAMOTO, 1995). Na primeira Edição da Farmacopéia Brasileira (1929) a *C. sylvestris* Swartz (Flacourtiaceae) encontra-se inscrita como erva de bugre, nome popular da *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth encontrada em Minas Gerais (ALVES et al., 2004).

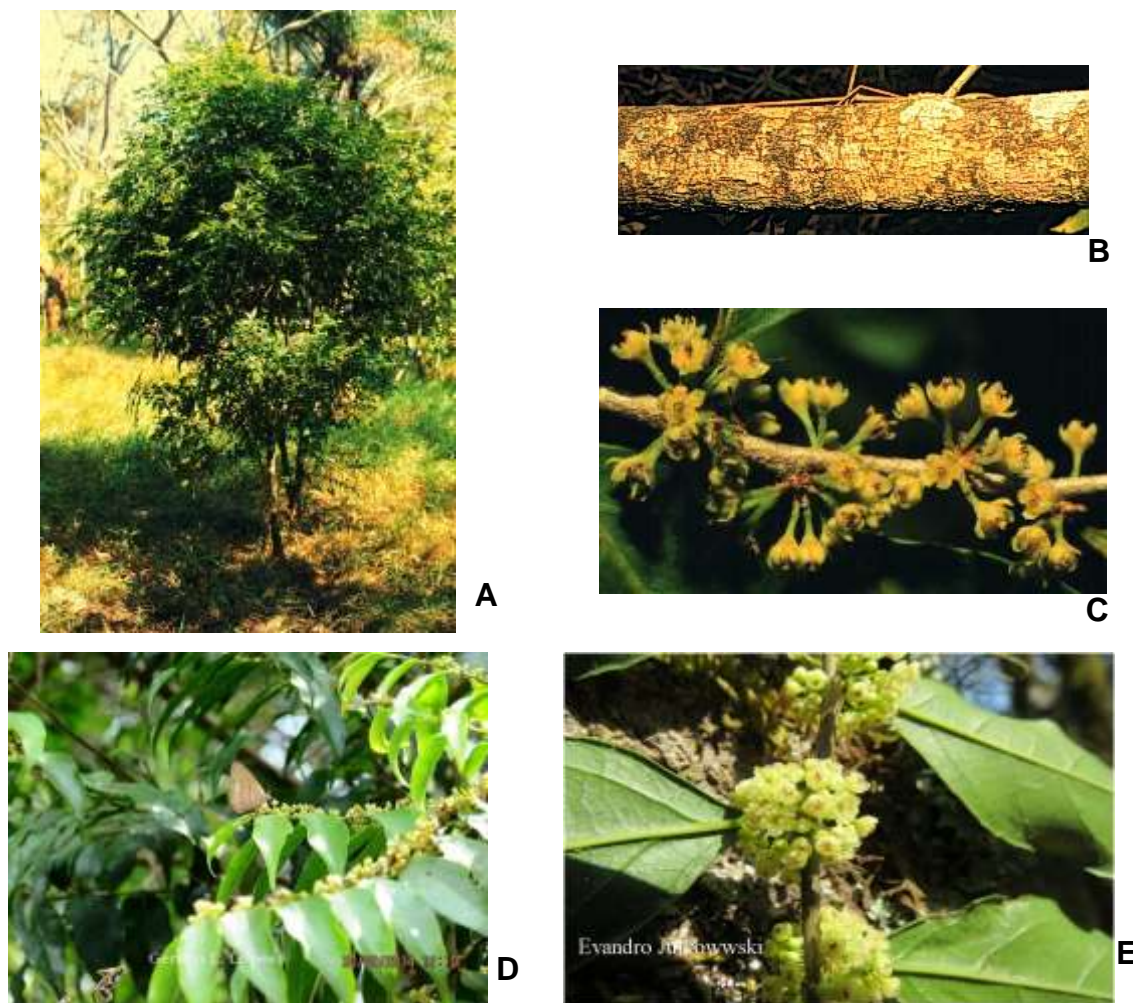
A espécie *C. sylvestris* pertence à família Flacourtiaceae, e tem ampla distribuição em todo território brasileiro. Apresenta um porte de dois a mais de dez metros de altura em média. Aparece nas mais variadas formações florestais, com ênfase no sul do país, especialmente nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul podendo ser encontrada desde Cuba, Jamaica, Porto Rico, Ilhas Virgens, Trinidad e Tobago, México, América Central e do Sul, principalmente Bolívia, Paraguai até o Uruguai (HOWARD, 1989; LITTLE, WADSWORTH, 1964). É uma planta perenifólia, heliófita, seletiva higrófila,

característica e preferencial dos sub-bosques dos pinhais, menos frequente na floresta umbrófila densa e rara na floresta estacional semidecídua (LORENZI, 1992). Por ser planta pioneira, ocorre com grande frequência nas formações secundárias, como capoeiras e capoeirões. Como planta medicinal, suas porções mais utilizadas são a casca e as folhas (TPD, 2006).

Apresenta-se distribuída em quase todo o território nacional e se destaca por sua copa globosa e densa, com flores de coloração creme, de cheiro forte, regularmente distribuídas ao longo dos ramos extremos. É uma das poucas espécies florestais melíferas durante o inverno. Como planta rústica é bastante comum em beira de estradas e ao longo de cercas. Suas folhas são usadas como depurativas, anti-reumáticas, cicatrizantes e anti-inflamatórias; além de ter excelente ação contra picadas de jararaca e cascavel através do uso de infusão da casca. É empregada para outros fins, tais como em produtos madeireiros (cochos, esculturas, gamelas, objetos ortopédicos, tamancos, celulose e papel, construção civil, canoa, jangada, lenha, carpintaria e marcenaria), produtos não madeireiros (atividades apícolas, recurso para fauna, medicinal, ornamental, produto bioquímico, substâncias tanantes) (BACKES, IRGANG, 2004; CARVALHO, 2006).

A *C. sylvestris* (Figura 1) é uma das poucas espécies florestais nativas que estão na Lista Nacional de Plantas Medicinais do Sistema Único de Saúde (RENISUS). A maioria das espécies citadas no RENISUS são exóticas, o que é indicativo da falta de conhecimento tradicional, problema ligado ao desmatamento histórico, extração predatória e consequente descaracterização das culturas locais (ROVEDDER et al., 2016).

Figura 1 – Aspectos da *C.sylvestris*.



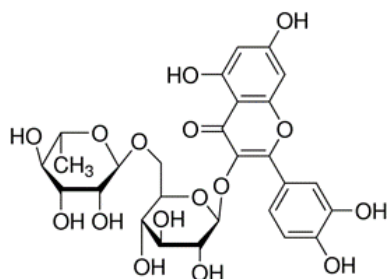
A: árvore, B: caule, C: inflorescência, D: folhas e E: outro aspecto da inflorescência.

Fonte: A, B e C, <http://www.acguanacaste.ac.cr/>; D e E: <http://sites.unicentro.br/wp/manejoflorestal/9338-2/>

2.1.1 Composição química da *C. sylvestris*

Da Silva (2003) analisou a composição química de várias amostras de *C. sylvestris* utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência, com detecção no ultravioleta (HPLC-UV), demonstrando que existe grande variabilidade no conteúdo de rutina entre os indivíduos dentro e entre as populações estudadas (3,07 a 12,99 mg/g peso seco). As comparações estabelecidas entre as populações e entre os dois biomas estudados (cerrado e mata atlântica) em relação aos teores de rutina mostraram que as populações do cerrado foram as que apresentaram os valores significativamente maiores (Figura 2).

Figura 2 – Estrutura química da rutina identificada em *C.sylvestris*.



Fonte: www.sial.com

O óleo essencial das folhas apresentou um componente majoritário, o biciclogermacreno (67,19 %), sendo que todos os outros componentes apresentaram teor relativo inferior a 9,0 % (TININIS et al., 2006). Outros trabalhos realizados com óleo essencial de folhas de *C. sylvestris* Sw. também demonstraram que o biciclogermacreno era um dos componentes (Tabela 1) (MORAES, MACHADO, 1997; ESTEVES et al., 2005; SCHNEIDER et al., 2006; TININIS et al., 2006; SOUSA et al., 2007; SANTOS, 2008; AGUILAR, 2013).

Tabela 1 - Constituintes principais¹ no óleo de folhas de *C. sylvestris* Sw.

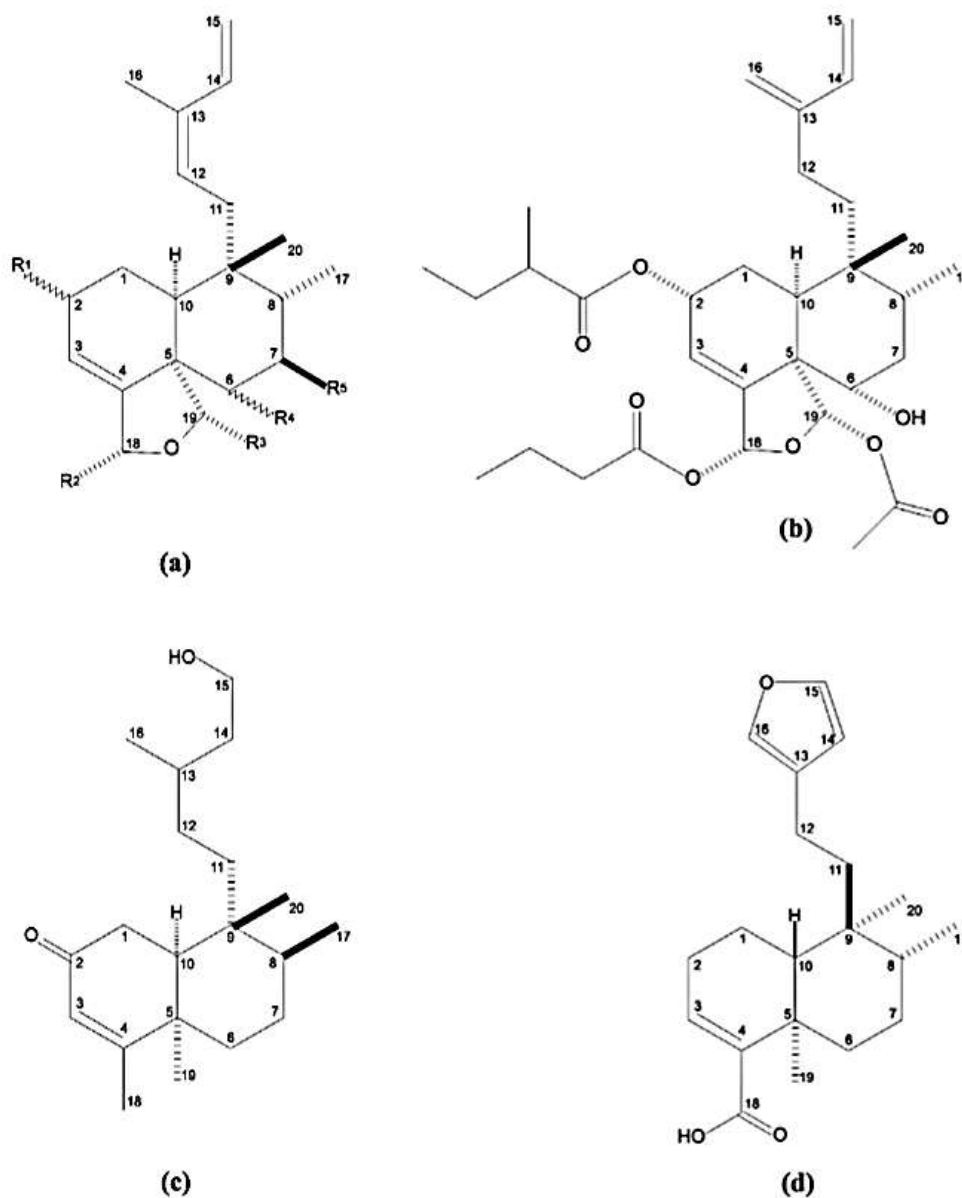
Substância identificada ¹	Período	
	Manhã	Tarde
longifoleno	1,8%	3,2%
β-selineno	4,2%	5,2%
germacreno-D	79,2%	66,2%
germacreno-B	14,8%	13,7%
β-gurjuneno	-	1,1%
δ-gurjuneno	-	2,2%
biciclogermacreno	-	3,6%

¹constituintes principais (teor relativo maior que 1%)
Fonte: TININIS et al., 2006.

Outros autores (CARVALHO et al., 2009), estudando amostras de *C.sylvestris* por HPLC-DAD demonstraram que existe um perfil metabólico mais complexo em folhas e flores. Nas análises, foram identificadas casearinas ou a caseargrewiina F em folhas, flores e madeira do caule. Já o diterpeno **b** foi identificado na madeira e na

casca do caule e na raiz (Figura 3).

Figura 3 – Diterpenos clerodânicos isolados de *C. sylvestris*.

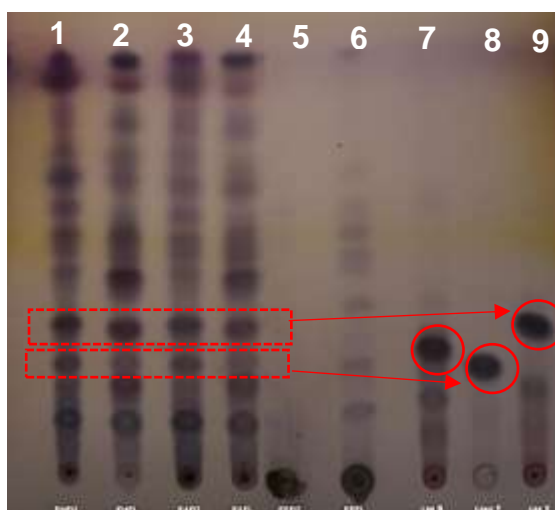


(a) estrutura química geral das casearinas A-X, casearvestrinas A-C e da caseargrewiina F; (b) rel-19S-acetóxi-18R-butanoiloxi-18,19-epóxi-6S-hidróxi-2R-(2-metilbutanoiloxi)-5S,8R,9R,10S-cleroda-3, 3(16), 14-trieno; (c) 15-hidróxi-3-cleroden-2-ona; (d) (-)-ácido hardwickiico.

Fonte: CARVALHO et al., 2009.

As análises realizadas indicaram a presença de diterpenos clerodânicos típicos de *Casearia* em todos os órgãos avaliados. Nos métodos cromatográficos foram utilizados padrões, o que conferiu maior confiabilidade aos resultados qualitativos obtidos. Os resultados obtidos indicaram perfil metabólico mais complexo em folhas e flores. Foram obtidos perfis fitoquímicos de todos os órgãos, os quais podem ser utilizados na obtenção de substâncias de interesse relacionadas a propriedades farmacológicas exibidas pelos extratos da planta (CARVALHO et al., 2009). AGUILAR (2013) realizou uma cromatografia em camada delgada (CCD) de extratos (hexânico, etanólico e em acetato de etila) de diferentes partes (folhas e flores) de *C.sylvestris* (Figura 4).

Figura 4 - CCD da análise dos extratos de flores e folhas de *C. sylvestris*.



Sequência das amostras: EHFO (1), EHFL (2), EAFO(3), EAFO (4), EEFO (5), EEFL (6), casearina B (7), caseargrewiina F (8) e casearina X (9) (com exceção da caseargrewiina F, os padrões apresentaram mais de uma mancha; casearinas B e X correspondem às manchas principais). Condições cromatográficas: hexano: acetato de etila: isopropanol (70:28:02, v/v) revelador anisaldeído sulfúrico.

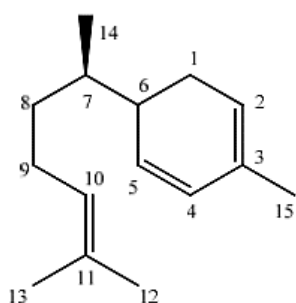
Fonte: AGUILAR, 2013.

Através dos valores de fator de retenção (R_f) de manchas dos extratos foi possível observar a presença de casearina X nos extratos EHFL (extrato hexânico da flor), EHFO (extrato hexânico da folha), EAFL (extrato em acetato de etila da flor) e

EAFO (extrato em acetato de etila da folha). A presença de caseargrewiina F foi verificada em todos extratos incluindo o EEFL (extrato etanólico da flor) com exceção do EEFO (extrato etanólico da folha). Acasearina B não foi identificada em nenhum dos extratos (AGUILAR, 2013). A mesma autora quantificou os diterpenos nos diferentes extratos, expressos em caseargrewiina F. O extrato da folha em hexano (EHFO) foi o que apresentou o maior teor de diterpenos, de 40,59 %, seguido do extrato em acetato de etila da folha, de 28,18 % (AGUILAR, 2013).

Visando a descoberta de novos compostos antitumorais da flora brasileira, as folhas frescas de *C. sylvestris* foram extraídas por arraste a vapor, obtendo-se um óleo amarelo pálido. A análise de seus componentes químicos foi realizada por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas (GC-MS). Esta análise permitiu a identificação de vinte e três substâncias, correspondendo a 98,73% da composição total do óleo. O óleo mostrou-se composto principalmente por α -zingibereno (48,31%) (Figura 5), seguido de *E*-cariofileno (14,27%), γ -muuroleno (5,16%), viridifloreno (5,07%) e acoradieno (4,11%) (BOU et al., 2013; 2015).

Figura 5 – Estrutura química do α -zingibereno, componente majoritário do óleo das folhas de *C. sylvestris*.



Fonte: BOU et al., 2013.

A combinação de parâmetros rigorosamente otimizados utilizando um planejamento experimental (DOE) que abrangeu tanto a extração de amostras como o método cromatográfico, permitiu que tanto os compostos fenólicos como os diterpenos do tipo clerodano fossem identificados como metabólitos secundários de *C. sylvestris*. Uma abordagem metabolômica foi essencial para encontrar o maior

número possível de metabólitos secundários, resultado de um extrato de *C. sylvestris* muito complexo (BUENO et al., 2015).

Outros diterpenos foram também identificados em *C. sylvestris*, como por exemplo: silvestrisida A, silvestrisida B, silvestrisida C, silvestrisida D e silvestrisida E. Sesquiterpenos, fenilpropanoides, flavonoides, esteróides e outras substâncias fenólicas também foram identificadas (XIA et al., 2015).

2.1.2 Atividade biológica da *C. sylvestris*

De acordo com Santos e colaboradores (2008) as indicações como antiofídico, antitérmico, cicatrizante e no tratamento de úlceras e gastrites são as mais citadas na literatura, sendo as folhas as partes mais utilizadas, seguidas por cascas do caule e raízes. Os resultados de um estudo demonstram que o extrato hidroalcolico de *C. sylvestris* Sw (*C. sylvestris*) apresentou atividade hipotrigliceridemiante em ratos machos adultos da linhagem Wistar, o que pode justificar o seu uso popular na redução de peso (WERLE et al., 2009; Xia et al., 2015). Também foi relatada a sua ação antihiperlipidêmica (uso popular) (DARABAS et al., 2009) e antitumoral (FERREIRA et al., 2011; 2016; FELIPE et al., 2014; BOU et al., 2015; DA SILVA et al., 2016).

A ação anti-inflamatória e antioxidante da *C. sylvestris* foi relatada por ALBANO et al., 2013. Também foi relatada a atividade de casearinas isoladas de *C. sylvestris* contra leishmania e *Trypanosoma cruzi* (BOU et al., 2014; ANTINARELLI et al., 2015; DE ARAUJO et al., 2015).

Um estudo realizado por Brant e colaboradores (2014) demonstrou que o extrato metanólico de *C. sylvestris* reduziu os lipídios séricos e o estresse oxidativo quando administrado oralmente a camundongos Swiss e LDLr-null. Além disso, foi possível prevenir o engrossamento das artérias induzido pela dieta rica em gorduras e inibir a agregação plaquetária *in vitro*.

Gusman e colaboradores (2015) descreveram a ação anti-inflamatória da *C. sylvestris* através de um mecanismo de inibição da produção de TNF- α de maneira dependente da concentração do extrato.

2.1.3 Segurança de uso da *C. sylvestris*

Os resultados do estudo de toxicidade aguda indicaram que a DL₅₀ (dose letal a 50%) é superior a 2000mg/kg e a toxicidade oral de vinte e oito e noventa dias mostrou que não foram detectados efeitos tóxicos em nenhum dos parâmetros avaliados: peso corporal e peso relativo do órgão, alterações gerais de comportamento, parâmetros hematológicos e bioquímicos, e exames histopatológicos. Com base neste resultado, foi sugerido que o extrato hidroetanólico de *C. sylvestris* pode ser seguro mesmo quando utilizado durante um longo período para fins terapêuticos (AMENI et al., 2014; 2015).

Entretanto, um trabalho desenvolvido por Araujo e colaboradores (2015), sobre a toxicidade da *C. sylvestris*, mostrou que os animais apresentaram alterações histológicas sugestivas de neurotoxicidade e hepatotoxicidade, indicando a necessidade de precaução quanto ao consumo de formulações medicinais baseadas na planta. Avaliações detalhadas de toxicidade e efeitos colaterais também são necessárias para obter uma compreensão completa das atividades farmacológicas da *C. sylvestris* (XIA et al., 2015).

2.2. *C. salicifolia*

A árvore da porangaba (*Cordia salicifolia*) é nativa do Brasil, das regiões centrais e mais ao norte e nordeste. É um fruto pequeno e redondo, de cores vermelhas, semelhantes ao grão de café e que também contém cafeína. Daí o nome popular cafezinho-do-mato, também pode ser encontrada em florestas da Argentina e Paraguai. Possui propriedades diuréticas, febrífugas (diminuição da febre) e ajuda a melhorar a circulação sanguínea. É comercializada como redutor de apetite, auxiliando o emagrecimento. É conhecida por outros nomes populares, tais como, café de bugre, café do mato, cafezinho, chá de bugre, chá de frade, claraiba, louro mole, louro salgueiro e porangaba (LORENZI; MATOS, 2010).

A porangaba (*C. salicifolia*), mais comumente encontrada em artigos científicos como *Cordia ecalyculata* Vell. (Boraginaceae) (*C. ecalyculata*), possui folhas alternas, lanceoladas ou oblongo-lanceoladas, ápice agudo, planas, membranáceas, glabras e

estípulas ausentes (SAITO & OLIVEIRA, 1986). Quando adulta, possui porte arbóreo, podendo atingir até vinte metros de altura por até trinta centímetros de diâmetro na base do tronco (Figura 6) (SAITO, 1984).

Figura 6 –Aspectos da *C. salicifolia*.



A



B



C



D

A: folhas, B: detalhe do tronco; C: ramo florido e D: desenho do ramo florido

Fonte: A e B: <http://sites.unicentro.br/wp/manejoflorestal/5979-2/>;

C: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=761 e D: SAITO, 1984.

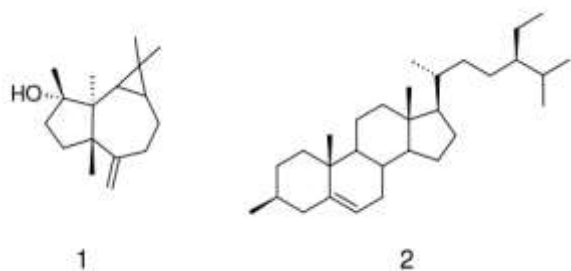
Saito e Oliveira (1986) caracterizaram botânica e quimicamente a *C. ecalyculata* Vell. (Boraginaceae), espécie também conhecida como chá-de-bugre e porangaba. Nesse estudo, os autores já relatavam que a espécie poderia ser confundida com outras, entre elas *Rudgea viburnoides* (*R. viburnoides*). No entanto, estudos

caracterizando farmacognosticamente as espécies do gênero *Rudgea* são escassos. Apenas a anatomia foliar de *Rudgea decipiens* e *Rudgea macrophylla* foi detalhadamente descrita (MANTOVANI et al., 1995). Um estudo realizado por ALVES et al., 2004 teve como objetivo a determinação de algumas características farmacognósticas das folhas de *R. viburnoides*, de modo a auxiliar na identificação taxonômica e no controle de qualidade de produtos com elas preparados. Todas as amostras comercializadas como congonha e/ou bugre, adquiridas nas ervanarias de Belo Horizonte corresponderam à *R. viburnoides*. Este quadro parece indicar que a espécie é facilmente reconhecida pelos raizeiros que coletam o material para comercialização. Apesar da uniformidade encontrada nas amostras, as mesmas são comercializadas com nomes e indicações terapêuticas diferentes.

2.2.1 Composição química da *C. salicifolia*

Apesar da popularidade atribuída ao chá de bugre na medicina popular brasileira, poucos estudos encontram-se na literatura a respeito da composição química desta planta. Os únicos relatos encontrados são referentes à presença de cafeína, sais de potássio, alantoína, ácido alantóico (que são particularmente abundantes nos frutos), hidróxiésteres alifáticos, tritriacontano, além de flavonoides, saponinas, taninos e mucilagens (SAITO, 1986). O extrato diclorometânico das folhas de *C. salicifolia* foi estudado e, após purificação em colunas de sílica forneceu como constituintes principais o (+) espatulenol (Figura 7, nº 1) com teores ao redor de 0,53% e também do β -sitosterol (Figura 7, nº 2) em concentrações de aproximadamente 0,24% (MENGHINI et al., 2008). A substância (1) já tinha sido previamente descrita como sendo um componente presente no óleo essencial das partes aéreas de outras plantas do gênero *Cordia*, como por exemplo, *Cordia leucomalloides* Taroda, *Cordia curassavica* (Jacq.) Roen.& Schult (SANTOS et al., 2006), e *Cordia verbenaceae* D. C. (DE CARVALHO, 2004). Apesar disso, altas concentrações deste componente somente foram observadas em *C. salicifolia* (MENGHINI et al., 2008, ASSONUMA, 2009).

Figura 7 - Estruturas químicas do espatulenol (1) e do β -sitosterol (2).

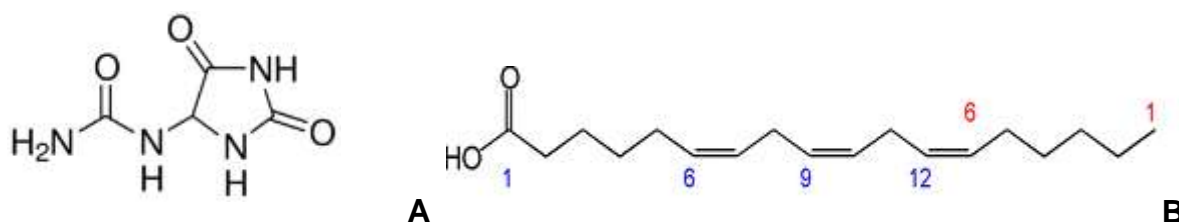


Fonte: ASSONUMA, 2009.

Outros componentes também foram identificados como, por exemplo, hidrocarbonetos de cadeia longa (10 a 30 átomos de carbono), álcoois alifáticos de cadeia longa (12 a 28 átomos de carbono) e finalmente, ácidos graxos, como por exemplo, ácido palmítico (27,2%), ácido mirístico (8,4%), ácido esteárico (31,2%), ácido oleico (15,7%) e ácido linoleico (17,5%) (MENGHINI et al., 2008; ASSONUMA, 2009).

Foi desenvolvido e validado um método cromatográfico via HPLC para a determinação quali e quantitativa do marcador químico alantoína (Figura 8), presente na *C.ecalyculata*(*C.salicifolia*). Os valores obtidos para a matéria prima foram de 0,32% na média, 0,75% para o extrato bruto, 0% para a fase hexânica, 0,15% para a fase acetato de etila e 1,54% para a fase aquosa (ASSONUMA, 2009).

Figura 8 - Estruturas químicas da alantoína e do ácido gamalinolênico, encontrados em *C.salicifolia*.



Fonte: www.sial.com (A) e wikipedia (B).

Encontram-se na planta alcaloides, quinonas, naftoquinonas, saponinas, taninos, ácidos fenólicos, alantoínas, mucilagens, polissacarídeos, flavonoides, ciclitóis e ácidos graxos de interesse terapêutico e nutricional, como o ácido

gamalinolênico (FELL;PECK, 1968; VELASCO, GOFFMAN, 1999; KUROYANAGI et al., 2001; ARREBOLA, 2004; ASSONUMA, 2009).

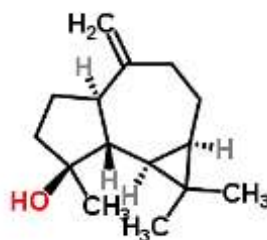
2.2.2 Atividade biológica da *C. salicifolia*

Existem poucos relatos na literatura sobre a atividade biológica da *C. salicifolia*.

Pesquisadores japoneses demonstraram que extratos das folhas da *C. salicifolia* podem reduzir a penetração do vírus Herpes 1 (HAYASHI et al., 1990). A porangaba tem sido utilizada popularmente como promotora de emagrecimento (CAPARROZ-ASSEF et al., 2005; ASSONUMA, 2009; PELIZZA, 2010; ARALDI et al., 2014).

O componente principal do extrato em diclorometano das folhas de *C. salicifolia*, o (+)-espatulenol (Figura 9) exibiu uma atividade muito fraca como inibidor do crescimento de *Helicobacter pylori in vitro* (concentração inibitória mínima de 200 µg/mL) (MENGHINI et al., 2008).

Figura 9 - Estrutura química do (+)-espatulenol encontrado em *C. salicifolia*.



Fonte: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.83268.html>

Em contraste com o uso popular como antiobesidade, supressor de apetite e diurético, nenhum efeito foi detectado nesse sentido. Contudo, foi observado efeito hipolipidêmico em ratos normais e aloxano-diabéticos (SIQUEIRA et al., 2006).

Dos Santos (2014) avaliou o efeito de redução corporal de extratos de *C. salicifolia*. Ao final do tratamento, a massa corpórea dos animais que receberam o

extrato foi similar ao grupo controle, demonstrando a ineficácia da planta na redução do peso corporal.

2.2.3 Segurança de uso da *C. salicifolia*

Existem poucos estudos sobre essa planta, apesar de haver uma comercialização significativa da mesma. Não há comprovação científica destes efeitos descritos como emagrecedores e são necessários mais estudos pré-clínicos, clínicos e toxicológicos que certifiquem a efetividade e a segurança no uso dessa planta como emagrecedora (PELIZZA, 2010).

A toxicidade aguda do extrato hidroetanólico das folhas de *C. ecalyculata* foi avaliada (5000 mg/kg), onde este foi administrado durante 15 dias em ratos Wistar machos e fêmeas. No último dia, os animais foram necropsiados e alterações macroscópicas nos órgãos foram avaliadas. Os resultados indicaram ausência de toxicidade do extrato nos órgãos, que não promoveu mortalidade e não alterou o comportamento dos animais (DIAS, 2004).

A administração oral diária do extrato aquoso, nas doses de 20, 100, 200 e 400 mg/kg, por um período de noventa dias, não causou modificações no ganho de peso corporal, no peso dos órgãos, nos parâmetros hematológicos e bioquímicos dos animais. Estes resultados indicam que a administração do extrato por um período mais prolongado não provocou efeitos de toxicidade nos animais (CAPARROZ-ASSEF et al., 2005).

O extrato hidroetanólico da planta (7:3) não mostrou efeito citotóxico e nem genotóxico em ratos machos Wistar (DA SILVA et al., 2010).

Araldi et al. (2014) relataram que o tratamento combinado de *C. ecalyculata* e *Spirulina maxima* em uma dose de 250 a 500 mg/kg provou ser um candidato promissor para terapia de redução de peso e não exibiu ação mutagênica em células de ratos ou humanas. Este efeito, aliado à ausência de efeitos adversos comumente observados em outros tratamentos similares com fármacos como a sibutramina, mostra grande potencial desses novos candidatos na redução da incidência de

obesidade em combinação com mudanças de estilo de vida como educação nutricional e exercícios práticos.

Alves et al. (2004) realizaram um estudo a fim de determinar algumas características farmacodiagnósticas e auxiliar na identificação taxonômica e no controle de qualidade de produtos preparados das folhas de *Rudgea viburnoides*, conhecida como congonha, congonha-de-bugre e bugre de modo, pois na época, esta espécie vinha sendo comercializada e utilizada em regimes de emagrecimento, substituindo a *Cordia ecalyculata* Vell. (Boraginaceae), espécie também conhecida como chá-de-bugre e porangaba. Engel e colaboradores (2008), analisando amostras de *Bauhinia forficata* comercializadas nos municípios de Itajaí e Balneário Camboriú, encontraram reprovação em todas as amostras comerciais quanto à presença de material estranho e apenas duas entre seis, apresentaram-se iguais à *Bauhinia forficata* autêntica.

Além da confusão gerada pelas características morfológicas semelhantes, a possibilidade de adulteração de preparações vegetais pode estar também ligada a diversidade de nomes vernaculares que são atribuídos às plantas, que podem variar para cada região do Brasil (LORENZI; MATOS, 2002). Nomes populares (vulgares ou regionais) variam de local para local, de região para região, de um país para outro, podendo uma mesma planta ter diversas denominações e uma denominação ser comum para diversas plantas. No Brasil, diversas espécies são denominadas “guaçatonga”, uma das plantas utilizadas no presente estudo, sendo que a mesma denominação popular somada à semelhança vegetativa entre as espécies ocasiona, muitas vezes, dificuldades na sua identificação. Algumas espécies (por exemplo, *Casearia sylvestris* Swartz, *Casearia obliqua* Spreng. e *Casearia decandra* Jacq.) são muito semelhantes vegetativamente (TORRES; YAMAMOTO, 1986).

No comércio de plantas as Rubiáceas são habitualmente usadas como adulterantes das *Cordia salicifolia*. A *C. sylvestris* é utilizada como adulterante de *C. salicifolia*, conhecida popularmente como porangaba, a qual é comercializada com suposta ação emagrecedora, aumentando desta forma, a ação antrópica sobre a espécie. Baseado no exposto, a proposta deste trabalho foi a de analisar o padrão de qualidade de drogas vegetais de guaçatonga e porangaba encontradas no mercado e utilizadas para fins terapêuticos.

3. MATERIAL E MÉTODO

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Produtos Naturais e Quimiometria, dos programas de *Stricto sensu* da Universidade Anhanguera de São Paulo (UNIAN-SP). A seguir, são descritos os materiais e métodos empregados no estudo das plantas.

3.1 Reagentes e equipamentos

Foram empregados materiais e equipamentos diversos, conforme descrito nas Tabelas 2 e 3 a seguir.

Tabela 2 – Relação de reagentes utilizados nas análises.

Reagentes	Marca
Acetato de Chumbo	Dinâmica
Ácido Acético	Ecibra
Ácido clorídrico	Ecibra
Azul de Astra	Synth
Azul de Toluidina	Synth
Carbonato de sódio	Synth
Cloreto de Alumínio	Synth
Cloreto Férrico	Ecibra
Etanol	Synth
Éter	Synth
Éter de Petróleo	Synth
FAA 50	Sigma Aldrich
Fenol	Synth
Floroglucinol ácido	Sigma Aldrich
Folin-Ciocalteau	Merck
Glicerina	Synth
Hidróxido de amônio	Ecibra
Magnésio metálico	Synth
Metanol	Ecibra
Quercetina	Sigma
Reagente de Lugol	Synth
Safranina	Sigma Aldrich
Sudan IV	Sigma Aldrich
Tartarato de sódio	Synth
Vermelho de rutênio	Sigma Aldrich

Tabela 3 – Relação de equipamentos utilizados nas análises.

Materiais/Equipamentos	Marca/Modelo
Balança	Quimis, Brasil
Balança semi-analítica	Ohaus, Brasil
Banho-Maria	Quimis, Brasil
Câmera digital	Sony, Brasil
Espectrofotômetro	Cary-50 Varian, EUA
Forno mufla	Quimis, Brasil
Microscópio óptico	Karl Zeiss, Alemanha

Fonte: Arquivo pessoal.

3.2 Coleta, identificação e processamento do material vegetal

3.2.1 Obtenção do material botânico

3.2.1.1 C. sylvestris

Foi utilizada droga vegetal de guaçatonga, adquirida em ervanaria na cidade de São Paulo, identificada, em sua embalagem, como *Casearia sylvestris* Sw, sem número de lote.

3.2.1.2 C. salicifolia

O material utilizado foi comprado em casa de ervas comum em São Paulo capital. O produto comercial estava rotulado como porangaba; *Cordia salicifolia* Cham., peso 50g, com número de lote e período de validade de dois anos, informados pelo distribuidor.

3.2.2 Caracterização macroscópica

Foram observados os aspectos relacionados à cor, odor, sabor e textura das amostras (FARM.BRAS., 2000, 2010).

3.2.3 Análise organoléptica e morfoanatômica

A avaliação organoléptica foi realizada com o material vegetal seco, conforme se apresenta comercialmente. Os estudos morfoanatômicos foram realizados em material hidratado em glicerina e água 1:1, mantidos em geladeira a 16° C durante três dias. Posteriormente o material foi fixado em FAA 50 (JOHASEN, 1940) e a conservação foi feita em etanol 70% (JENSEN, 1962). Cortes transversais (C.T.) e longitudinais (C.L.) foram realizados à mão livre, com o auxílio de lâmina de barbear comum e corados com safranina e azul de Astra (FARM.BRAS., 1988). As lâminas permanentes foram feitas a partir de material incluído em historresina (GUERRITS, 1991). Este material depois de seccionado foi corado com azul de toluidina (O'BRIEN, 1964).

3.2.3.1 Testes histoquímicos

Para os testes histoquímicos, os cortes do material fresco foram submetidos a corantes e reagentes específicos: solução aquosa de cloreto férrico a 10%, para localização de compostos fenólicos, floroglucinol ácido para evidenciar paredes lignificadas, Sudan IV para localizar paredes suberificadas, cutinizadas e outros materiais lipídicos; reagente de Lugol para localização de amido e solução de vermelho de rutênio para evidenciar mucilagem e substâncias pécticas (JOHASEN, 1940).

3.2.3.2 Aspectos morfológicos

Os aspectos morfológicos das estruturas encontradas nos cortes foram observados, descritos e ilustrados, com auxílio de câmara Sony manual através da ocular do microscópio. Os aspectos anatômicos das folhas foram observados, descritos e ilustrados a partir de uma câmara comum. As escalas referentes às ilustrações foram obtidas utilizando-se régua (FARM.BRAS., 1988).

3.2.4 Aspectos gerais de pureza

O conteúdo total de ambas as amostras, foi espalhado sobre uma folha de papel branco e cuidadosamente, separou-se tudo que eram sujidades (pedras, cabelo, arame, fios, entre outros); tanto quanto as demais partes da planta diferente da parte usada (folha). Pesou-se esse material e calculou-se o percentual frente ao total (matéria orgânica estranha máximo aceitável 2-3%). Avaliou-se presença de insetos, vivos ou mortos, ou suas partes (FARM.BRAS., 1988).

3.3 Análises físico-químicas

3.3.1 Determinação do teor de cinzas totais

Cadinhos de porcelana foram calcinados previamente em mufla a 450°C por 30 minutos, resfriados em dessecador (15 minutos) e suas massas foram determinadas em balança semi-analítica. A cada cadinho foram adicionados cerca de 1,0 g da droga vegetal triturada, pesados em balança semi-analítica, os quais foram incinerados (levados ao estado de carvão) em bico de bunsen e, posteriormente, submetidos à calcinação em mufla à temperatura de 450°C por duas horas. A pesagem foi realizada após total arrefecimento dos cadinhos em dessecador por 15 minutos. Este procedimento foi repetido até peso constante. O resultado foi expresso em porcentagem de massa de cinza na droga (% p/p) através da determinação em triplicata (FARM.BRAS., 2010).

3.3.2 Análise química preliminar

A triagem fitoquímica preliminar realizada visou evidenciar as principais classes de metabólitos presentes nas amostras, por reação de complexação química, com reagentes específicos para cada classe. Para tanto, foram utilizadas as metodologias implantadas no Laboratório de Produtos Naturais e Quimiometria, da UNIAN-SP, como se segue:

3.3.2.1 Identificação de flavonoides

Em um béquer foram adicionados 3 g de droga os quais foram tratados com 20 mL de éter de petróleo. Agitou-se durante 10 minutos, com aquecimento em banho-maria e filtrando-se ainda quente. Em outro béquer, foram adicionados 20 mL de metanol ao resíduo, sendo aquecido em seguida em banho-maria por 10 minutos. Ainda quente a solução foi filtrada, e ressuspensa em 10 mL de etanol (extrato final). A seguir, foram realizadas as análises:

Reações de Shinoda

Em um tubo de ensaio foi adicionado 1 mL do extrato final, um fragmento de magnésio metálico e gotas de ácido clorídrico concentrado a fim de se observar, após o desprendimento de hidrogênio nascente, o aparecimento de coloração rósea ou vermelha no caso da presença do metabólito buscado.

Reação do cloreto férrico

Em 1 mL do extrato final foram adicionadas algumas gotas de cloreto férrico (FeCl_3) a 2%. A coloração verde, amarela ou ainda violácea, dependendo do flavonoide presente, representa caracteristicamente sua presença.

3.3.2.2 Identificação de taninos

Para análise da presença de taninos, foi preparado um decocto (15 minutos) com 5 g da droga vegetal e 100 mL de água destilada, filtrado e deixado esfriar (solução extrativa A). A seguir, foram realizadas as análises:

Reação de sais de ferro

Na reação foram misturados 2 mL da solução extrativa A, com 10 mL de água destilada e 2 a 4 gotas de solução de cloreto férrico (FeCl_3) 1% (m/m) em metanol. Em caso positivo aparece coloração azul (taninos hidrolisáveis) ou verde (taninos condensados).

Reação de acetato de chumbo

Nesta reação foram misturados 5 mL da solução A com 10 mL de solução de ácido acético 10% (v/v) e 5 mL de solução de acetato de chumbo a 10%. Em caso positivo aparece formação de precipitado esbranquiçado (taninos hidrolisáveis).

3.3.2.3 Identificação de saponinas

Foram fervidos, durante 10 minutos sobre refluxo, 2 g de droga vegetal rasurada com 10 mL de água destilada, sendo esfriado e filtrado em um tubo de ensaio, completando para 10 mL o volume final, agitando o tubo no sentido do seu comprimento, vedado com uma rolha, durante 15 segundos. Deixou-se em repouso por 15 minutos. No caso de presença de saponinas há o aparecimento de um anel de espuma persistente, de aproximadamente 1 cm de altura, que não desaparece pela adição de 1 mL de ácido clorídrico a 2N (20%).

3.3.2.4 Identificação de antracênicos livres

Colocou-se cerca de 0,2 g da amostra em um tubo de ensaio com 5 mL de éter, agitando-se por 2 minutos. Deixou-se em repouso para decantar. Após filtração, transferiu-se para outro tubo de ensaio a camada etérea, já corada de amarelo e, adicionou-se cerca de 10 mL de hidróxido de amônio, agitando-se. A camada aquosa separada cora-se de cor rósea, sendo indicativo de compostos antracênicos livres.

3.3.3 Análises quantitativas

Nas análises quantitativas, foram utilizadas as metodologias implantadas no Laboratório de Produtos Naturais e Quimiometria, da UNIAN-SP, como se segue:

3.3.3.1 Determinação do teor de extrativos

Cerca de 2 g da droga vegetal, exatamente pesados, foram submetidos a refluxo com 100 mL de água destilada, durante 10 minutos. Após resfriamento, o volume da água evaporada foi completado no balão volumétrico de 100 mL. A solução restante foi filtrada por algodão. Em pesa-filtro previamente tarado, foram pesados cerca de 10 g do decocto e evaporados em banho-maria. O resíduo foi colocado em estufa a 105°C por 2 horas, resfriado em dessecador e pesado. O teor de extrativos foi calculado em massa percentual, pela medida de duas determinações, através da Equação 1 a seguir.

Equação 1: Fórmula para a determinação do teor de extrativos.

$$TE = g.FD.100 / m$$

Onde: TE = teor de extrativos (%); g = massa do resíduo seco (g); m = massa da amostra (g); FD = fator de diluição, no caso 2,5.
Fonte: POLITI, 2012.

3.3.3.2 Quantificação de fenóis totais

3.3.3.2.1 Curva padrão

Utilizou-se para a curva padrão uma solução estoque de fenol a 1mg/mL. Pesou-se 0,010g de fenol em um béquer de 10 mL e dissolveu-se em um pouco de água. Transferiu-se para um balão volumétrico de 10mL calibrado, completando-se o volume.

3.3.3.2.2 Determinação de fenóis totais nos extratos

Pesou-se 0,05 g da amostra e dissolveu-se em um béquer comum pouco de etanol. Transferiu-se para um balão volumétrico de 25 mL e completou-se o volume com água. A partir desse ponto as análises foram feitas em triplicata. Transferiu-se uma alíquota de 0,2 mL para um balão volumétrico de 10 mL contendo aproximadamente 5 mL de água destilada e adicionou-se 800 µL do reagente Folin-Ciocalteu. Após agitar-se por alguns segundos, no intervalo de 8 minutos acrescentou-se 1,2 mL de uma solução tampão carbonato-tartarato de sódio a 20%, recém preparada. Completou-se o menisco com água e manteve-se a solução em banho-maria a 20°C por duas horas, onde então fez-se o acerto de volume final, agitando-se por alguns segundos e fez-se então a leitura a 760 nm em espectrofotômetro.

3.3.3.3 Quantificação de flavonoides totais

3.3.3.3.1 Determinação do teor de flavonoides totais – expressos em quercetina

Para a determinação da curva padrão, foi preparada uma solução estoque de quercetina em metanol (1,0 mg/mL). Construiu-se uma curva padrão utilizando-se soluções metanólicas de quercetina em concentrações de 3,0; 4,0 a 12,0 µg/mL. Transferiu-se para um balão volumétrico calibrado de 10 mL contendo aproximadamente 5 mL de metanol, uma alíquota correspondente a cada concentração de quercetina e 200 µL da solução de cloreto de alumínio a 5%. Acertou-se o volume final a 15°C, agitou-se por alguns segundos. Decorrido o tempo de 30 minutos, fez-se a leitura em 425 nm. Calculou-se a equação da curva padrão pelo método dos mínimos quadrados.

3.3.3.3.2 Determinação de flavonoides totais nos extratos

A partir dos extratos preparados e da determinação da concentração em % m/V (teor de extrativos), fez-se a diluição dos mesmos e preparou-os a uma concentração

de 0,5% m/V. Fez-se o procedimento a partir deste ponto em triplicata. Pipetou-se 200 μ L desta solução para um balão de 10 mL contendo aproximadamente 5mL de metanol. Acrescentou-se 200 μ L da solução de cloreto de alumínio a 5%, completou-se os 10 mL do balão volumétrico com metanol até próximo do menisco e agitou-se por alguns segundos. Manteve-se a solução a aproximadamente 15° C por 30 minutos. Após este tempo, acertou-se o menisco e fez-se a leitura da absorbância em 425 nm. Calculou-se a concentração de flavonoides totais expressos em quercetina, usando a equação da reta, pela planilha de cálculos.

3.3.4 Cálculos empregados nas análises quantitativas

Todas as análises quantitativas foram realizadas em no mínimo triplicatas e calculada a média, o desvio padrão (DP), o coeficiente de variação em porcentagem (CV%) e a incerteza (Inc), segundo as fórmulas abaixo:

$$CV(\%) = \left(\frac{DP}{Média} \right) * 100$$

$$Inc = DP/\sqrt{n}$$

Onde n é o número de medidas

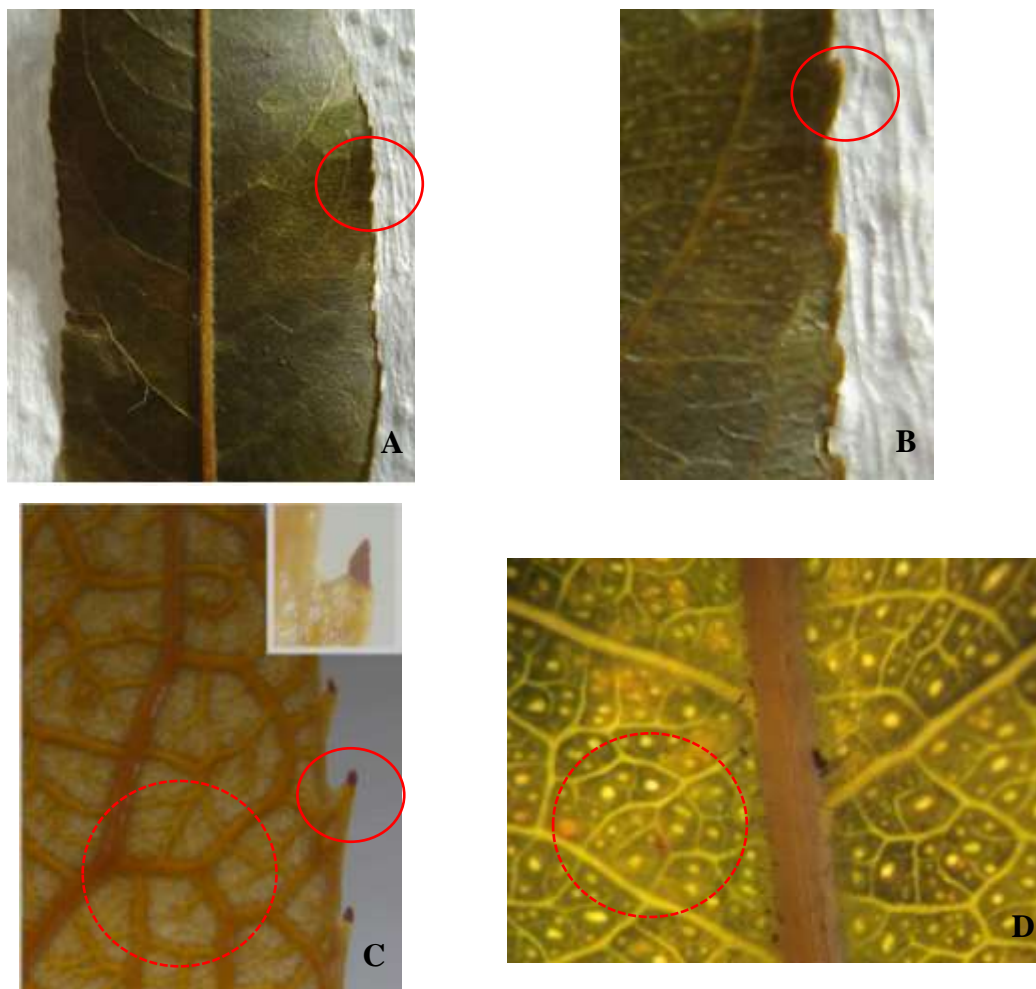
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização organoléptica e macroscópica da *C.sylvestris* e da *C.salicifolia*

A amostra de *C. sylvestris* apresentou dimorfismo foliar, com folhas alongadas de consistência papirácea, de coloração verde amarronzada com contorno romboidal ápice agudo, base simétrica, margem denteada com a subdivisão do limbo fendida, características que conferem com a descrição em literatura.

A base foliar da *C. sylvestris* é assimétrica podendo ser também cuneada, provavelmente relacionada à adaptação a diferentes formações vegetacionais. Possui folhas com bordos mucronados serrado a serrado, e quanto à rede de nervação apresenta-se muito densa. Quanto ao bordo apresenta-se, também anastomosado, porém, uma terminação vascular está dirigida para o dente como é demonstrado no esquema da planta na Figura 10. Dados similares foram relatados por Fernandes et al. (2016) em *Casearia* spp. A mesma figura mostra as margens foliares de *C. sylvestris* e *Casearia* spp., essa última, relatada por Fernandes et al. (2016).

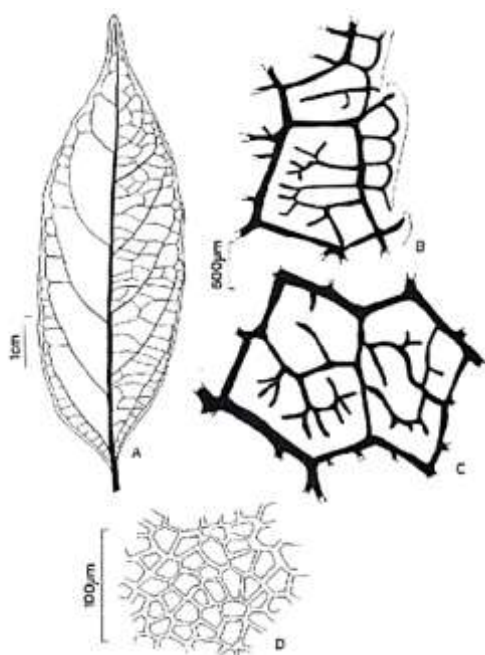
Figura 10 – Margens foliares de *Casearia sylvestris* e *Casearia* spp.



Círculos vermelhos em (A) e (B) indicam a forma do bordo da folha, detalhado também em C. Nervuras das folhas (D) confirmadas também em folhas jovens de *Casearia mentrensii*.
 Fonte: FERNANDES et al., 2016 (C).

Comparando-se com os dados encontrados na literatura (Figura 11) observa-se a semelhança entre o descrito na Figura 10, como *C. sylvestris*.

Figura 11–Características macroscópicas da *Casearia sylvestris*.



A) Padrão de nervação do tipo camptobroquidódroma;
 B) Bordo anastomosado, com uma terminação vascular dirigida para o dente; C) Rede laxa;
 D) Epiderme adaxial com células de paredes retas, (P.Occhioni 576) (Marquete, Ronaldo M357g O gênero *Casearia* Jacq. no Estado do Rio de Janeiro (Brasil) – Flacourtiaceae / Ronaldo Marquete. – Rio de Janeiro, 2005. 147 f. : il., 28 cm).

O material examinado, pelas características macroscópicas, se tratava de *C. sylvestris*.

Com respeito a amostra de *C. salicifolia*, esta apresentou em sua embalagem apenas folhas, as quais apresentam coloração amarronzada ou coloração verde escura e provida de brilho, devido ao processo de secagem. As folhas inteiras encontradas no pacote possuíam aproximadamente de 11 a 12 cm de comprimento e 2,5 a 3 de largura com um pecíolo de aproximadamente de 1 cm, com odor amadeirado doce e sabor ligeiramente amargo. Os dados macroscópicos mostraram folhas de categoria nomofilas e pode-se considerar uma folha completa com pecíolo, limbo e a base foliar, apresentando de 11 a 12 cm de comprimento, pecíolo de 1 cm e largura de aproximadamente de 3 cm (Figura 12).

Os limbos foliares, secos com pigmentação “marrom castanho” e com algumas folhas ainda apresentando pigmentação verde escuro e com odor de madeira ligeiramente adocicado, apresentaram sua face ventral ou adaxial brilhante e sua face dorsal

(abaxial) menos brilhante. Contorno foliar lanceolada, base cunetada, ápice foliar agudo, margem foliar inteira. Subdivisão do limbo íntegro com nervação peninérvea sendo a nervura mediana bem evidente, saliente na face dorsal e na face ventral. As nervuras secundárias emergem da nervura principal e são pouco evidentes. As folhas apresentam aproximadamente a mesma coloração nas duas faces, ou seja, concolores. A competência das folhas se torna quebradiço devido elas estarem secas, mas aparentemente apresentam uma boa consistência. A superfície do limbo apresenta lisa, glaba e luzidia. Pode-se denominá-la como curtamente peciolada e com aspecto reto e achatado. O aspecto da secção transversal do pecíolo apresenta-se canelado ou ligeiramente côncavo-convexo, demonstrado na Figura 12.

Figura 12 - Imagens com detalhes ampliados das folhas de *C.salicifolia*.



- | | |
|---|--|
| 1 | Ápice foliar agudo |
| 2 | Margem foliar inteira |
| 3 | Nervação peninérvea tendo Nervura Mediana bem evidente |
| 4 | Base Cunetada |
| 5 | Curtamente peciolada e com aspecto reto e achatado |

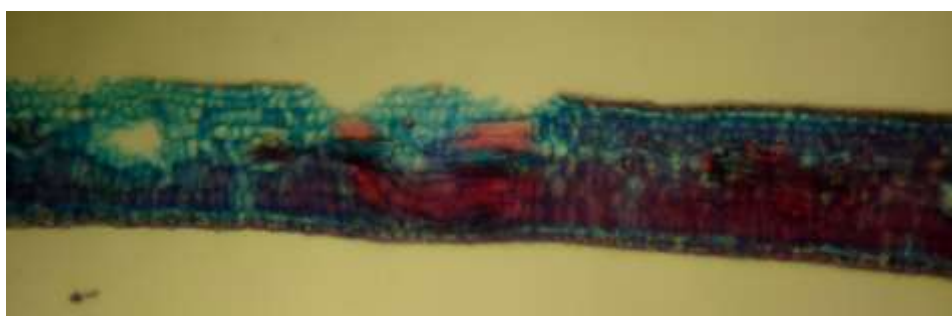
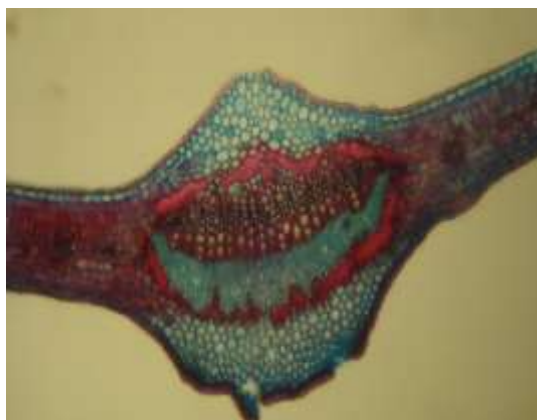
Fonte: Acervo pessoal.

O material examinado, pelas características macroscópicas, se tratava de *C. salicifolia*.

4.2 Descrição microscópica da *C. sylvestris* e da *C. salicifolia*

A epiderme, glabo, é formada de células poligonais, de paredes retas na face superior e levemente curvas na inferior, que é guarnecida de estômatos envolvidos por células não diferenciadas. O mesofilo é heterogêneo, assimétrico, formado na parte superior por várias camadas de células paliçádicas e na inferior por um parênquima de células ovais ou arredondadas, nele se observam também grandes bolsas secretoras. O sistema libero lenhoso é representado por um cordão lenhoso, arqueado, recoberto sobre a face inferior por um líber mole que contém vários canais secretores por um periciclo menos lignificado. O parênquima fundamental das nervuras encerra também numerosas bolsas secretoras (Figura 13).

Figura 13 – Microscopia da folha de *C. sylvestris*.

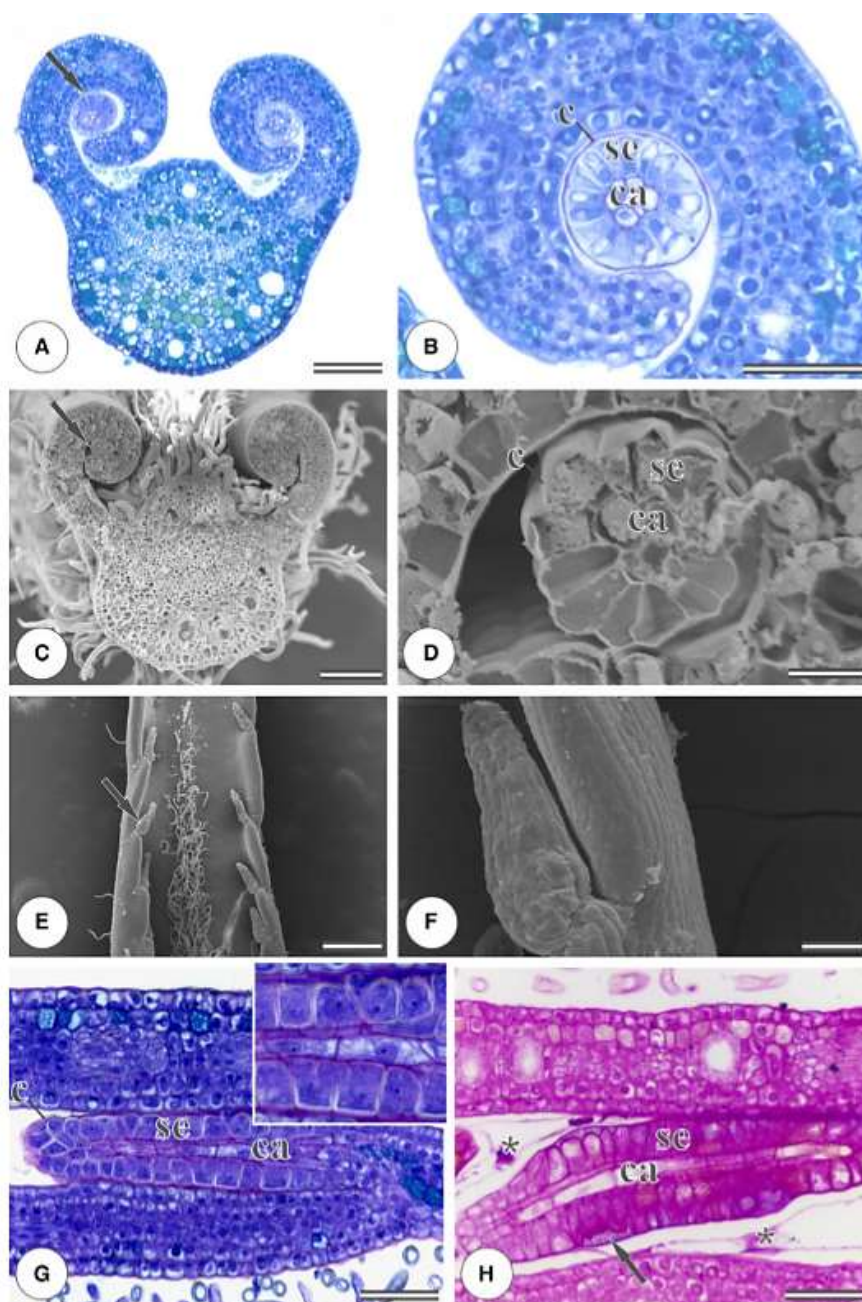


O Azul de Astra cora paredes celulósicas em azul e a safranina, que reage com a lignina, cutina, suberina e também com a celulose, em vermelho.

Fonte: Acervo pessoal.

Fernandes et al. (2016) descreveram a microscopia das folhas de *C. sylvestris*, cujos dados se encontram na Figura 14.

Figura 14 - Primórdio foliar de *C.sylvestris* mostrando glândulas sob microscopia óptica (A, B, G e H) e microscopia eletrônica de varredura (C-F).



Barras: A, C, 100 μm ; B, F-H, 50 μm ; D, 10 μm ; E, 300 μm .
 Fonte: FERNANDES et al., 2016.

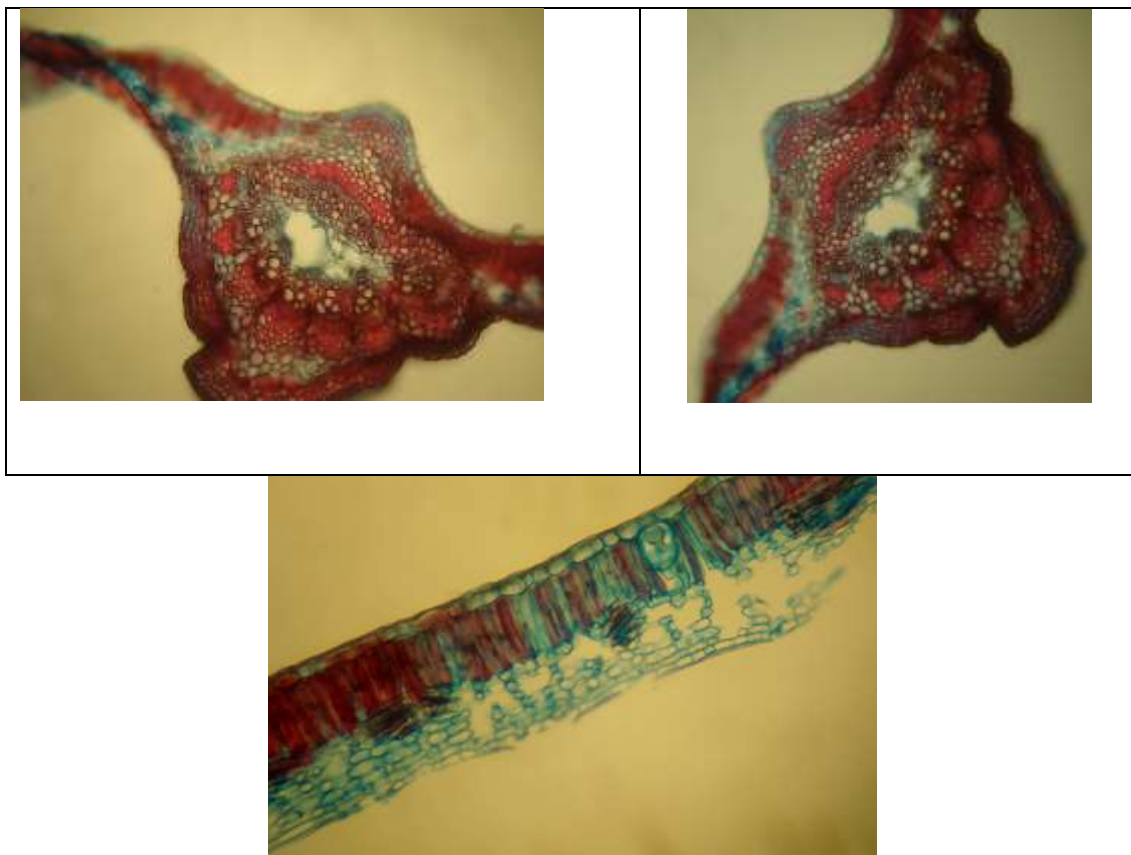
Observa-se na Figura 14, o primórdio foliar de *C. sylvestris* mostrando glândulas sob microscopia óptica (A, B, G e H) e microscopia eletrônica de varredura (C-F). Secções transversais (A-D) e secções longitudinais (G, H). A-D, margens dobradas mostrando glândulas. Observa-se as paredes finas pecto-celulósicas e as

cutículas finas que cobrem células epidérmicas tipo paliçade secretoras. E, F, à medida que as folhas começam a se expandir, as bordas se desenrolam e expõem a margem com glândulas no ápice dos dentes. G, Eixo central (ca) e células epidérmicas secretoras (se) de glândulas com núcleos conspícuos em posição mediana. H, Reação positiva ao PAS (reagente ácido de Schiff periódico) na epiderme secretora mostrando secreção no espaço subcuticular (seta) e fora da célula (asterisco). C, cutícula (FERNANDES et al., 2016).

A descrição microscópica da folha de *C. salicifolia* apresentou um mesófilo do tipo heterogêneo e assimétrico. A epiderme superior é constituída por uma fileira de células de contorno arredondado e um tanto alongado no sentido periclinal, a epiderme inferior é representada por células irregulares na forma e no tamanho. O parênquima paliçádico é formado por uma fileira de células cilíndricas dispostas umas ao lado das outras e que ocupam uma fileira de células cilíndricas dispostas umas ao lado das outras e que ocupam aproximadamente um terço de espessura do limbo. Intercalados entre as células do parênquima paliçádico e relacionados com a epiderme superior pode ser observada a presença de cistólicos. O parênquima lacunoso possuindo de 6 a 8 fileiras de células de contorno arredondado algumas emitindo braços, inclui idioblastos contendo areia cristalinas. Os dados são mostrados na Figura 15.

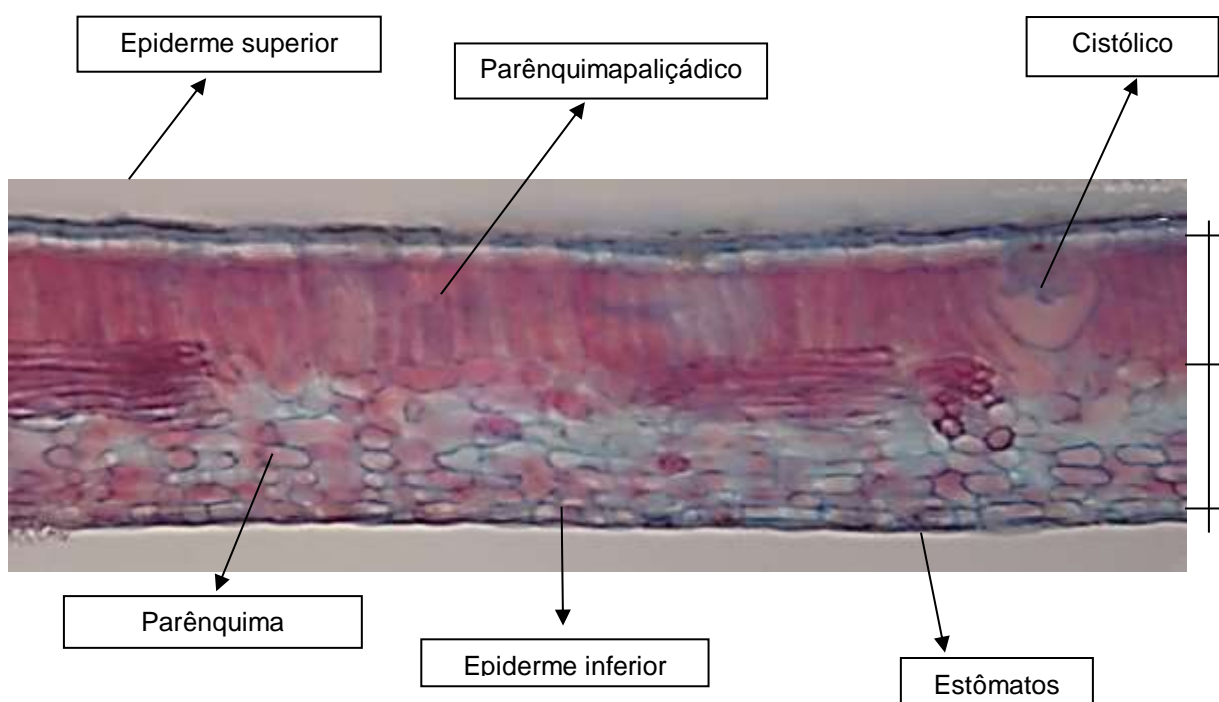
Os dados microscópicos mostrados no presente trabalho, comparados com os de Fernandes et al. (2016) evidenciaram a veracidade da amostra de *C. sylvestris* analisada.

Figura 15 – Microscopia da folha de *C. salicifolia*.



Fonte: Acervo pessoal.

Outro aspecto microscópico da folha da de *C. salicifolia* é mostrado na Figura 16 e a Tabela 4 descreve um resumo da análise.

Figura 16 – Descrição microscópica da *C. salicifolia*

Fonte: Acervo pessoal.

Tabela 4 – Resumo da análise microscópica da *C.salicifolia*.

Descrição	Sim	Não
A epiderme superior é constituída por uma fileira de células de contorno arredondado e um tanto alongado no sentido periclinal	X	
A epiderme inferior é representada por células irregulares na forma e no tamanho	X	
O parênquima paliçádico é formado por uma fileira de células cilíndricas dispostas umas ao lado das outras e que ocupam uma fileira de células cilíndricas dispostas umas ao lado das outras e que ocupam aproximadamente um terço de espessura do limbo	X	
Intercalados entre as células do parênquima paliçádico e relacionados com a epiderme superior pode ser observada a presença de cistólicos	X	
O parênquima lacunoso possui de 6 a 8 fileiras de células de contorno arredondado algumas emitindo braços	X	

Fonte: Acervo pessoal.

4.3 Aspectos de pureza

A Tabela 4 descreve os aspectos de pureza das drogas vegetais analisadas. A perda por dessecação, fator importante no controle de qualidade de fitoterápicos, refere-se ao teor de umidade e/ou substâncias voláteis presentes na droga vegetal. A determinação de umidade na planta seca torna-se importante quando se considera o uso de matéria-prima vegetal na produção industrial de fitoterápicos. Obteve-se para a amostragem *C. sylvestris*, obteve-se valores de 13,51% e 7,44% (em estufa e balança de infravermelho, respectivamente). O teor de umidade estabelecido nas diferentes farmacopéias varia entre 8 e 14%, com poucas exceções especificadas em monografias. De maneira geral, para uma boa conservação, a droga vegetal deve possuir um teor mínimo de umidade. Assim, a quantidade de água residual encontrou-se dentro dos limites farmacopéicos para drogas vegetais (FARM.BRAS., 2010).

O resultado obtido com o material da *C. salicifolia* de perda por dessecação foi de 12,70% e teste realizado em balança de infravermelho acusou uma porcentagem de 9,31%, portanto aproximadamente 3,4% não é umidade e sim outros tipos de voláteis.

Tabela 5 - Resultado dos testes físicos da *Casearia sylvestris* Sw e da *Cordia salicifolia**

Teste	<i>C.sylvestris</i>		<i>C.salicifolia</i>	
	Média	DP	Média	DP
Determinação do teor de cinzas totais (%)	8,915	0,089	10,998	0,214
Perda por dessecação em estufa (%)	13,509	0,320	12,690	0,138
Determinação da perda por dessecação em balança de infravermelho (%)	7,437	0,016	9,308	0,101

*Testes realizados em triplicata. DP é o desvio padrão.

Fonte: Acervo pessoal.

A avaliação da qualidade pode ser complementada por análises quantitativas de seus constituintes originais. A determinação do teor de extrativos é um método utilizado para quantificar constituintes extraíveis da droga vegetal, que pode ser considerado como uma característica própria e pode auxiliar na avaliação da qualidade dessa droga vegetal. Os resultados obtidos para as amostras analisadas foram de: 15,42% (m/V) para a *C. sylvestris* e de 15,00% (m/V) para a *C. salicifolia*.

O teor máximo de cinzas, preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010) é 10%. No quesito qualidade, a amostra de *C. salicifolia* seria reprovada, pois apresentou um teor de cinzas maior que o limite farmacopeico.

4.4 Análise fitoquímica preliminar

Com respeito à análise fitoquímica preliminar, as classes presentes na amostra de *C. sylvestris* foram alcaloides, fenóis, taninos, flavonoides e saponinas sendo as duas últimas as principais classes, enquanto que na amostra de *C. salicifolia* foram fenóis, flavonoides, antracênicos e taninos, conforme se pode observar na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados da abordagem fitoquímica preliminar.

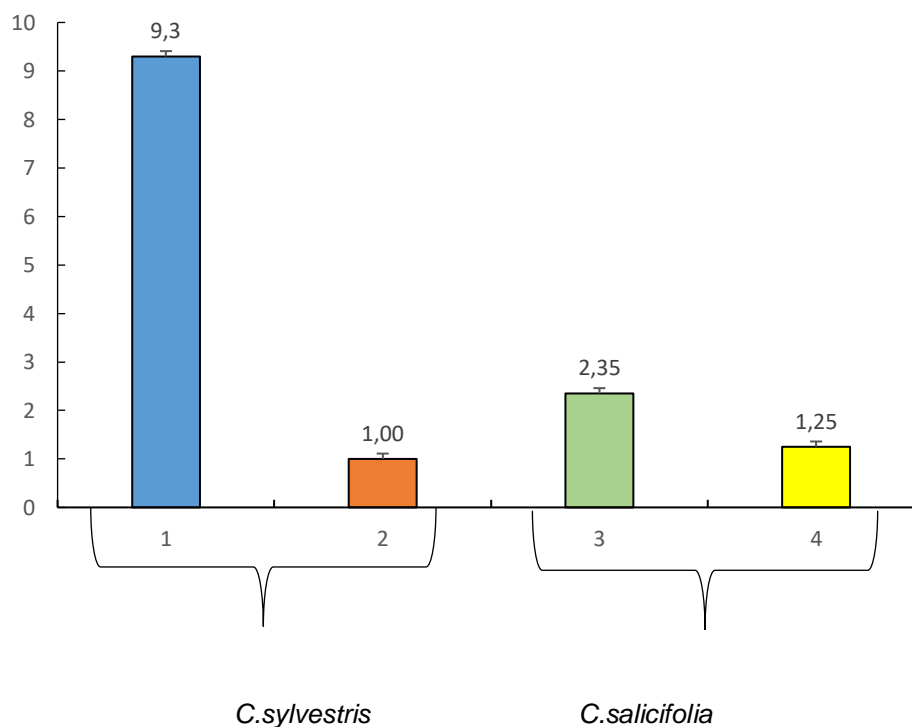
Teste	<i>C.sylvestris</i>	<i>C.salicifolia</i>
Alcaloides	+	Não realizado
Antracênicos livres	-	+
Fenóis	+	+
Flavonoides	+	+
Saponinas (índice de espuma)	< 125	-
Taninos	+	+

Fonte: Acervo pessoal.

4.5 Quantificação de fenóis e flavonoides totais

A Figura 17 mostra os teores de fenóis e flavonoides para as drogas vegetais analisadas.

Figura 17 – Teor de fenóis e flavonoides totais (%) na *C. sylvestris* e na *C. salicifolia*.

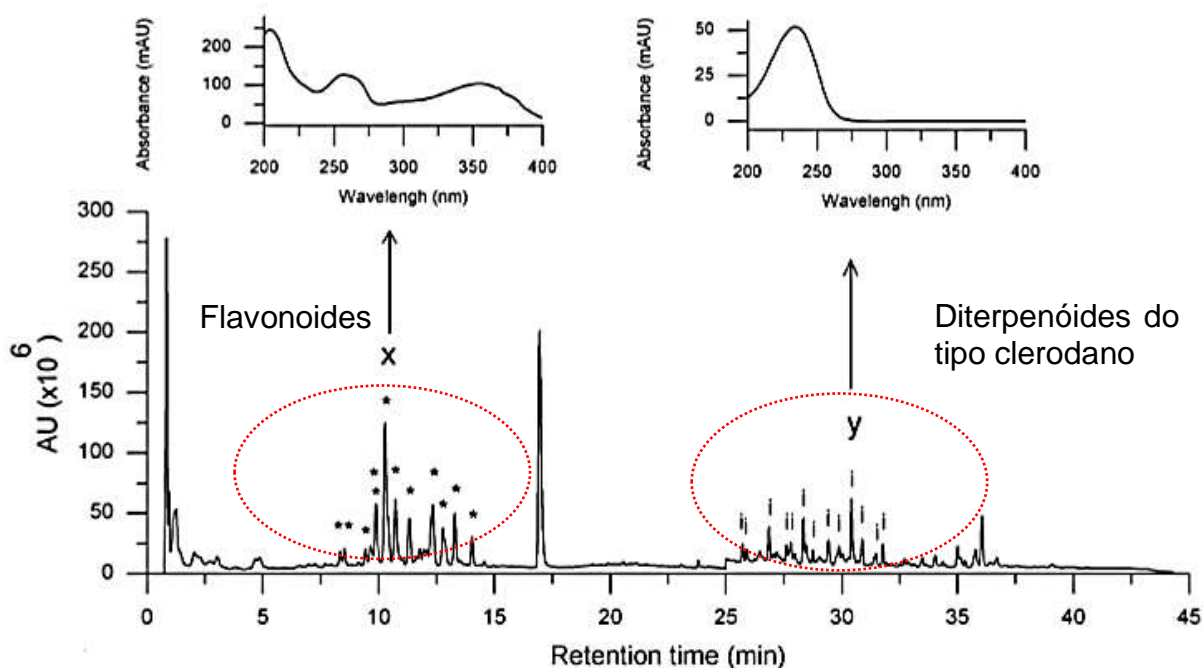


Número 1 e 3 (fenóis totais), 2 e 4 flavonoides totais (média de triplicatas).
Fonte: Arquivo pessoal.

Observa-se que a guaçatonga (*C. sylvestris*) apresentou um alto teor de fenóis, quando comparado ao da porangaba (*C. salicifolia*). O teor de flavonoides foi similar entre as duas drogas vegetais.

Da Silva (2003) encontrou teores de rutina, um flavonoide existente em *C. sylvestris*, variando entre 0,004 a 1,21%. No presente trabalho, foi encontrado o valor de 1,0% de flavonoides totais. Não foi encontrado nenhum trabalho na literatura relatando o teor total de flavonoides em *C. sylvestris*, embora Bueno et al. (2015) tenham identificado flavonoides glicosilados em extratos de *C. sylvestris* por UHPLC-MS, conforme mostrado na Figura 18.

Figura 18 -Cromatograma em UHPLC-UV de uma amostra de *C. sylvestris*.



Fonte: BUENO et al., 2015.

Os cromatogramas foram representados graficamente no comprimento de onda de 254 nm (de 0 a 25 min) e de 235 nm (de 25 a 45 min). Os sinais * e i representam na figura os picos característicos de compostos fenólicos (flavonoides glicosilados) e diterpenos do tipo clerodano, respectivamente.

Com respeito ao teor de fenóis, foi relatado que extratos etanólicos a 70% da flor e folha apresentaram os seguintes percentuais, respectivamente: 15,03% e 14,03% (AGUILAR, 2013). Encontrou-se, no presente trabalho 9,3% de fenóis totais, uma quantidade menor do que a encontrada por essa autora.

Não foi encontrado nenhum dado na literatura sobre a quantificação de fenóis e flavonoides em *C. salicifolia*.

Todos os resultados aqui relatados, demonstram a importância do controle de qualidade de drogas vegetais comercializadas.

5. CONCLUSÕES

A realidade no Brasil é que existem problemas no mercado brasileiro de fitoterápicos, tanto em farmácias magistrais e ervanarias, quanto em produtos industrializados. Nas feiras as drogas vegetais são comercializadas sem nenhuma regulamentação. Estes problemas são bastante conhecidos, desde confusões e adulterações clássicas, impurezas comuns e previsíveis até o moderno formato de adulteração por sofisticação, todos facilmente detectáveis por métodos simples de análise. O mercado brasileiro de fitoterápicos vem crescendo progressivamente, ano após ano e a taxas expressivas; os consumidores, cada vez mais, buscam produtos de origem natural para manter sua saúde e curar-se de modo suave e com menores efeitos adversos.

O presente trabalho teve a finalidade de avaliar as características macro e microscópicas das drogas vegetais de guaçatonga e porangaba, bem como o controle de qualidade físico-químico das mesmas e a quantificação de potenciais marcadores. Após essas avaliações, pode-se concluir que:

1. As amostras comercializadas tratavam-se de verdadeiros espécimes de guaçatonga (*C. sylvestris*) e porangaba (*C. salicifolia* Cham.). A *C. ecalyculata* (Boraginaceae) pode ser facilmente diferenciada da *Rudgea viburnoides*, pela anatomia, a ausência de cristólitos em *R. viburnoides*, caráter pontado como diagnóstico para *C. ecalyculata*. Outros caracteres diferenciais entre as duas espécies são a epiderme glabra, onde se destacam os pontos de inserção dos cristólitos, as 3 células anexas aos estômatos e a configuração da nervura de primeira ordem, constituída por 15 feixes vasculares dispostos em círculo em *C. ecalyculata*, a qual apresenta, ainda, canais mucilaginosos na medula. Muito embora a literatura não aponte estes caracteres como diagnósticos, pode-se concluir que os mesmos diferem prontamente a *C. ecalyculata* da *R. viburnoides*.

2. Com respeito ao controle de qualidade, o teor de cinzas totais, para *C. sylvestris* foi de 8,91% e para a *C. salicifolia*, de 10,99%. Os códigos oficiais estabelecem o valor máximo de 10,0%, constituindo-se num fator diferente frente aos 10,99% obtidos para a porangaba. Os parâmetros encontrados para a *C. sylvestris* estavam dentro da normalidade. Estes dados estão em conformidade com o encontrado de sujidades na porangaba, que foi de 40%. O teor de cinzas indica má

manipulação ou contaminação das drogas vegetais com pedaços de madeira, terra, entre outros.

3. Os valores de umidade para ambas as plantas foram menores empregando-se a técnica de infravermelho, quando comparada à de perda por dessecação em estufa. Recomenda-se o uso da primeira técnica já que a segunda pode quantificar substâncias voláteis, pela temperatura elevada em que se realiza a análise. Pela técnica do infravermelho, o material se mantém intacto, liberando apenas as moléculas de água.

4. O conteúdo de substâncias extraíveis ou teor de extrativos determina a quantidade de substâncias com possibilidade de serem extraídas por um determinado solvente, no caso a água quente. Esses dados, no entanto, não indicam que no resíduo se encontram os constituintes ativos, porém estabelece algumas condições para o controle de qualidade da matéria-prima vegetal. O resultado obtido para *C. sylvestris* foi de 15,42% e para a *C. salicifolia*, de 15,00%.

5. Com respeito a triagem fitoquímica, entre os testes qualitativos realizados, foi evidenciada a presença de alcaloides, fenóis, flavonoides, saponinas e taninos na guaçatonga e de antracênicos livres, fenóis, flavonoides e taninos na porangaba. O teste evidenciando a presença de alcaloides não foi realizado com a porangaba. Os dados obtidos mostram grupos de substâncias que podem ser empregadas na caracterização da matéria-prima e mesmo de produtos acabados, como flavonoides, alcaloides, saponinas, dentre outros. Da mesma forma, os dados negativos podem igualmente servir de parâmetros comparativos de grupos que não caracterizam as espécies em questão.

6. O teor de fenóis totais na *C. sylvestris* foi muito maior quando comparado ao encontrado na *C. salicifolia*, enquanto que o teor de flavonoides totais foi muito similar entre as duas plantas analisadas.

A sustentabilidade da fitoterapia depende, dentre outros fatores, da manutenção de um mínimo de qualidade dos produtos, sem criar falsas expectativas, o surgimento de efeitos adversos inesperados e a não produção de efeitos terapêuticos necessários, um conjunto de problemas que acaba depondo contra o próprio mercado de fitoterápicos. No presente trabalho, evidenciou-se a veracidade das amostras e as mesmas, pode-se dizer que encontram-se dentro dos parâmetros de qualidade preconizados por órgãos oficiais.

REFERÊNCIAS

- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITARIA (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada RDC N° 14: Dispõe sobre o registro de medicamentos Fitoterápicos. D.O.U (Diário Oficial da União), 31/03/2010.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITARIA (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada RDC n° 26: Dispõe sobre o registro de medicamentos Fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos naturais fitoterápicos. D.O.U. (Diário Oficial da União), 13/05/2014.
- AGUILAR, P.P. Análise fitoquímica comparativa de flores e folhas de *Casearia sylvestris* SWARTZ. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia e Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, 2013, 75p.
- ALBANO, M.N.; DA SILVEIRA, M.R.; DANIELSKI, L.G.; FLORENTINO, D.; PETRONILHO, F.; PIOVEZAN, A.P. Anti-inflammatory and antioxidante properties of hydroalcoholic crude extract from *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 147, p. 612-617, 2013.
- ALVES, R.M.S.; STEHMANN, J.R.; ISAIAS, R.M.S.; BRANDÃO, M.G.L. Caracterização botânica e química de *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth., (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 14, n. 1, p.49-56, 2004.
- AMARAL, F.M.M.; COUTINHO, D.F.; RIBEIRO, M.N.S.; OLIVEIRA, M.A. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luis – Maranhão. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.13, p.27-30, 2003.
- AMENI, A.; LATORRE, A. TORRES, L.; GÓRNIK, S. Risk assessment of medicinal plant *Casearia sylvestris* Sw (Salicaceae). *Toxicology Letters* v.229S, p.S40–S252, 2014.
- AMENI, A.Z.; LATORRE, O.A. TORRES, L.M.B.; GÓRNIK, S.L. Toxicity study about a medicinal plant *Casearia sylvestris*: A contribution to the Brazilian Unified Health System (SUS). *Journal of Ethnopharmacology*, v.175, p. 9-13, 2015.
- ANTINARELLI, L.M.R.; PINTO, N.C.; SCIO, E.; COIMBRA, E.S. Antileishmanial activity of some Brazilian plants, with particular reference to *Casearia sylvestris*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.87, n.2, 733-742, 2015.
- ARALDI, R.P.; RECHIUTTI, B.M.; MENDES, T.B.; ITO, E.T.; SOUZA, E.B. Mutagenic potential of *Cordia ecalyculata* alone and in association with *Spirulina maxima* for their evaluation as candidate anti-obesity drugs. *Genetics and Molecular Research*, v.13, n.3, p.5207-5220, 2014.
- ARREBOLA, M. R. B.; PETERLIN, M. F.; BASTOS, D. H. M.; RODRIGUES, R. F. de O.; CARVALHO, P. de O. Estudo dos componentes lipídicos das sementes de três

espécies do gênero *Cordia* L. (Boraginaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 14, n. 1, p. 57-65, 2004.

ASSONUMA, M.M. Determinação de alantoína e avaliação farmacológica de *Cordia ecalyculata* Vell. (chá de bugre). Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, 2009. 82pp.

BACKES, P.; IRGANG, B. Mata Atlântica: as árvores e a paisagem. Porto Alegre: Paisagem do Sul, 2004. 396p.

BARROS, L.D.Q. *Cymbopogon citratus*: controle de qualidade de amostras comercializadas no município de Palmas – TO. Monografia apresentada como requisito parcial da disciplina TCC em Ciências Farmacêuticas do Curso de Farmácia, Centro Universitário Luterano de Palmas, 2015, 45p.

BASILE, A.C.; SERIE, J.A.A.; PANIZZA, S.; OSHIRO, T.T.; AZZOLINI, C.A. Pharmacological assay of *Casiparia sylvestris*. I: preventive antiulcer activity and toxicity of the leave crude extract. Journal of Ethnopharmacology, v.30, p.185-197, 1990.

BORGES, M.H.; SOARES, A.M.; RODRIGUES, V.M.; ANDRIÃO-ESCARSO, S.H.; DINIZ, H.; HAMAGUCHI, A.; QUINTERO, A.; LIZANO, S.; GUTIÉRREZ, J.M.; GIGLIO, J.R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M.I. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A2. Comparative Biochemistry and Physiology Biochemical and Molecular Biology, v.127B, p. 21-30, 2000.

BOU, D.D.; LAGO, J.H.G.; FIGUEIREDO, C.R.; MATSUO, A.L.; GUADAGNIN, R.C.; SOARES, M.G.; SARTORELLI, P. Chemical composition and cytotoxicity evaluation of essential oil from leaves of *Casearia sylvestris*, its main compound α -zingiberene and derivatives. Molecules v.18, p.9477-9487, 2013.

BOU, D.D.; TEMPONE, A.G.; PINTO, E.G.; LAGO, J.H.G.; SARTORELLI, P. Antiparasitic activity and effect of casearins isolated from *Casearia sylvestris* on *Leishmania* and *Trypanosoma cruzi* plasma membrane. Phytomedicine, v.21, p.676-681, 2014.

BOU, D.D.; DOS SANTOS, A.L.; FIGUEIREDO, C.R.; FARIAS, C.F.; MATSUO, A.L.; KITAMURA, R.O.S.; GIMENES, L.; LAGO, J.H.G.; SARTORELLI, P. Dinor Casearin X, a new cytotoxic clerodane diterpene from *Casearia sylvestris*. Journal of Brazilian Chemical Society, v.26, n.8, p.1725-1729, 2015.

BRANTA, N.M.F.; GASPAROTTO, F.M.; ARAÚJO, V.A.; MARASCHINA, J.C.; RIBEIRO, R.C.L.; LOURENÇO, E.L.B.; CARDOZO JUNIOR, E.L.; GASPAROTTO JUNIOR, A. Cardiovascular protective effects of *Casearia sylvestris* Swartz in Swiss and C57BL/6 LDLr-null mice undergoing high fat diet. Journal of Ethnopharmacology, v.154, p.419-427, 2014.

BUENO, P.C.P.; VERBIPEREIRA, F.M.; TORRES, R.B.; CAVALHEIRO, A.J. Development of a comprehensive method for analyzing clerodane-type diterpenes and phenolic compounds from *Casearia sylvestris* Swartz (Salicaceae) based on ultra high performance liquid chromatography combined with chemometric tools. *Journal of Separation Science*, v.38, p.1649–1656, 2015.

CAPARROZ-ASSEF S.M.; GRESPAN. R.; BATISTA R.C.F.; BERSANI AMADO, F. A.; BARONI, S.; DANTAS J.A.; CUMAN R.K.N.; BERSANI-AMADO C.A. Toxicity studies of *Cordia salicifolia* extract. *Acta Scientiarum Health Sciences*, v.27, n.1, p.41-44, 2005.

CARNEIRO, F.M.; DA SILVA, M.J.P.; BORGES, L.L.; ALBERNAZ, L.C.; COSTA, J.D.P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. *Revista Sapiência: Sociedade, Saberes e Práticas Educacionais – UEG/Campus de Iporá*, v.3, n. 2, p.44-75, 2014.

CARVALHO, P. E. R. Espécies arbóreas brasileiras. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. v. 2, 627 p.

CARVALHO, P.R.F.; FURLAN, M.; YOUNG, M.C.M.; KINGSTON, D.G.I.; BOLZANI, V.S. Acetylated DNA-damage clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris*. *Phytochemistry*, v.49, n.6, p. 1659-1662, 1998.

CARVALHO, E.S.; SANTOS, A.G.; CAVALHEIRO, A.J. Identificação de diterpenos clerodânicos em diferentes órgãos de *Casearia sylvestris* Swartz. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v.30, n.3, p.277-284, 2009.

CORRÊA, M.P. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984.

DA SILVA, M.A.S. Variabilidade genética e fitoquímica de população do cerrado e mata atlântica de *Casearia sylvestris* Sw. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrônomicas – Unesp. Botucatu, São Paulo, Brasil, 2003, 155p.

DA SILVA, C.J.; BASTOS, J.K.; TAKAHASHI, C.S. Evaluation of the genotoxic and cytotoxic effects of crude extracts of *Cordia ecalyculata* and *Echinodorus grandiflorus*. *Journal of Ethnopharmacology*, v.127, p. 445-450, 2010.

DA SILVA, R.M.; VERJEE, S.; DE GAITANI, C.M.; DE OLIVEIRA, E.R.M.; BUENO, P.C.P.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, N.P.; BUTTERWECK, V. Evaluation of the intestinal absorption mechanism of casearin x in Caco-2 cells with modified carboxylesterase activity. *Journal of Natural Products*, v.79, p. 1084-1090, 2016.

DARABAS, A.M.; MOREIRA, J.; ROSSATO, A.E.; CITADINI-ZANETTE, V.; AMARAL, P.A. *Casearia sylvestris* SW. (salicaceae) e *Jacaranda puberula* cham. (bignoniaceae): uso popular versus literatura científica. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v.10, n.1, p.83-96, 2009.

DE ARAÚJO, E.J.F.; DE OLIVEIRA, G.A.L.; DE SOUSA, L.Q.; BOLZANI, V.S.; CAVALHEIRO, A.J.; TOME, A.R.; PERON, A.P.; DOS SANTOS, A.G.; CITÓ, A.M.G.L.; PESSOA, C.; DE FREITAS, R.M.; FERREIRA, P.M.P. Counteracting effects on free radicals and histological alterations induced by a fraction with casearins. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.87, n.3, 1791-1807, 2015.

DE CARVALHO, P. M.; RODRIGUES, R. F. O.; SAWAYA, A. C. H. F.; MARQUES, M. O. M.; SHIMIZU, M. T. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* D.C. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 95, p. 297301, 2004.

DE SOUSA, K.M.F. Controle de qualidade de amostras de *Ocimum gratissimum* adquiridas em ervanarias e farmácias de manipulação de Palmas-TO. Monografia apresentada com requisito parcial da disciplina TCC em Ciências Farmacêuticas do Curso de Farmácia do Centro Universitário Luterano de Palmas, 2015, 49p.

DOS SANTOS, M.C. Avaliação do potencial tóxico reprodutivo do extrato de *Cordia ecalyculata* Vell., em ratos wistar. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP para a obtenção do título de Mestre em Biociências, 2014, 77p.

DOS SANTOS, I.M.R.; FERREIRA, S.M.O.; ARAUJO, T.P.; FERREIRA, S.A.; BRANDÃO, R.S.; MIRANDA, L.C.B.; NOGUEIRA, V.S. Análise microbiológica de matérias-primas vegetais comercializadas em farmácias magistrais e ervanarias do município de Goiânia/GO. *Revista Faculdade Montes Belos (FMB)*, v. 8, nº 1, p. 1-9, 2015.

ENGEL, I.C.; FERREIRA, R.A.; CECHINEL-FILHO, V.; MEYRE-SILVA, C. Controle de qualidade de drogas vegetais a base de *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.18, n.2, p.258-264, 2008.

ESTEVES, I.; SOUZA, I. R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L. G. V.; SANTOS, L. S.; SERTIÈ, J. A. A.; PERAZZO, F. F.; LIMA, L. M.; SCHNEEDORF, J. M.; BASTOS, J. K.; CARVALHO, J. C. T. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 101, p. 191-196, 2005.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1929.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4.ed. São Paulo: Andrei; 1988.

FELIPE, K.B.; KVICINSKIA, M.R.; DA SILVA, F.O.; BÜCKERA, N.F.; FARIAS, M.S.; CASTRO, L.S.E.P.W.; GRINEVICIUS, V.M.A.S.; MOTTA, N.S.; CORREIA, J.F.G.; ROSSIC, M.H.; PEDROSA, R.C. Inhibition of tumor proliferation associated with cell cycle arrest caused by extract and fraction from *Casearia sylvestris* (Salicaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v.155, p.1492-1499, 2014.

FELL, K.R.; PECK, M.J. Phytochemical investigation of some species of the Boraginaceae. *Planta Medica*, v.16, n.4, p.411-420, 1968.

FERNANDES, V.F.; THADEO, M.; DALVI, V.C.; MARQUETE, R.; MEIRA, R.M.S. Colleters in *Casearia* (Salicaceae): a new interpretation for the theoid teeth. Botanical Journal of the Linnean Society, v.181, p.682-691, 2016.

FERREIRA, P.M.P.; COSTA-LOTUFO, L.V.; MORAES, M.O.; BARROS, F.W.A.; MARTINS, A.M.A.; CAVALHEIRO, A.J.; BOLZANI, V.S.; SANTOS, A.G.; PESSOA, C. Folk uses and pharmacological properties of *Casearia sylvestris*: a medicinal review. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v.83, n.4, p. 1373-1384, 2011.

FERREIRA, P.M.P.; BEZERRA, D.P.; SILVA, J.N.; DA COSTA, M.P.; FERREIRA, J.R.O.; ALENCAR, N.M.N.; DE FIGUEIREDO, I.S.T.; CAVALHEIRO, A.J.; MACHADO, C.M.L.; CHAMMAS, R.; ALVES, A.P.N.N.; DE MORAES, M.O.; PESSOA, C. Preclinical anticancer effectiveness of a fraction from *Casearia sylvestris* and its component Casearin-X: *in vivo* and *ex vivo* methods and microcospy examinations. Journal of Ethnopharmacology, v.186, p.270-279, 2016.

GUERRITS, P.O. The application of glycol methacrylate in histotechnology: some fundamental principles. Gröningen: Netherlands State University, 1991.

GUSMAN, G.; CAMPANA, P.V.; CASTRO, L.C.; CASTILHO, R.; TEIXEIRA, M.M.; BRAGA, F.C. Evaluation of the effects of some Brazilian medicinal plants on the production of TNF- α and CCL2 by THP-1 cells. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Article ID 497123, 11 pages, 2015.

HAYASHI, K.; HAYASHI, T.; MORITA, N.; NIWAYAMA, S. Antiviral activity of an extract of *Cordia salicifolia* on herpes simplex virus type 1. Planta Medica, v. 56, p. 439-443, 1990.

HOWARD, R.A. Flora of the Lesser Antilles, Leeward and Windward Islands. Vol. 5. Arnold Arboretum, Harvard University, Jamaica Plain, MA. 604 p, 1989.

ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; TAKEYA, K.; WATANABE, K.; OBATA, E. Antitumor principles from *C. sylvestris* Sw Flacourtiaceae. Struture elucidation of new clerodane diterpenes by D NMR spectroscopy. Chemical and Pharmeetical Bulletin, v.36, p.1585-1588, 1988.

JENSEN, W.A. Botanical histochemistry: principles and pratice. San Francisco: W.H. Feeman; 1962.

JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. New York: McGraw- Hill; 1940.

KUROYANAGI, M.; SEKI, T.; HAYASHI, T.; NAGASHIMA, Y.; KAWAHARA, N.; SEKITA, S.; SATAKE, M. Anti-androgenic triterpenoids from Brazilian medicinal plants. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, v.49, n.8, p.954-957, 2001.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2002, 512p.

LUCCA, P.S.R.; ECKERT, R.G.; SMANHOTTO, V.; KUHN, L.M.; MINANTI, L.R. Avaliação farmacognóstica e microbiológica da droga vegetal camomila (*Chamomilla recutita* L.) comercializada como alimento em Cascavel – Paraná. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.12, n.2, p.153-156, 2010.

MARTINS, E.L.P.; BRANDÃO, M.G.L. Qualidade de amostras comerciais preparadas com *Aesculus hippocastanum* L. (castanha da Índia). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, n.2, p.224-229, 2006.

MELO, J.G.; NASCIMENTO, V.T.; AMORIN, E.L.C.; LIMA, A.C.S.; ALBUQUERQUE, U.P. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo, pata de vaca e gincó. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 14, n.2, p.111-120, 2004.

MENGHINI, L.; EPIFANO, F.; LEPORINI, L.; PAGIOTTI, R.; TIRILLINI, B. Phytochemical investigation on leaf extract of *Cordia salicifolia* Cham. Journal of Medicinal Food, v. 11, n. 1, p. 193-194, 2008.

MORAES, S. M.; MACHADO, M. I. L. Essential oil of *Casearia grandiflora* Camb. Journal of Essential Oil Research, v. 9, p. 697-698, 1997.

NASCIMENTO, V.T.; LACERDA, E.U.; MELO, J.G.; LIMA, C.S.A.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Controle de qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializados na cidade do Recife-PE: erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus* spp), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) e camomila (*Matricaria recutita* L.). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 7, n. 3, p. 56-64, 2005.

O'BRIEN, T.P.; FEDER N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma v.59, p.368-373, 1964.

PELIZZA, M.C. Uso de *Cereus* sp. e *Cordia ecalyculata* Vell. como emagrecedores: uma revisão. Trabalho de conclusão de curso apresentado a Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010, 29p.

POLITI, F.A.S. Caracterização fitoquímica e avaliação dos potenciais antimicrobiano e carrapaticida de extratos vegetais de *Tagetes patula* L. (ASTERACEAE). Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas. 2012, 183p.

SAITO, M.L. Farmacognosia de *Cordia ecalyculata* Vell. (Boraginaceae). Dissertação de mestrado apresentada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 1984, 164 p.

SANTOS, A.G.; FERREIRA, P.M.P.; VIEIRA JÚNIOR, G.M.; PEREZ, C.C.; TININIS, A.G.; SILVA, G.H.; BOLZANI, V.S.; COSTA-LOTUFO, L.V.; PESSOA, C. DO Ó., CAVALHEIRO, A.J. Casearin X, its degradation product and other clerodane

diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris*: evaluation of cytotoxicity against normal and tumor human cells. *Chemistry & Biodiversity*, v.7, n.1, p.205-215, 2010.

SANTOS, R. P.; NUNES, E. P.; NASCIMENTO, R. F.; SANTIAGO, G. M. P.; MENEZES, G. H. A.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O.; DEUSDENIA, L. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the northeast of Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 17, p. 1027-1030, 2006.

SANTOS, L. C.; PELLIZZON, C. H.; ROCHA, L. R.; VILEGAS, W.; SOUZA BRITO, A.R.; CARDOSO, C. R.; VARANDA, E. A.; MORAES, H. P.; BAUAB, T. M.; CARLI, C.; CARLOS, I. Z.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Byrsonima fagifolia*: an integrative study to validate the gastroprotective, healing, antidiarrheal, antimicrobial and mutagenic action. *Journal of Ethnopharmacology*, v.120, p. 149-160, 2008.

SCAVONE, O.; GRECCHI, R.; PANNIZA, S.; SILVA, R.A.P.S. Guaçatonga (*C. sylvestris* Swartz) Aspectos botânicos da planta, ensaios fitoquímicos e propriedades cicatrizantes da folha. *Anais de Farmácia e Química de São Paulo*, v.19, p.73-81, 1979.

SCHNEIDER, N. F.; MOURA, N. F.; COLPO, T.; FLACH, A. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de *Casearia sylvestris* Swart. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 87, n. 4, p. 112-114, 2006.

SIQUEIRA, V.L.D.; CORTEZ, D.A.G.; DE OLIVEIRA, C.E.; NAKAMURA, C.V.; BAZOTTE, R.B. Pharmacological studies of *Cordia salicifolia* Cham in normal and diabetic rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology* v.49, n. 2, p. 215-218, 2006.

SOEJARDO, D.D. Biodiversity prospecting and sharing: from the field. *Journal of Ethnopharmacology* v.51, p. 1-15, 1996.

SOUSA, F. G.; DENARDIN, R. B. N.; MOURA, N. F.; DREVS, S. Allelopathy and genotoxic potential of *Casearia sylvestris* Sw. extracts. *Allelopathy Journal*, v. 20, n. 1, p. 195-202, 2007.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO H. R. N.; PIETRO, R. C. L. R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 3, p. 435-440, 2010.

TININIS, A. G.; ASSONUMA, M. M.; TELASCREA, M.; PEREZ, C. C.; SILVA, M. R. S. R. M.; FAVORETO, R.; CAVALHEIRO, A. J. Composição e variabilidade química de óleo essencial de *Casearia sylvestris* SW. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 8, n. 4, p. 132-136, 2006.

TORRES, R.B.; YAMAMOTO, K. Taxonomia das espécies de *Casearia* Jacq. (Flacourtiaceae) do estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica* v.9, p.239-258, 1986.

USDA, UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, Forest Service International Institute of Tropical Forestry San Juan, PR Rocky Mountain Research Station Fort Collins, CO. General Technical Report IITF-GTR-26, July 2004. Wildland Shrubs of the United States and Its Territories: Thamnic Descriptions: Volume 1, John K. Francis, Editor.

VELASCO, L.; GOFFMAN, F. D. Chemotaxonomic significance of fatty acids and tocopherols in Boraginaceae. *Phytochemistry*, v. 52, p. 423-426, 1999.

VENDRAMINI, J.R.H.E.A.; REIS, R.D.; MARQUES, L.C.; MARCUCCI, M.C. Controle de qualidade de fitoterápicos no Brasil: avaliação diagnóstica e propostas de intervenção. *Revista de Fitoterapia* v.14, n.2, p.5-36, 2014.

WERLE, A.L.B.; ZANETTI, G.D.; CERON, C.S.; MELÂNIA, P. Avaliação da atividade de *Casearia sylvestris* Swartz (Flacourtiaceae) sobre os níveis séricos de triglicérides em ratos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.19, p.400–402, 2009.

XIA, L.; GUO, Q.; TU, P.; CHAI, X. The genus *Casearia*: a phytochemical and pharmacological overview. *Phytochemical Reviews*, v.14, p.99–135, 2015.

ANEXOS

ANEXO 1 - Teores de cinzas, umidade e extrativos.

Teor de cinzas

	Peso do cadinho (g)	Peso final (am+cad)	Peso das cinzas (g)	Peso da amostra (g)	Cinzas (%)	Média (%)	DP	CV%	Inc.
<i>C.sylvestris</i>									
1	26,697	26,787	0,090	1,003	8,973				
2	27,576	27,675	0,099	1,105	8,959	8,915	0,089	1,002	0,051
3	25,523	25,612	0,089	1,010	8,812				
<i>C.salicifolia</i>									
1	26,697	26,806	0,109	1,008	10,813				
2	27,576	27,700	0,124	1,104	11,232	10,998	0,214	1,943	0,123
3	25,523	25,679	0,156	1,425	10,947				

Onde: DP é o desvio padrão, CV% coeficiente de variação em porcentagem e Inc. a incertezasimples.
Fonte: Acervo pessoal.

Teor de umidade por infravermelho

<i>C.sylvestris</i>	peso inicial	peso final	%	Media	DP	CV%	Inc.
1	1,009	0,932	7,631				
2	1,010	0,935	7,426				
3	1,007	0,932	7,448	7,437	0,016	0,210	0,009
<i>C.salicifolia</i>							
	peso inicial	peso final	%	Media	DP	CV%	Inc.
1	1,012	0,917	9,387				
2	1,010	0,915	9,406				
3	1,140	1,035	9,211	9,308	0,138	1,484	0,080

Onde: DP é o desvio padrão, CV% coeficiente de variação em porcentagem e Inc. a incerteza simples.
Fonte: Acervo pessoal.

ANEXO 1 - Teores de cinzas, umidade e extrativos (cont.).

Teor de umidade em estufa

	Peso do cadinho (g)	Peso final (am+cad)	Final peso seco (g)	Peso da amostra (g)	Umidade (%)	Média	DP	CV%	Inc.
<i>C.sylvestris</i>									
1	26,697	27,582	0,885	1,020	13,235				
2	27,576	28,472	0,896	1,035	13,430				
3	25,523	26,393	0,870	1,010	13,861	13,509	0,320	2,372	0,185
<i>C.salicifolia</i>									
1	26,697	27,574	0,877	1,005	12,736				
2	27,576	28,540	0,964	1,105	12,760				
3	25,523	26,406	0,883	1,010	12,574	12,690	0,101	0,797	0,0584

Onde: DP é o desvio padrão, CV% coeficiente de variação em porcentagem e Inc. a incerteza simples.
Fonte: Acervo pessoal.

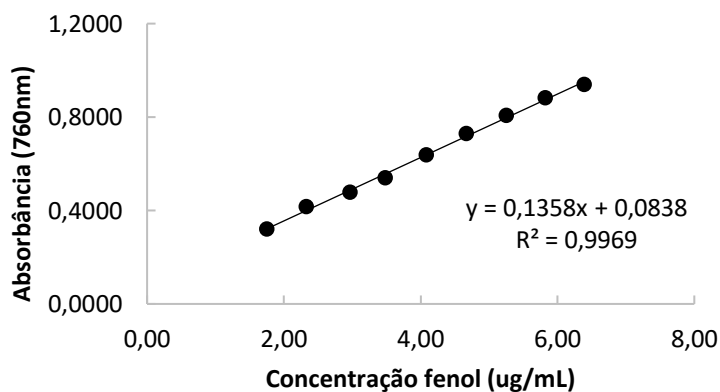
Teor de extrativos

<i>C.sylvestris</i>	Peso da Cápsula (g)	Peso da cápsula + am (g)	Massa do resíduo seco (g)	Peso da amostra (g)	Fator*	Teor de extrativos (%)
	68,427	68,489	0,062	1,004	250	15,425
<i>C.salicifolia</i>	Peso da Cápsula (g)	Peso da cápsula + am (g)	Massa do resíduo seco (g)	Peso da amostra (g)	Fator*	Teor de extrativos (%)
	68,578	68,638	0,0600	1,000	250	15,000

Fonte: Acervo pessoal.

ANEXO 2 - Resultados da determinação de fenóis totais (%) para a *Casearia sylvestris* sw e *Cordia ecalyculata*.

Curva padrão de Fenóis: Abs x Conc. ($\mu\text{g/mL}$)



Fonte: Acervo pessoal.

<i>Casearia sylvestris</i>	Abs	Conc ($\mu\text{g/mL}$)	Peso	Conc.final	% m/V	% m/m		
1	0,5547	3,47	0,04728	1,891	173,4	9,17		
2	0,5571	3,49	0,04728	1,891	174,3	9,21		
3	0,5596	3,5	0,04728	1,891	175,2	9,26		
4	0,5653	3,55	0,04728	1,891	177,3	9,37		
5	0,5629	3,53	0,04728	1,891	176,4	9,33		
6	0,5702	3,58	0,04728	1,891	179,1	9,47	Média (m/m)	Desvio
							9,3	0,11

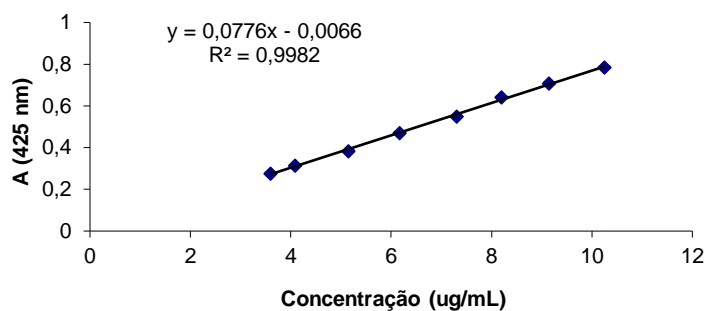
Fonte: Acervo pessoal.

<i>Cordia ecalyculata</i>	Abs	Conc ($\mu\text{g/mL}$)	Peso	Conc.final	% m/V	% m/m		
1	0,2167	0,98	0,02115	2,115	48,9	2,31		
2	0,2176	0,99	0,02115	2,115	49,3	2,33		
3	0,2202	1,00	0,02115	2,115	50,2	2,37		
4	0,2187	0,99	0,02115	2,115	49,7	2,35		
5	0,2202	1,00	0,02115	2,115	50,2	2,37	Média (m/m)	Desvio
6	0,2196	1,00	0,02115	2,115	50	2,36	2,35	0,03

Fonte: Acervo pessoal.

ANEXO 3 - Resultados da determinação de flavonoides totais para a *Casearia sylvestris* Sw e *Cordia ecalyculata*.

Curva padrão de Flavonoides: Abs x Conc. ($\mu\text{g/mL}$)



Fonte: Acervo pessoal.

<i>Casearia sylvestris</i>	Abs	Conc ($\mu\text{g/mL}$)	Peso	Conc.final	% m/V	% m/m		
1	0,0165	0,13	0,04728	1,891	6,5	0,34		
2	0,0159	0,12	0,04728	1,891	6,1	0,32		
3	0,0149	0,11	0,04728	1,891	5,5	0,29		
4	0,0421	0,46	0,04728	1,891	23	1,22		
5	0,0434	0,48	0,04728	1,891	23,8	1,26		
6	0,0465	0,52	0,04728	1,891	25,8	1,37		
7	0,0285	0,28	0,04728	1,891	14,2	0,75		
8	0,0414	0,45	0,04728	1,891	22,6	1,19	Média (m/m)	Desvio
9	0,0715	0,84	0,04728	1,891	41,9	2,22	1,00	0,63

Fonte: Acervo pessoal.

<i>Cordia ecalyculata</i>	Abs	Conc ($\mu\text{g/mL}$)	Peso	Conc.final	% m/V	% m/m		
1	0,0432	0,47	0,02115	2,115	23,7	1,12		
2	0,0421	0,46	0,02115	2,115	23	1,09		
3	0,0398	0,43	0,02115	2,115	21,5	1,02		
4	0,0551	0,63	0,02115	2,115	31,4	1,48		
5	0,0528	0,6	0,02115	2,115	29,9	1,41		
6	0,0509	0,57	0,02115	2,115	28,7	1,36		
7	0,0413	0,45	0,02115	2,115	22,5	1,06		
8	0,0317	0,33	0,02115	2,115	16,3	0,77	Média (m/m)	Desvio
9	0,0342	0,36	0,02115	2,115	17,9	0,85	1,25	0,19

Fonte: Acervo pessoal.